



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATEROSKLEROZ HASTALARINDA UCA1
VE APPAT LNCRNA'LARININ
EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

SİBEL KURAŞ

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. HALİME HANIM PENÇE**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI
TIBBİ BİYOKİMYA DOKTORA PROGRAMI**

**DOKTORA TEZİ
MAYIS/2024**

İTHAF

“Ailem ve eşime ithaf ediyorum”

TEŞEKKÜR

Tıbbi Biyokimya doktora öğrenciliğim süresince bilgi ve birikimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ebru KALE hocama, tez danışmanım ve tezimin ortaya çıkmasında büyük katkısı olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Halime Hanım PENÇE'ye, doktora eğitimim boyunca sahip olduğu bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN, Prof. Dr. Macit KOLDAŞ, Prof. Dr. Alev KURAL, Prof. Dr. Fatih ÖZÇELİK, Doç. Dr. Eray Metin GÜLER'e, kısa bir süre önce tanıdığım ve çok değerli katkılarından dolayı Doç. Dr. Ayşegül UĞUR KURTOĞLU'na, klinik süreçteki değerlendirmelerle alakalı destek ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Mehmet KIZILAY ve Asist. Dr. Süleyman AYCAN'a, istatistik analizlerdeki katkılarından dolayı Bekir ERDOĞAN'a, doktora eğitimim ve tez dönemim süresince hep yanımda olup bana destek olan arkadaşlarım Leyla ACAR, Nazlı HELVACI ve Kubilay KUTLUCAN'a teşekkür ederim.

Attığım her adımda hiçbir özveriden kaçınmayarak bana her zaman destek olan aileme, eşim Yücel KURAS'a ve ailesine sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın yürütülmesinde maddi desteğin sağlanmasında destek olan Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP Birimi'ne (Proje no: 2022/029) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. KAN DAMARLARI.....	4
2.1.1. Arterler	4
2.1.2. Venler.....	5
2.1.3. Kapillerler	5
2.2. KARDİYOvASKÜLER HASTALIKLAR.....	5
2.3. ATEROSKLEROZ	6
2.3.1. Ateroskleroz Patogenezi	7
2.3.1.1. LDL'nin oksidasyonu	8
2.3.1.2. Yağlı çizgi oluşumu	9
2.3.1.3. Fibröz kapak oluşumu.....	9
2.3.1.4. Plak rüptürü.....	10
2.3.2. Endotel Disfonksiyon	12
2.3.3. İntimal Kalınlaşma.....	13
2.3.4. Ateroskleroz Risk Faktörleri.....	14
2.3.5. Aterosklerozda Tanı Yöntemleri	16
2.3.6. Aterosklerozda Tedavi Yöntemleri.....	17
2.3.6. Aterosklerozda Rol Alan Genetik Nedenler	19
2.4. RNA'LAR.....	19
2.5. UZUN KODLAMA YAPMAYAN RNA'LAR.....	20
2.5.1. Uzun Kodlama Yapmayan RNA'ların Biyogenezi	23
2.5.2. Uzun Kodlama Yapmayan RNA'ların Sınıflandırılması.....	24
2.5.3. Uzun Kodlama Yapmayan RNA'ların Fonksiyonları	27
2.5.4. Üroteliyal Kanser İlişkili 1	29
2.5.5. Aterosklerotik Plak Patogenezi İlişkili Transkript.....	30

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI.....	32
3.2. PERİFERİK KAN ÖRNEKLERİNDEN TOTAL RNA İZOLASYONU	33
3.2.1. Kit ile Kandan Total RNA İzolasyon Protokolü.....	33
3.3. DOKU ÖRNEKLERİNDEN TOTAL RNA İZOLASYONU	34
3.3.1. Kit ile Dokudan Total RNA İzolasyon Protokolü	34
3.3.2. Manuel Yöntemle Dokudan Total RNA İzolasyon Protokolü.....	35
3.4. KOMPLEMENTER DNA SENTEZİ.....	36
3.5. UZUN KODLAMA YAPMAYAN RNA'LARIN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ	37
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	39
3.7. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR.....	39
3.7.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	39
3.7.2. Kullanılan Cihazlar	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. KATILIMCILARIN DEMOGRAFİK VERİLERİ	41
4.2. KATILIMCILARIN LABORATUVAR BULGULARI	43
4.3. EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ	50
4.3.1. Doku Örneklerinde Ekspresyon Düzeyleri	51
4.3.2. Periferik Kan Örneklerinde Ekspresyon Düzeyleri	54
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	76
KAYNAKLAR	78
EKLER.....	91

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3. 1: cDNA sentezi bileşenleri	37
Tablo 3. 2: cDNA sentezi koşulları.....	37
Tablo 3. 3: Primer dizileri ve bağlanma sıcaklığı değerleri	38
Tablo 3. 4: Real-Time PCR bileşenleri.....	38
Tablo 3. 5: Real-Time PCR koşulları	39
Tablo 4. 1: Hasta ve kontrol gruplarında laboratuvar parametreleri.....	45
Tablo 4. 2: Cinsiyete göre parametrelerin değişimi	46
Tablo 4. 3: Korelasyon analizi sonuçları	48
Tablo 4. 4: Koroner ve LIMA dokuları arasındaki kat değişimleri	53
Tablo 4. 5: Periferik kan örneklerindeki kat değişimleri	57
Tablo 4. 6: UCA1 ve APPAT ile lipid parametreleri korelasyon analizleri	59

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1: Aterosklerozun başlangıcı ve ilerlemesi (18).....	8
Şekil 2. 2: Aterosklerozun patogenezi.....	11
Şekil 2. 3: Amerikan Kalp Birliği sınıflandırılması (37).....	14
Şekil 2. 4: RNA'ların sınıflandırılması	21
Şekil 2. 5: lncRNA'ların biyogenezi ve hücre içindeki kaderi	25
Şekil 2. 6: Genomik orijinine göre lncRNA'ların sınıflandırılması.....	26
Şekil 2. 7: lncRNA'ların fonksiyonları	28
Şekil 2. 8: UCA1 geninin lokalizasyonu (157)	29
Şekil 2. 9: APPAT geninin lokalizasyonu (162)	30
Şekil 3. 1: Total RNA izolasyon aşamaları	36
Şekil 4. 1: Grupları oluşturan bireylerin cinsiyet dağılımı	41
Şekil 4. 2: Hasta ve kontrol gruplarının yaş-cinsiyet grafiği.....	42
Şekil 4. 3: Grupları oluşturan bireylerin laboratuvar bulguları	44
Şekil 4. 4: Lipit parametreleri değerleri	50
Şekil 4. 5: lncRNA APPAT'ın amplifikasyon eğrisi	51
Şekil 4. 6: lncRNA APPAT'ın erime grafiği	51
Şekil 4. 7: lncRNA UCA1'in amplifikasyon grafiği	52
Şekil 4. 8: lncRNA UCA1'in erime eğrisi grafiği	52
Şekil 4. 9: Koroner doku örneklerinde APPAT ve UCA1 Δ Ct korelasyon grafiği.....	53
Şekil 4. 10: LIMA doku örneklerinde APPAT ve UCA1 Δ Ct korelasyon grafiği.....	54
Şekil 4. 11: lncRNA APPAT'ın amplifikasyon eğrisi	55
Şekil 4. 12: lncRNA APPAT'ın erime grafiği	55
Şekil 4. 13: lncRNA UCA1'in amplifikasyon grafiği	56
Şekil 4. 14: lncRNA UCA1'in erime grafiği	56

Şekil 4. 15: Kan örneklerinde APPAT ve UCA1 Δ Ct korelasyon grafiği	57
Şekil 4. 16: Kan ve doku örneklerindeki lncRNA APPAT ve UCA1 Δ Ct ve kat değişimleri	58
Şekil 4. 17: Hasta grubunda koroner, LIMA ve kan örnekleri arasında Δ Ct değerleri.....	61



SİMGELER VE KISALTMALAR

(A)n	: Poli Adenin Kuyruğu
5' UTR	: 5' Ucunda Çevrilmeyen Bölge
ACC	: Amerikan Kardiyoloji Derneği
AHA	: Amerikan Kalp Birliği
ANRIL	: INK4 Lokusunda Antisens Kodlamayan RNA
Apo	: Apolipoprotein
APPAT	: Aterosklerotik Plak Patogenezi İlişkili Transkript
CABG	: Coronary Artery Bypass Grafting
cDNA	: Komplementer DNA
ceRNA	: Rakip Endojen RNA
CETP	: Kolesterol Ester Transfer Protein
CHROME	: Primat-Spesifik
circRNA	: Sirküler RNA
CK	: Kreatin Kinaz
CUDR	: Cancer Upregulated Drug Resistant
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ENCODE	: Encyclopedia of DNA Elements
eNOS	: Endotelial NO Sentaz
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
FGF5	: Fibroblast Büyüme Faktörü 5
GAPDH	: Gliseraldehid 3-Fosfat Dehidrogenaz (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase)
GAS5	: Büyüme Durmasına Özgü 5

GENCODE	: İnsan Genomu ENCODE
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GO	: Gen Ontolojisi
GRSF1	: Guanince Zengin RNA Dizisi Bağlayıcı Faktör 1
H3K27	: Histon 3, 27. Lizin
H3K36	: Histon 3, 36. Lizin
H3K4	: Histon 3, 4. Lizin
H3K9	: Histon 3, 9. Lizin
HbA1c	: Hemoglobin A1c
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HMG-KoA	: 3-Hidroksi-3-Metilglutaril Koenzim A
hn-RNP-K	: Ribonükleoprotein-K
HOTAIR	: HOX Antisens İntergenik RNA
HOTTIP	: Distal Uçtaki HOXA Transkript
IDL	: Ara Yoğunluklu Lipoprotein
INK 4	: Sikline Bağımlı Kinaz İnhibitörü 4
JAK/STAT	: Janus Kinaz Ailesi/Sinyal Başlatıcı ve Transkripsiyon Aktivatörü
KABG	: Koroner Arter Bypass Grefleme
Kb	: Kilobaz
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LDLR	: LDL Reseptörü
LeXis	: Karaciğerde Eksprese Edilen Karaciğer X Reseptörü ile İndüklenen Sekans
LIMA	: Sol İnternal Meme Arteri
lncRNA	: Uzun Kodlama Yapmayan RNA

LPL	: Lipoprotein Lipaz
m⁶A	: N6-Metiladenozin
m⁷G	: 7-Metilguanozin
MALAT1	: Metastaz İlişkili Akciğer Adenokarsinoma Transkripti 1
MAPK	: Mitojenle Aktive Protein Kinaz
MEG3	: Maternal Eksprese Edilen 3
MIAT	: Mİ İlişkili Transkript
Mİ	: Miyokard İnfarktüs
miRNA	: MikroRNA
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
mRNA	: Haberci RNA
mTOR	: Rapamisinin Mekanik Hedefi
ncRNA	: Kodlama Yapmayan RNA
ncRNA	: Non-Coding RNA
NEAT1	: Nüklear Paraspeckle Toplanma Transkripti 1
NEXN	: Nexilin F-Aktin Bağlayıcı Protein Antisens RNA 1
NF-κB	: Nüklear Faktör-Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
NXF1	: Nüklear RNA Çıkış Faktörü 1
Ox-LDL	: Okside-LDL
PCSK9	: Proprotein Dönüştürücü Subtilisin/Keksin Tip 9
PI3K/Akt	: Fosfatidilinositol 3 Kinaz/Protein Kinaz B
piRNA	: Piwi-Etkileşimli RNA
Pkp1	: Plakophilin-1
PRC2	: Policomb Represif Kompleksi 2
PTEN	: Fosfataz ve Tensin Homolog

RBP	: RNA Bağlayıcı Protein
RMRP	: Mitokondriyal RNA İşleme Endoribonükleazı RNA Bileşeni
RNA	: Ribonükleik Asit
RNaz P	: Ribonükleaz P
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
rRNA	: Ribozomal RNA
RT-qPCR	: Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SENCR	: Düz Kas ve Endotel Hücresi Zenginleştirilmiş Migrasyon/Farklılaşma İlişkili Transkript
siRNA	: Küçük İnterfere Eden RNA
sncRNA	: Küçük Kodlama Yapmayan RNA
SNHG12	: SnoRNA Konak Geni 12
snoRNA	: Küçük Nükleolar RNA
snoRNP	: snoRNA-Protein
snRNA	: Küçük Nüklear RNA
TGF-β	: Transform Edici Büyüme Faktörü-β
tRNA	: Taşıyıcı RNA
TUG1	: Taurin Upregüle 1
UCA1	: Üroteliyal Kanseri İlişkili 1 (“Urothelial Cancer Associated 1”)
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
VSMC	: Vasküler Düz Kas Hücresi
Wnt	: Wingless ile İlişkili Entegrasyon Bölgesi
ΔCt	: Döngü Eşik Değeri Farkı

ATEROSKLEROZ HASTALARINDA UCA1 VE APPAT LNCRNA'LARININ EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada ateroskleroz gelişiminde uzun kodlama yapmayan RNA (lncRNA)'lardan üroteliyal kanser ilişkili transkript 1 ("urothelial cancer associated 1", UCA1) ve aterosklerotik plak patogenezi ilişkili transkript ("atherosclerotic plaque pathogenesis associated transcript", APPAT)'in ekspresyon düzeylerinin hem doku hem kan düzeyindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Koroner arter bypass greftleme (KABG) yapılan hastalardan (n=30) koroner arter ve sol internal meme arterinden ("left internal mammary artery", LIMA) doku örnekleri toplandı. Bu hastalardan ve sağlıklı kişilerden (n=30) kan örnekleri toplandı. Toplanan tüm doku ve kan örneklerinden öncelikle total RNA izolasyonu yapıldı. Komplementer DNA (cDNA) sentezi gerçekleştirilerek kantitatif gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) yöntemiyle UCA1 ve APPAT lncRNA'larının ekspresyon düzeyleri belirlendi. "Housekeeping" gen olarak gliseraldehid 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) geni kullanıldı.

Bulgular: Hasta ve kontrol grupları arasında kan örneklerindeki ekspresyon düzeyleri incelendiğinde; UCA1 ve APPAT hasta grubunda daha downregüleydi (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,025$). Koroner dokularında ise, LIMA dokularına göre UCA1 ve APPAT ekspresyon düzeyleri downregüle olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak hasta grubunda LIMA UCA1 ekspresyonu kana göre anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,005$). Koroner APPAT ekspresyonu ise kana göre anlamlı düzeyde daha düşük bulundu ($p=0,0019$).

Sonuç: Tüm bu bilgiler ışığında; UCA1 ve APPAT'ın ekspresyon düzeylerinin düşmesinin ateroskleroz patogenezinde, UCA1'in LIMA'da kana göre daha yüksek olması ateroskleroza karşı dirençli olmasında, APPAT'ın ise koronerde kana göre daha düşük eksprese olması ateroskleroz gelişimi/ilerlemesi mekanizmalarında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Mekanizmaların tam olarak ortaya çıkarılması için ileriye yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, APPAT, lncRNA, UCA1



INVESTIGATION OF EXPRESSION LEVELS OF UCA1 AND APPAT LNCRNAS IN ATHEROSCLEROSIS PATIENTS

ABSTRACT

Aim: This study aimed to assess the potential contributions of long non-coding RNA (lncRNA) UCA1 and APPAT to the progression of atherosclerosis by analyzing their levels of expression in tissue and blood samples.

Materials and Methods: In patients who performed coronary artery bypass grafting (CABG) (n=30), the coronary artery and LIMA samples were obtained. Blood samples were also collected from these patients and healthy individuals (n=30). Total RNA was isolated from tissue and blood samples. Complementary DNA (cDNA) synthesis was performed and expression levels of UCA1 and APPAT were determined by quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used as housekeeping gene.

Results: When the expression levels in blood samples were analysed between the patient and control groups, UCA1 and APPAT were more downregulated in the patient group ($p=0.000$, $p=0.025$, respectively). Although UCA1 and APPAT expression levels were downregulated in coronary tissues compared to LIMA tissues, it was not statistically significant. However, LIMA UCA1 expression was significantly higher than blood ($p=0.005$). Coronary APPAT expression was significantly lower in the patient group compared to blood ($p=0.0019$).

Conclusion: Based on the available data, it is proposed that reduced levels of UCA1 and APPAT may contribute to the development of atherosclerosis. Additionally, higher levels of UCA1 in LIMA compared to blood may be associated with resistance to atherosclerosis, while lower levels of APPAT in coronary compared to blood may be involved in the progression of atherosclerosis. Further research is necessary to completely understand the mechanisms.

Key Words: Atherosclerosis, APPAT, lncRNA, UCA1

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ateroskleroz, dünya çapında ölümlerin önde gelen nedeni olan kardiyovasküler hastalıklar için ana risk faktörüdür. Ateroskleroz endotel aktivasyonu ile başlar ve ardından bir dizi olay (lipit birikimi, fibröz elementler ve kalsifikasyon) inflamatuvar yolların aktivasyonunu ve damar lümeninin daralmasını tetikler. Sonuçta ortaya çıkan aterom plağı, bu süreçlerle birlikte kardiyovasküler komplikasyonlara neden olur (1). Aterosklerotik plak (aterom veya ateromatöz) olarak adlandırılan intimal lezyonlar yumuşak, sarı, pıhtı gibi kolesterol ve esterleri ile nekrotik debristen oluşan bir yağ yumağı ve bunları saran fibröz şapkası bulunan ve lümene doğru yükselti yapan lezyonlardır. Aterosklerotik plaklar lümeni tıkayıp rüptür oluşumuna yol açarak damar trombozuna veya alttaki medianın zayıflamasına yol açarak anevrizmaya sebep olabilirler (2).

Son zamanlarda, aterosklerozun patofizyolojisi üzerine yapılan araştırmalar giderek derinleşmiştir, ancak tam olarak aydınlatılamamıştır (3). Aterosklerozun patofizyolojisi kompleks olup endotel disfonksiyon, intimal kalınlaşma ve ateromatöz plak oluşumunu içermektedir (4). Ateroskleroz süreci endotel hücre işlevindeki bozulma sonucunda intimada düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol biriktiğinde başlar. İşlevi bozulmuş bir endotel, monositlerin endotel hücrelerinin yüzeyine tutunmasını, endoteli geçmesini ve kan damarının intimasına girmesini sağlayan adhezyon molekülünü ekprese eder. Sonrasında monositler hücre yüzeyinde çöpçü reseptör A'yı ekprese eden makrofajlara dönüşürler. Çöpçü reseptör A okside LDL (ox-LDL)'yi tutar ve makrofajlar köpük hücrelerine dönüşür. Bu köpük hücreler ateroskleroz plağının aterom çekirdeğini oluşturur. Aterom çekirdek büyüdükçe vasküler düz kas hücreleri (VSMC) intimaya göç ederek fibröz plak yapısı oluşur. T hücrelerinin adhezyon molekülleri aracılığıyla yerleşimi ateroskleroz plağına inflamatuvar bileşenleri sağlar. Bu etkileşiminin ardından makrofajlardan matriks metalloproteinaz (MMP)'lar ve T hücrelerinden proinflamatuvar sitokinler üretilir. Bu moleküllerin salgılanması tromboza yatkınlık sağlayan fibröz kabuğu zayıflatarak kopmaya hassas duruma getiren inflamatuvar yanıtı başlatır. Bunun yanı sıra ölen makrofajlardan boşalan lipit içerikleri de aterom çekirdeğin büyümesine katkı sağlar (5).

Vasküler endotel hücreleri, vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon, VSMC çoğalması ve göçünün inhibisyonu ve uyarılması ile tromboz ve fibrinoliz arasındaki dengeyi korur (6). Endotel disfonksiyon, aterogenezin en erken öncüllerinden biri olarak kabul edilir ve endotel bağımlı vazodilatasyon ile endotel bağımlı vazokonstriksiyon arasındaki dengesizliği tanımlar ve endotel disfonksiyonunun işaretlerinden biri, normal endotel bağımlı vazodilatasyonun kaybıdır (6). Aterogenez plak gelişiminde, endotel hücre disfonksiyonu, VSMC’lerde kontraktıl-“synthetic” bir durumdan aktif proliferatif bir duruma ve hücre dışı matrisin veya plağın oluşumunu takiben migrasyona kadar fenotipik değişikliklere neden olur (7). Ayrıca makrofajlar büyüme faktörleri ve kolajenaz salgılar, VSMC’lerin çoğalmasını teşvik eder, aterosklerotik plakların fibröz kapaklarının göçünü ve bozulmasını destekler, plak oluşumunu hızlandırır ve plak instabilitesini teşvik eder (8).

Aterosklerozun en yaygın risk faktörleri arasında başta LDL kolesterol yüksekliği olmak üzere hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabet, sigara kullanımı, yaş, erkek cinsiyeti ve aile öyküsü yer almaktadır. Bunun yanı sıra sedanter bir yaşam tarzı, obezite, doymuş ve trans-yağ asitleri bakımından yüksek diyetler ve bazı genetik mutasyonlar da ateroskleroz gelişme riskine katkıda bulunmaktadır (9–11). Düşük rafineli karbonhidratlı, düşük ilave şekerli ve trans yağ içermeyen gıdaların tüketimi, fiziksel aktivite, stress yönetimi, kaliteli uyku, duman/hava kirletici içermeyen ortam ve omega-3 yağ asitleri gibi faktörler de ateroskleroz riskini azaltmaktadırlar (12). Kolesterol Tedavi Araştırma İşbirliği, LDL kolesterolünün düşürülmesinin doza bağlı bir ilişki içinde iskemik inme ve miyokard infarktüs (Mİ) gibi kardiyovasküler hastalıkların riskini azalttığını göstermiştir (13).

Santral dogmanın tanımı olan “DNA RNA’yı, RNA da proteini yapar” ifadesi, genetik bilginin protein kodlayan genlerde olduğunu öne sürmektedir. Uzun süre boyunca insan genomunun protein kodlamayan bölgelerinin çoğu “çöp DNA” olarak kabul edilmiştir. Ancak, son on yılda, geniş kapsamlı paralel dizileme teknolojisi, insan genomunun çoğunun dinamik ve farklı şekilde kodlama yapmayan RNA'lara (ncRNA'lar) kopyalandığını ortaya çıkarmıştır (14). 200 nükleotitten daha uzun olan lncRNA'ların; DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak sinyal rolünde “downstream” genlerinin transkripsiyonunu düzenlediği, tuzak rolünde belli moleküler yolları inhibe ettiği, rehber/destek rolünde belirli proteinlere hedef konumlarına ulaşmada ve biyolojik

işlevlerini yerine getirmede yardımcı olduğu gösterilmiştir (15–17). LncRNA'lar, temel olarak DNA, mRNA, protein ve miRNA ile etkileşime girerek epigenetik, transkripsiyonel, post-transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel seviyelerde olanlar da dahil olmak üzere farklı alanlarda gen ekspresyonunu düzenlerler (18–22). Endotel disfonksiyonu, makrofaj apoptozu, kolesterol metabolizması, lökositlerin alımı, lökosit aktivasyonu ve vasküler yeniden şekillenme gibi temel patojenik mekanizmalar, aterosklerozun başlangıcı ve vasküler hasarın ilerlemesinde kritik düzenleyici roller üstlenir (23).

Uzun kodlama yapmayan RNA'lardan biri olan UCA1, ilk kez bir mesane kanseri hücre hattında keşfedilmiş ve ateroskleroz üzerine yapılan çalışmalarda bu RNA'nın rollerine dair çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Başka bir lncRNA olan APPAT, ilk defa dolaşımda tespit edilmiş ve aterosklerotik plaklarda ekspresyon düzeyinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmalar, kardiyovasküler hastalıklar bağlamında, dolaşımdaki UCA1'in reperfüzyon hasarına etkisi ve APPAT'ın VSMC proliferasyonundaki rolüne işaret etmektedir (24,25). Fakat literatür incelendiğinde çalışma sayıları oldukça az olup potansiyel rolleri netleşmiş değildir.

Ciddi ateroskerozu olan hastalarda invaziv olmayan metodlar yetersiz kalabilmekte ve KABG gibi cerrahi yöntemler gerekebilmektedir. Bununla birlikte, invaziv olmayan tedavi seçenekleri, azalmış risk, daha kısa iyileşme süresi ve potansiyel olarak daha düşük sağlık bakım maliyetleri gibi avantajlar sunar ve daha geniş bir hasta yelpazesi için daha erişilebilirdir. Ayrıca, ateroskleroz gelişme riski yüksek olan bireylerde önleyici tedbir olarak da kullanılabilirler. Bu nedenle, invaziv yöntemlere olan ihtiyacı azaltacak invaziv olmayan tanı ve tedavi biyobelirteçlerine büyük ihtiyaç vardır. RNA bazlı tedavilerin önemli terapötik potansiyele sahip olduğu düşünüldüğünde, lncRNA'lar potansiyel biyobelirteç adayı olabilir.

Bu çalışmada biyobelirteç adayı olabilecek UCA1 ve APPAT lncRNA'larının ekspresyon düzeyleri hem kan hem de doku düzeyinde incelenerek aterosklerozdaki potansiyel rolünün olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın nihai hedefi ise invaziv tedavi yöntemlerine gereksinimin azalarak erken tanı ile erken invaziv olmayan tedavi seçenekleri sayesinde kardiyovasküler hastalıklardan kaynaklı olan mortalite ve morbiditenin azaltılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KAN DAMARLARI

Düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriksin çevrelediği ve endotel hücrelerle kaplı bir tüp yapısından oluşan kan damarları, kardiyovasküler sistemin temel bileşenleridir ve vücuttaki her hücreye madde ve kan ürünlerinin dinamik olarak taşınmasından sorumludur (2,26). Yetişkin dolaşım sistemi yaklaşık 1000 m²'lik bir yüzey alanına yayılır ve kılcıl damarlarla birbirine bağlanan bir arteriyel ve bir venöz sistemi kapsar (27). Kan damarları 3 ana tabakadan oluşmaktadır. En içten en dışa doğru adları tunica intima, tunica media ve tunica externa şeklindedir.

- Tunica intima: Kanın hareketi için sürtünmesiz bir yol sağlayan en iç tabaka olan endotel tabaka, gevşek bağ dokusuyla kaplı ara bir tabaka olan subendotel ve elastik liflerden bir dış tabaka olan iç elastik laminadan oluşur. İç elastik lamina yoğun bir elastik membran olup intimayı mediadan ayırır.
- Tunica media: Damarın iç çapını düzenleyen bu orta tabaka başlıca kolajen liflerle çevrelenmiş düz kas hücrelerinden, ekstrasellüler matriks ve elastik kılıflardan oluşur. Venlerde arterlere oranla daha çok kollajen bulunur. Bu tabaka tunica externa'nın bağ dokusu, sinir lifleri ve küçük damarları ile çevrelenir. Dış elastik lamina bazı arterlerde mevcut olup tunica media ile externa tabakaları arasındaki geçişi belirler.
- Tunica externa (tunica adventitia): Damara yapısal destek ve şekil sağlayan damarın en dış tabakası olan bu katman başlıca bağ dokusundan oluşur ve sinir uçları ile mast hücrelerini de içerir. Arter ve ven gibi büyük damarların bu katmanı oksijen ve besleyici maddeleri sağlamak için tunica media'nın dış bölümüne giren küçük damarları bulundurur (2,5,26,28).

Kan damarları arterler, venler ve kapillerler olmak üzere üç ana sınıfa ayrılırlar.

2.1.1. Arterler

Kalp ventriküllerindeki kanı vücut organ ve dokularına taşıyan damarlar atardamar olarak adlandırılır (29). Pulsatil akım ve daha yüksek kan basınçlarına sahip

olması nedeniyle arter duvarları venlerden daha kalındır (2). Herhangi bir zamanda toplam kan hacminin yaklaşık %10-15'inin arteriyel sistemde bulunduğu tahmin edilmektedir (30).

Arterler, büyüklük ve yapılarına göre büyük elastik arterler, orta musküler arterler ve küçük arterler olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Orta musküler arterler sınıfına dahil olan koroner arterler, kalbi besler (2). Kalbin pompaladığı kanın yaklaşık %5-10'u sağ ve sol koroner arterler tarafından kalp duvarının beslenmesi için kullanılır (29,31). Koroner arterlerde meydana gelen herhangi bir tıkanıklık, miyokardiyal perfüzyonun bozulmasına ve iskemiye neden olur; bu durum, eğer onarılmazsa, kalıcı infarktüs veya kalp kasında hasara yol açabilir (31).

2.1.2. Venler

Venler, kapiller yataklardan post-kapiller venüller olarak toplayıcı venülleri oluştururlar ve giderek daha büyük venleri oluştururlar. Venler de üç katmandan oluşmakla birlikte arterlerden farklı olarak venöz basınç düşük olduğundan damarlar ince duvarlıdır ve daha az elastiktir. Bu özellik, dolaşımdaki kan hacminin %65-70'inin venöz sistemde bulunmasını sağlar (2,30).

2.1.3. Kapillerler

Kapillerler, oksijen ve besin maddelerinin değişimini sağlayan, tek bir endotel tabakasından oluşan ince duvarlı damarlardır ve perisitlerle çevrelenmiştir. Perisitler, temel nörovasküler sinyal hücreleri olarak, kan basıncındaki değişikliklere yanıt verirler. Kapiller yatak, büyük toplam kesit alanı ve düşük kan akım hızı ile karakterizedir, bu da onların verimli bir madde alışverişi gerçekleştirmelerini sağlar. Arteriyollar, kılcıl damarlar boyunca kan akışını düzenleyen yapılar olarak, lümen boyutunu ayarlayarak kan akış hızını kontrol eder (26,28,30).

2.2. KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR

Kardiyovasküler hastalıklar, kalp ve kan damarlarını etkileyen bir grup hastalıktır. Bu grup içerisinde koroner kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık ve romatoid kalp hastalığı gibi çeşitli hastalıklar yer almaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, miyokardiyal iskemi, Mİ, kalp yetmezliği, ateroskleroz, hipertansiyon ve aritmi gibi nedenlerle ortaya çıkmaktadır (32,33). Bu patolojik nedenlerin komplikasyonları olan hastalıklar artmış

morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Dünya genelinde her yıl yaklaşık 17,9 milyon insan kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle yaşamını yitirmekte, bu da tüm ölümlerin %32'sini oluşturmaktadır (33). İskemik kalp hastalıkları ve inme, kardiyovasküler ölümlerin %85'ini ve tüm nedenlere bağlı ölümlerin %28'ini temsil eden en yaygın aterosklerotik kardiyovasküler olaylardır (10). Bu nedenle, kardiyovasküler hastalıklar için tanısal biyobelirteçlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Arterlerin intima tabakasının altında lipit birikimi ile karakterize, sonunda lümenin daralmasına yol açan en zararlı kronik hastalıklardan biri olan ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıkların ana patolojik temelini oluşturur (3,34). Subklinik ateroskleroz, aterosklerotik yükün erken bir göstergesi olarak kabul edilir ve bu hastalığın erken aşamalarda anlaşılması, gelecekteki kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi önleme potansiyeline sahiptir. Çünkü erken tanı gelecekteki kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi önleyebilir (35).

2.3. ATEROSKLEROZ

Ateroskleroz; temel olarak modifiye LDL ve kalıntı lipoprotein partiküllerinin birikimi ve arterlerin fokal bölgelerinde, özellikle de arterlerdeki dallanma noktalarında görülmekte olup Mİ, inme ve periferik arter hastalığı ile sonuçlanan aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın birincil nedeni olarak kabul edilmektedir (11).

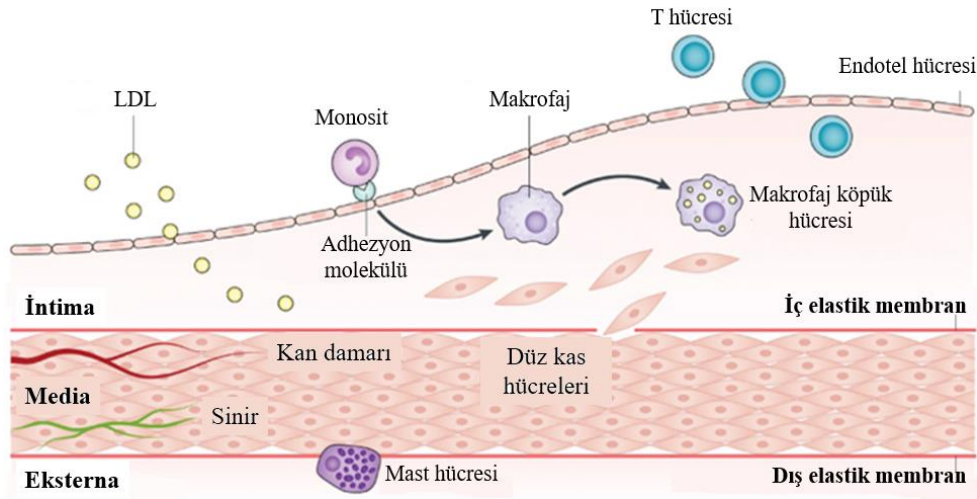
Ateroskleroz terimi Alman doktor Felix J. Marchand tarafından 1904 yılında Yunanca yulaf ezmesi anlamına gelen 'athere' ve sert anlamına gelen 'scleros' kelimelerinden türetilmiştir (36,37). Aterosklerozun mekanizması ilk olarak Russell Ross tarafından önerilen "yaralanmaya yanıt" hipotezi olarak kavramsallaştırılmıştır. Vasküler endotel hücrelerindeki hasarın trombositlerin aktivasyonuna ve intimal lümende trombosit kaynaklı büyüme faktörü ile VSMC'lerin çoğalmasına ve genişlemesine neden olduğunu öne sürmüştür. Daha sonra, aterosklerotik lezyonlarda makrofajlardan türeyen köpük hücrelerinin ve çeşitli inflamatuvar hücre tiplerinin bulunmasına dayanarak, yaralanma yanıtı hipotezi makrofajlara ve sitokinlere odaklanacak şekilde revize edilmiş ve aterosklerozun güncel inflamasyon teorisi olarak yerleşmiştir (38).

Abdominal aort, torasik aort, koroner arterler, serebral arterler, karotid arterler ve renal arterler gibi bazı arterlerin ateroskleroza duyarlı olduğu; buna karşın internal torasik arter, hepatik arterler ve radial arterler gibi arterlerin aynı hastada genellikle ateroskleroza

dirençli olduğu gösterilmiştir. Bu duyarlılık ve dirençten hangi mekanizmanın sorumlu olduğu da bilinmemektedir (37). Bununla beraber internal meme arterlerinin; endotelinin daha fazla eNOS eksprese ederek NO üretiminin daha fazla olması, VSMC'lerinin büyüme faktörleri ve pulsatil kan akışına maruz kalsalar bile göç ve proliferasyona karşı direnç göstermeleri ve yaşlanmayla ilişkili değişikliklerin ateroskleroza duyarlı damarlara göre daha yavaş hızda gerçekleşmesi nedenleriyle daha dirençli oldukları gösterilmiştir (39). Ateroskleroz en sık alt ekstremitte arterlerinde olmak üzere ardından karotid, aort ve koroner arterlerde görülür. Ayrıca klinik semptomlara yol açan mekanizmalar her lokasyon için benzersizdir (35). İnternal torasik arter ve radial arterler ateroskleroza dirençli oldukları için KABG cerrahisinde sıklıkla greft olarak kullanılırlar. İnsanlarda aterosklerotik lezyonların ne zaman oluşmaya başladığı bilinmemekle birlikte yapılan patolojik çalışmalar, aterosklerozun en erken lezyonlarının bebeklikten itibaren mevcut olabileceğini ortaya koymuştur. Ancak, bu erken lezyonların yaşamın ilerleyen dönemlerinde klinik komplikasyonlara dönüşüp dönüşmediği henüz anlaşılamamıştır (37).

2.3.1. Ateroskleroz Patogenezi

Aterosklerozun patogenezinde ve gelişiminde anjiyogenez, inflamatuvar ve immün yanıtlar, adipogenez, lipit metabolizması, hücresel proliferasyon ve apoptoz gibi birçok patofizyolojik süreç mekanik olarak yer almaktadır ve bu süreçler ateroskleroz gelişimi için kritik öneme sahiptir (40). Esas olarak endotel hasarı, VSMC proliferasyonu, migrasyonu, fenotipik değişim, köpük hücre oluşumu, inflamatuvar reaksiyonlar ve lipit metabolizma bozuklukları yer almaktadır. Ayrıca vasküler endoteliyal hücreler, mast hücreleri, plateletler, makrofajlar ve inflamatuvar sitokinler gibi birçok hücre ve molekül, aterosklerozun başlamasına ve gelişmesine katkıda bulunur (5,34,41) (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1: Aterosklerozun başlangıcı ve ilerlemesi (18)

Ateroskleroza yol açan karmaşık patolojik süreç hücrel geçirgenliği değiştiren ve arter duvarlarını aşamalı olarak etkileyen yüksek LDL kolesterol seviyeleri ile ilişkilidir. Bu substrat, dolaşımdaki monositlerin endotel hücrelerine yapıştığı ve bunların da adezyon molekülleri ve selektinleri eksprese ederek monositlerin subendotelial boşluğa göçünü arttırdığı inflamatuvar bir yanıtı teşvik eder. Lökosit adezyon moleküllerinin uyarılmış ekspresyonu kan hücrelerini dolaşımdan yakalar. Kemoatraktif sitokinler, yapışan lökositleri arter duvarının en iç tabakası olan tunica intimaya girmeye çağırır. Aterosklerotik lezyonlarda mast hücreleri, eozinofiller ve diğer lökosit popülasyonlarına ek olarak mononükleer fagosit ve lenfositlerin neredeyse her türü ve alt türü lokalize olur. Monositlerin makrofajlara olgunlaşması gerçekleşir ve bu hücreler lipitleri emerek aterosklerotik lezyonun ayırt edici özelliği olan köpük hücrelerine dönüşür (42). Kolesterol esterleri ve serbest yağ asitleri bakımından zengin olan bu köpüklü makrofajlar arter duvarlarına sızarak lipid havuzunun nekrotik bir çekirdeğe dönüşmesine neden olan patolojik bir intimal kalınlaşma lezyonuna yol açar. Ölü ve ölmekte olan hücrelerden gelen döküntüler birikerek ateromun nekrotik, lipitten zengin çekirdeğini oluşturur. Köpüklü makrofajlar içeren aterosklerotik plak, ölümcül bir tromboza yol açabilecek plak fissürüne veya rüptürüne eğilimlidir (5,43).

2.3.1.1. LDL'nin oksidasyonu: Aterosklerozun ayırt edici özelliği olarak LDL'nin disfonksiyonel endotele nüfuz etmesini ve subendotelial tabakada tutulması öne sürülmektedir. LDL ne kadar yüksekse plak o kadar hızlı gelişir. Şaşırtıcı bir şekilde, doğal LDL aterojenik değildir ve glikozaminoglikanlara bağlı olarak subendotelde

kalırken hastalığı başlatmak için özellikle ApoB olmak üzere oksidatif olarak modifiye edilmesi gerekir (44). Kolesterol konsantrasyonuna bağlı bir mekanizmayla ve reseptör aracılı olmayan bir süreçle vasküler endoteli geçmesi nedeniyle vasküler duvardaki lifler ve fibriller içinde hapsolür ve lokal reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından lipit peroksidasyonuna uğrayarak okside olur (36). Yüzey reseptörlerine sahip makrofajlar ox-LDL'yi tanır ve lipit yüklü köpük hücrelerine dönüşmek üzere yutar; bu hücreler sitokin salgılayarak bölgeyi inflamasyona karşı daha savunmasız hale getirir ve VSMC proliferasyonunu uyarır (44).

Vasküler düz kas hücreleri arterler, damarlar ve mikrodamarlar gibi vasküler yapılarda bulunan ve önemli ölçüde esneklikleri sayesinde kan basıncının korunmasında kilit rol oynayan, vasküler bütünlük için gerekli ana bileşenlerden biridir (45). Plaklardaki VSMC'ler esas olarak vasküler duvarın tunica media tabakasından kaynaklanır ve plak stabilitesine faydalı olan ve gerilme mukavemetinden sorumlu olan fibröz kapaktaki kolajen üretiminin de ana kaynağıdır. Aterosklerozun patolojik süreçlerinde, ox-LDL arter duvarında birikir, bu da intimadaki VSMC'lerin çoğalmasını, göçünü ve köpük hücrelerinin oluşumunu teşvik eder. VSMC'lerin anormal proliferasyonu ve göçü, vaskülopati ve ateroskleroz sırasında vasküler yeniden şekillenmeye yol açar. Ayrıca, VSMC'ler karmaşık bir mikro çevreye maruz kalır ve bu da VSMC'lerin değişebilirliğine neden olur. Bu nedenle, ateroskleroza katılan VSMC'lerin farklı şekilde ifade edilen genleri ve moleküler mekanizmaları potansiyel terapötik hedeflerdir (46,47).

2.3.1.2. Yağlı çizgi oluşumu: Erken yağlı çizgi oluşumu bebeklikten başlayan bir süreçtir. Adaptif intimal kalınlaşma doğumdan itibaren mevcuttur ve intimada ox-LDL'nin tutulmasıyla karakterize edilen yüksek salınımlı kayma indeksi olan bölgelerde artar (11,48). Yağlı çizgi oluşumu aterosklerozun en erken histopatolojik lezyonudur. Yağlı çizgilerin gelişiminde, LDL kolesterol metabolizmasının özellikle anahtar bir faktör olarak ortaya çıktığı karmaşık çoklu inflamasyon ve oksidasyon süreçleri rol oynar (36).

2.3.1.3. Fibröz kapak oluşumu: Fibröz kapak genellikle nekrotik bir çekirdeği lümeninden ayıran doku olarak tanımlanır (49,50). Aktive olmuş endotel ve makrofajlar tarafından çok sayıda kemokin ve büyüme faktörü salınır ve bunlar intimal bölgede çoğalmayı ve hücre dışı matriks proteinlerinin üretimini uyarmak için çevredeki düz kas üzerinde etki göstererek fibromusküler plak oluşumuna neden olur (51). Plak

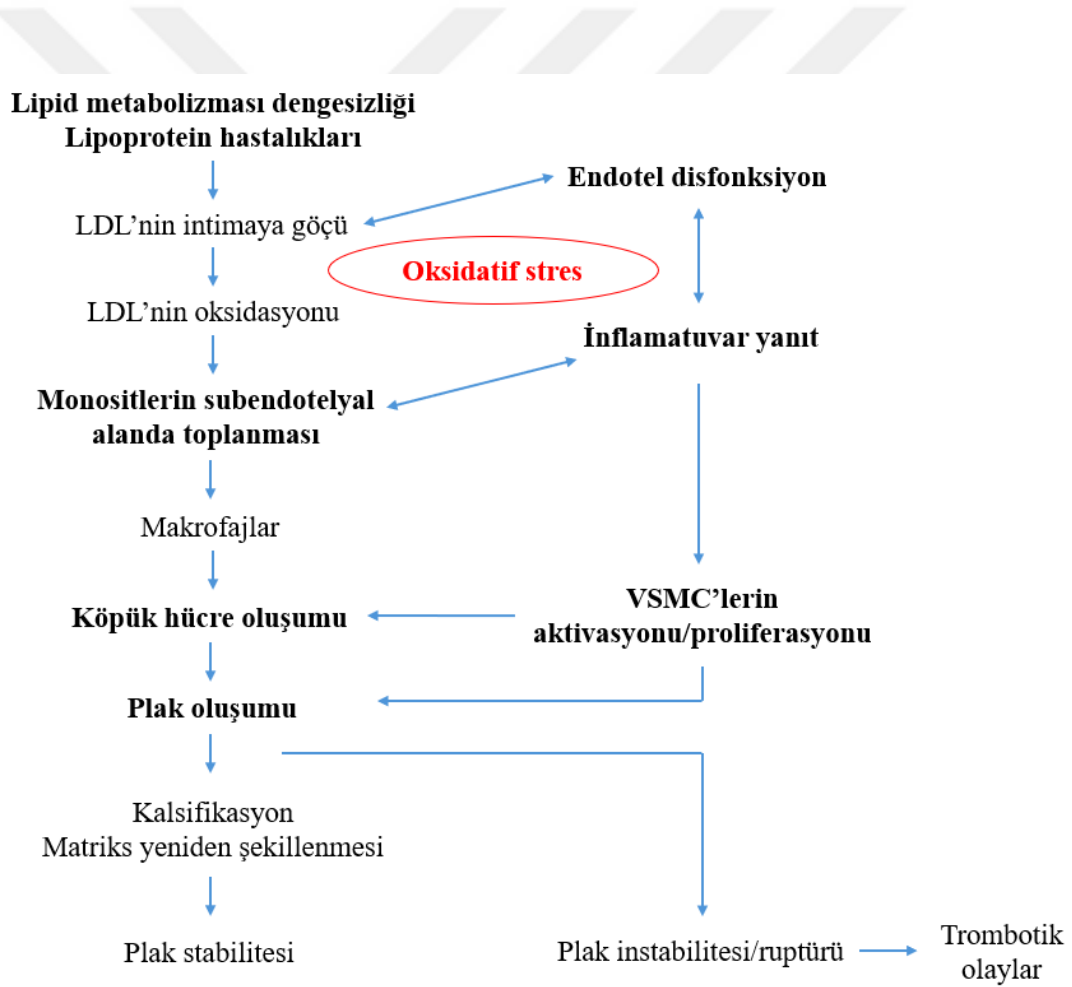
kapağı başlangıçta orijinal intimal dokudan oluşur ve lezyonlar fibroateromlara dönüştükçe, bu doku yavaş yavaş daha fazla kolajen içeren daha yoğun VSMC'den zengin bir tabaka ile yer değiştirir (52). Bu doku kapağı, trombojenik plak materyalinin kan dolaşımına salınmasını önleyen yoğun bir bariyer sağlar (53,54). Tipik olarak, aterosklerotik plak VSMC'ler ve nispeten yoğun kolajenden oluşan yüzeysel fibröz kapağa sahiptir. Fibröz kapağın altında ve yanında makrofajlar, T hücreleri ve VSMC içeren daha hücreli bir alan bulunur. Fibröz kapağın derininde ölü hücrelerden oluşan lipid debris, bozulmuş lipoproteinler, kolesterol kristalleri, köpük hücreleri, fibrin, değişken şekilde organize olmuş trombüs ve diğer plazma proteinlerini içeren nekrotik bir çekirdek bulunur (55). Matriks yeniden şekillenmesi ve kalsifikasyon da çeşitli düzeylerde mevcuttur (51). Kapak dokusunun kalınlığı rüptür riskini belirleyen en önemli faktördür. Fibröz kapak kalınlığı ≤ 65 μm olan hassas plaklar rüptür ve/veya tromboza eğilimli olup bununla birlikte, > 65 μm olan plaklar da akut Mİ'a ve hatta ani ölüme neden olur (56).

Vasküler düz kas hücrelerinin apoptozu plak stabilitesini belirleyen kilit bir süreçtir. VSMC'lerin apoptozu fibröz kapağın incelmeye yol açabilir ve nekrotik çekirdek, plak rüptürü ve kalsifikasyon oluşumunu teşvik edebilir (5,57). Apoptoz düzeyi aterosklerotik lezyonların evresi ve plak rüptürü ile yakından ilişkilidir. Adaptif intimal kalınlaşma ve yağ çizgileri aşamasında az sayıda apoptoz bulunurken, ilerlemiş lezyonlarda apoptotik odaklar mevcuttur. Ox-LDL de apoptozu indükleyici bir ajandır (57).

2.3.1.4. Plak rüptürü: Plak rüptürü, nekrotik bir çekirdeği örten fibröz kapağın pulsatil kan akışının kuvvetlerine dayanamayacak kadar zayıflaması ve bunun sonucunda kırılmasıyla meydana gelir. Rüptür, nekrotik çekirdek materyalinin kan dolaşımına atılmasıyla sonuçlanacak şekilde büyük olabilir veya plak yüzeyindeki küçük bir fissürle sınırlı olabilir (58). Her iki durumda da, çekirdek materyalin ve kolajenlerin açığa çıkması trombositleri ve koagülasyon sistemini aktive edebilir ve tıkalı tromboza yol açabilir (49). Rüptüre yatkın bir plak için beş ana kriter tanımlanmıştır: (1) geniş lipid çekirdekli ince bir kapağın varlığı; (2) aktif inflamasyonun varlığı; (3) yüzeysel trombosit agregasyonu ile endotelial erozyon; (4) fissürlü bir plak ve (5) $>90\%$ stenoz (59,60).

Plak rüptürü Mİ ve inme gibi iskemik olaylardan sorumlu olduğundan plakların stabil olup olmadığı önem arz etmektedir (60,61). Plak destabilizasyonuna ve rüptürüne

yol açan nedenler arasında makrofajlardan sentezlenen matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi birçok proteaz bulunmaktadır (37). Yapılan birkaç çalışmada MMP-1 (kolajenaz), MMP-9 (jelatinaz-B) ve MMP-12 (elastaz) ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı ve ateroskleroz gelişimini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir (62–64). Ancak transgenik hayvanlarda plak rüptürlerini indükleyemedikleri de gösterilmiş olup plak rüptürüne yol açan mekanizmalar halen tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla beraber fibröz kapağın incilmesi, proinflamatuar sitokinler ve proteazların aşırı artması, azalmış kollajen sentezi ve nekrotik çekirdeğin içinde hasarlı veya apoptotik hücrelerin varlığı plak rüptürüne neden olabilecek durumlardır (65). Şekil 2.2’de aterosklerozun patogenezi özetlenmiştir.



Şekil 2. 2: Aterosklerozun patogenezi

Aterosklerozun erken aşamasında plak nispeten stabil olup endotel hücreler ROS'lar tarafından uyarılan otofajiye uğrar ve otofaji apoptozu inhibe edebilir. Bu

nedenle, bu dönemde endotel hücre otofajisi, endotel hücrelerinin oksidatif stres hasarı ile başa çıkma yeteneğini artırmış, endotel hücrelerinin normal fizyolojik işlevini sağlamış, endotel hücre apoptozunu önlemiş ve ateroskleroz sürecini yavaşlatmıştır. Aterosklerozun geç evresinde ise, salınan inflamatuvar faktörler ve şiddetli oksidatif stres, endotel hücre otofajisinin fizyolojik eşiği aşmasına neden olarak hücre içi otofagozom hacmini normal sitoplazmayı aşmaya zorlar ve geri dönüşü olmayan hücre ölümüne yol açar. Plak yüzeyindeki endotel hücrelerinin ölümü doğrudan plak instabilitesi ve hatta plak rüptürü ile bağlantılıdır (66).

2.3.2. Endotel Disfonksiyon

Doku-kan bariyeri olarak bilinen endotel, kan damarlarının dış yüzeyinde sıralanan endotel hücrelerinden oluşan tek bir tabakadır (67). Endotel, damar duvarı ile dolaşımdaki kan arasına stratejik olarak yerleştirilmiş çok işlevli bir endokrin organdır ve vasküler homeostazda kilit bir role sahiptir (67,68). Endotel hücre disfonksiyonu hemostaz ve trombozun düzenlenmesi, lokal vasküler tonus ve redoks dengesi ve arter duvarı içindeki akut ve kronik inflamatuvar reaksiyonların düzenlenmesi için önemli etkileri olan fonksiyonel fenotipte çeşitli adaptif olmayan değişikliklerin bir takımını kapsar (69). Pro-aterojenik salınımlı kayma stresi ve ateroprotektif pulsatil kayma stresi, endotel disfonksiyonunu ve fonksiyonunu modüle eden iki hayati hemodinamik güçtür. Pro-aterojenik kayma stresi proliferasyon, inflamasyon ve oksidatif stresi artıran yollar gibi çeşitli pro-aterojenik sinyal yollarını ve genlerin ekspresyonunu aktive etmek için "kötü akış" görevi görür ve endotel hücrelerde patojenik koşulların teşvik edilmesine neden olurken; ateroprotektif kayma stresi birçok koruyucu sinyal yolunu ve gen ekspresyonunu indüklemek için "iyi akış" görevi görür ve böylece endotel hücreler normal fizyolojik işlevleri sürdürür (70–72).

Vazomotor düzenleyicilerin dengesiz seviyesine bağlı olarak endotel fonksiyonlarının düzensizliği genellikle kardiyometabolik hastalıklarla ilişkilendirilir ve bu koşullar altında hem neden hem de sonuçta ortaya çıkan komplikasyonlar olabilir (73). Vasküler homeostaz arasındaki denge vazokonstriktör ve vazodilatör biyomoleküllerin arasındaki dengeyle sağlanır (74). Vasküler homeostaz dengesinin sağlanmasında endotel hücreler tarafından üretilen ve en güçlü endojen vazodilatör olarak kabul edilen nitrik oksit (NO) kritik bir role sahiptir. Azalmış NO üretim kapasitesi ve sensitivitesi, artmış ROS, proinflamatuvar ve vazokonstriktör moleküller vasküler homeostazda dengesizliğe

ve gelişmiş vasküler endotel tampon geçirgenliğine yol açarak endotel disfonksiyona neden olur ve bu durum protrombotik, proinflamatuvar ve daha az esnek bir kan damarı duvarına neden olur (67,74,75). Ayrıca hiperkolesterolemi de endotel geçirgenliğini değiştirerek, dolayısıyla LDL kolesterolün damar duvarına göçünü sağlayarak, endotel disfonksiyonunun doğrudan bir nedeni olarak rol göstermektedir (36). Bu durum, çeşitli kardiyovasküler hastalıkların (örn. ateroskleroz, hipertansiyon ve diyabet) öngörücü bir belirteçidir (74).

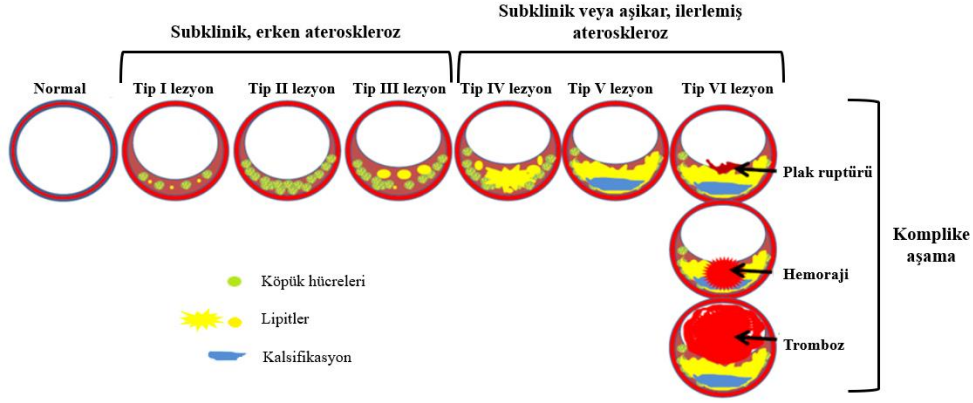
2.3.3. İntimal Kalınlaşma

Birçok vasküler hastalığın temelinde endotelial hücrelerde damar duvarı zedelenmesi mevcuttur. Bu zedeleyici uyaranlar immünolojik, biyokimyasal veya hemodinamik kaynaklı olabilir. Damar zedelenmesi endotel hücresi kaybına ve disfonksiyonuna neden olur. VSMC proliferasyonu ve matriks sentezi uyarılarak hasarlı damar duvarının onarımını sağlar ancak lümen de tıkanmaya da neden olurlar (2).

Aterosklerozun en erken lezyonu histolojik olarak lipit havuzlarının varlığı ile karakterize edilen patolojik intimal kalınlaşma olarak tanınmaktadır. Tromboz yokluğunda, subklinik aterosklerozu kapsayan patolojik intimal kalınlaşma, fibroaterom, ince kapaklı fibroaterom, plak rüptürü, iyileşmiş plak rüptürleri ve fibrokalsifik plak gibi çeşitli histolojik plak tipleri vardır (35). Amerikan Kalp Birliği (AHA) tarafından ateroskleroz lezyonları erken ve ilerlemiş olmasına ve klinik önemine göre şekil 2.3'te verildiği gibi 6-8 sınıfa kategorize edilmiştir (60). İntimal kalınlaşma bu kategorizeye göre tip III lezyon/ara lezyon/preaterom olarak adlandırılır ve hücre dışı lipitlerden oluşan bir lipit havuzunun oluşumu ile karakterize edilir (76).

Subklinik ateroskleroz olarak adlandırılan asemptomatik ateroskleroz, aterosklerotik yükün erken bir göstergesidir ve bu durumun anlaşılması önemlidir. Çünkü erken tanı gelecekteki kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi önleyebilir. Klinik ateroskleroz ile subklinik ateroskleroz arasındaki fark, ateroskleroz varlığının inme, Mİ veya kronik uzuvları tehdit eden iskemi gibi klinik iskemi semptomlarına yol açıp açmadığıdır (35). Komplike lezyonlar veya ilerlemiş lezyonlar olarak adlandırılan lezyonların, fibröz bir kapakla kaplı merkezde nekrotik veya lipit bir çekirdekle karakterize tipik fibröz plaklara veya ateromlara dönüşmesi birkaç on yıl almaktadır. Klinik semptom ve bulgulara neden olabilen lezyonlar bu ileri lezyonlardır. Çünkü ileri

lezyonlar genellikle stenoz, kalsifikasyon, kanama, yüzey erozyonu ve ülserasyon veya rüptür ile komplike hale gelir ve sonuçta organ iskemisine yol açarlar (37).



Şekil 2. 3: Amerikan Kalp Birliği sınıflandırılması (37)

2.3.4. Ateroskleroz Risk Faktörleri

Ateroskleroz ile ilişkili risk faktörleri değiştirilebilir ve edinsel olmak üzere 2 tipe ayrılır ve bu risk faktörlerinin etkileri çarpımsal etkiye sahiptir. Genetik, yaş, aile öyküsü ve cinsiyet edinsel risk faktörlerini oluştururken; hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara, diyabet, kronik böbrek hastalığı, obezite ve inflamasyon gibi risk faktörleri de değiştirilebilir risk faktörleridir (2,77).

Aterosklerozun en güçlü risk faktörlerinden biri olan yaş (erkeklerde >45 yaş ve kadınlar >55 yaş), arter duvarına miyeloid hücre alımını artıran ve ateroskerozu daha da teşvik eden kemoatraktanların üretimine katılır. Yaşlanma aortta mitokondriyal fonksiyonu bozar (78,79). Yaşlanma ayrıca proprotein dönüştürücü subtilisin/keksin tip 9 (PCSK9) tarafından LDL reseptörü (LDLR)'nün parçalanmasını ve apoE aracılığıyla hepatik lipit ve lipoprotein üretimini de artırır. Yaşa bağlı bu değişiklikler, akut hiperlipidemide vaskülatürün aterogenezi şiddetlendirmesine neden olur (80).

Erkek cinsiyette, premenopozal kadınlara göre ateroskleroz yatkınlığı daha fazla olup, postmenopozal kadınlarda yatkınlık aynı oranlarda olmakta ve hatta kadınların 70'li yaşlarından sonra erkeklerde görülme riskini aşmaktadır (81,82). Bununla beraber aterosklerozun prevalansı, ilerlemesi ve prognostik etkisi açısından da cinsiyet farklılıkları

mevcuttur. Mevcut kanıtlar, kadınların benzer yaştaki erkeklere kıyasla ortalama olarak daha düşük koroner plak yüküne sahip olduğunu ve koroner arter kalsiyum skoru ile değerlendirilen daha büyük aterosklerotik plak yükünün kadınlarda erkeklere göre daha yüksek prognostik risk oluşturduğunu göstermektedir (83).

Sigara kullanımı inflamasyon, oksidatif stres, tromboz ve LDL kolesterolünü artırmakta ve böylece ateroskleroz gelişimine katkı sağlamaktadır. Ayrıca HDL kolesterol düzeylerini ve NO üretimi ile biyoyararlanamını da azaltmaktadır (82,84,85). Sigara kullanımı MMP'lerin ekspresyonlarını da artırarak plak rüptürüne neden olabilmektedirler (86).

Kronik hipertansiyon arterlerin endotelial kaplamasını zararlı bir şekilde etkileyerek endotel disfonksiyon, oksidatif stres, vasküler yeniden şekillenme, fibrozis ve immün düzenleyici T hücrelerini etkileyerek ateroskleroza katkı sağlamaktadır (87). Ayrıca kalpteki gerilimi artırarak arter duvarlarının kalınlaşmasına ve sertleşmesine neden olur (82). Endotel hasar vazomotor aktivite kaybına, orantısız vasküler kontraktilete ve dislipidemik hastalarda kan basıncının yükselmesine neden olurken, hipertansif hastalarda kan basıncında daha fazla yükselme meydana gelir ve kendi kendine devam eden bir kısır döngü yaratarak aterosklerotik lezyonların gelişimini ve ilerlemesini hızlandırır (87).

Aşırı serbest radikaller kontrolsüz hücrel proliferasyonuna, apoptoza, hücrel geçirgenliğin artmasına ve hücre ölümüne neden olarak endotel disfonksiyona, inflamasyona ve vasküler yeniden yapılanmaya yol açar (69,87). ROS'lar inflamatuvar yanıtlar, apoptoz, hücre büyümesi ve vasküler tonusun değişmesi ile LDL kolesterolün oksidasyonunda da önemli bir rol oynar. Damar duvarında ROS'ların üretimi hipertansiyon, diyabet, sigara ve dislipidemi gibi aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için risk faktörü olarak kabul edilen tüm durumlarda artmaktadır (88).

Dislipidemi aterojenik lipitlerin veya lipoproteinlerin yüksek plazma seviyeleri veya anti-aterojenik lipitlerin veya lipoproteinlerin fonksiyonel bozukluğudur (89). LDL kolesterol aterojenik kolesterolün baskın formu olup, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) kolesterol de trigliseritlerin başlıca taşıyıcısı olduğundan aterojeniktir. "İyi kolesterol" olarak bilinen HDL kolesterol aterojenik değildir. LDL ve VLDL kolesterolün kombinasyonu olan non-HDL kolesterol tek başına her iki lipoproteinden daha aterojeniktir. Ayrıca LDL ve VLDL'de bulunan ana apolipoprotein olan apoB de tek

başına oldukça güçlü bir aterojenite göstergesidir (9). Klinik çalışmalar LDL kolesteroldeki %10'luk bir artışın kardiyovasküler hastalık riskini %20 oranda artırdığını göstermektedir (4). Buna ek olarak, on yıllar boyunca sınırda/hafif yüksek LDL kolesterol seviyelerine maruz kalan kişilerdeki aterosklerotik hastalık riski, sürekli düşük LDL kolesterol seviyelerine sahip popülasyonun aksine 3 ila 4 kat daha yüksektir (90). Dislipidemi, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini de etkileyerek çoğunlukla hipertansiyon ile birlikte görülür ve aterosklerotik olayların gelişiminde sinerjistik bir etkiye sahiptirler. Hipertansiyon ve dislipidemi, ateroskleroz için bağımsız risk faktörleri olmalarına rağmen, ateroskleroz da hipertansiyon ve diğer kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörüdür (87). Hiperlipidemi, kan glukoz seviyelerinin yükselmesine neden olarak diyabete yol açabilir ve bu da plak oluşumunu ve endotel hasarını hızlandırabilir (82). Hiperlipidemi aynı zamanda ROS'ları da artırmaktadır.

2.3.5. Aterosklerozda Tanı Yöntemleri

Aterosklerozda erken tanı ve tedavi oldukça önemli yere sahiptir. Özellikle kalp ve beynin büyük arterlerinde aterosklerozun tanısının konması için invaziv işlemlere ihtiyaç duyulması, invaziv olmayan kan biyobelirteçlerinin yetersizliğini ortaya koymaktadır (3). Aterosklerozun tanısının konmasında çeşitli yöntemler bulunmakla birlikte hem invaziv hem de invaziv olmayan metotlar mevcuttur. İnvaziv yöntemler arasında anjiyografi, anjiyoskopi, intravasküler ultrason ve optikal görüntülemeler bulunmaktadır. İnvaziv olmayan yöntemler arasında ise ultrason/doppler, elektrokardiyografi, bilgisayarlı tomografi yöntemleri, manyetik rezonans görüntüleme ve lipit profilinin değerlendirildiği kan testleri bulunmaktadır (5,91). Aterosklerozun gelişmesinde önemli rol oynayan ox-LDL, moleküler görüntülemeye hedef molekül olarak kullanılabilir. Ox-LDL'nin yanı sıra, dolaşımdaki ox-LDL antikor seviyelerinin ölçümü de kardiyovasküler hastalık riskinin tahmininde kullanılabilir (92).

Aterojenik risk belirteçleri paneli, LDL'deki serbest ve esterleşmiş kolesterolü ölçen LDL kolesterol ile birlikte non-HDL kolesterol ve apo B-100 ölçümlerinden oluşur. Aterojenik dislipidemi, yüksek düzeyde LDL kolesterol ile karakterize olup, buna trigliserit düzeylerinde bir artış, artan sayıda küçük yoğun LDL, düşük HDL kolesterol düzeyleri ve postprandiyal hiperlipideminin eşlik etmesidir (93). Ayrıca total kolesterol, HDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri de ölçülerek lipit profili değerlendirilmektedir. Yapılan güncel çalışmalarda yeni sentezlenen LDL'nin yapısındaki apoB100'e kovalent

bağlanan apo(a)'nın kovalent bağlanmasıyla oluşan lipoprotein(a)'nın yüksek seviyelerinin proaterojenik özellikte olduğu gösterilmiştir. Lipoprotein(a)'nın aynı zamanda plazminojenle de olan yapısal homolojisinden ötürü aterotrombotik etki gösterdiği gösterilmiştir. Ancak ilginç bir şekilde apo(a), ters kolesterol taşınması, antiinflamatuvar, anti-apoptotik ve anti-oksidatif etkiler gibi ateroprotektif işlevlere sahip bir lipit olan HDL'nin de ana bileşenidir (87,93). Yüksek riskli hastalarda kolesterol düşürücü ilaçlarla yapılan randomize kontrollü çalışmalar, LDL kolesterolünün düşürülmesinin kardiyovasküler hastalık riskinde belirgin azalmalar sağladığını doğrulamaktadır (9).

2.3.6. Aterosklerozda Tedavi Yöntemleri

Aterosklerotik hastalıkların tedavisinde yaşam tarzı değişiklikleri ve farmakolojik yaklaşımlar kullanılabilir. Yaşam tarzı değişiklikleri olarak Amerikan Kalp Derneği (AHA) ve Amerikan Kardiyoloji Koleji (ACC), hem genel nüfusta hem de ateroskleroz riski taşıyan bireylerde sağlıklı bir beslenme tarzını önermektedir (9,94,95). Sağlık davranışlarındaki yaygın değişiklikler ve risk faktörlerine yönelik tedavilerin kullanımı, yüksek gelirli ülkelerde vasküler mortalitedeki dramatik düşüşlerin bazılarına katkı sağlamıştır (77).

Farmakolojik yaklaşımlara bakıldığında tedavi yöntemi statin tedavisi ve statin olmayan tedaviler olarak ikiye ayrılabilir (9,94,95). Statinler kardiyovasküler hastalıkların primer ve sekonder korunmasında ilk basamak tedavi olup kolesterol biyosentezinde hız kısıtlayıcı enzimi olan 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-KoA) redüktaz enziminin inhibitörüdür. Statinler hepatosit LDL reseptörlerini upregüle ederek dolaşımdan karaciğere LDL kolesterol alımını artırır (4). Statinler ayrıca endotel disfonksiyonda endotelial NO sentaz (eNOS)'ın mRNA yarı ömrünü artırarak, eNOS işlevini güçlendirerek ve endotelial hücre apoptozunu azaltarak etkisini göstermektedir. Bu, lökosit endotel hücre etkileşimini inhibe eder ve neo-intimal inflamasyonu ve makrofaj infiltrasyonunu azaltır (6). Statin olmayan tedavilerde kullanılan ilaçlar arasında en yaygın Ezetimibe (kolesterol absorpsiyon inhibitörü) olmak üzere safra asidi sekestrantları ve LDLR'nin degradasyonuna neden olan PCSK9 proteinin inhibitörleri olup LDL kolesterol düzeylerinin düşürülmesi için kullanılmaktadır. Bu ilaçların kombinasyonu da bazı hastalarda olumlu sonuçlar vermektedir. Bu ilaçların yanı sıra niasin ve fibratlar da trigliserit düşürücü olarak kullanılmaktadır (4,9,90,96,97). Ters

kolesterol metabolizmasında rol alan HDL'nin major komponenti olan apoA-I'in ve kolesterol ester transfer protein (CETP)'in baz alındığı terapötik çalışmalar mevcuttur.

Aterosklerotik hastalıkların tedavisinde kolesterol metabolizmasıyla ilişkili bazı mRNA'ların farmakolojik olarak hedeflenmesi yaklaşımı, inovatif ve umut verici olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yapılan çalışmalarla mRNA hedefli monoklonal antikolar ve siRNA'lar ile kolesterol düzeylerinin azaltılabileceği gösterilmiştir (90,96,98). Son çalışmalar, PCSK9'a karşı tam insan monoklonal antikoları ile PCSK9'un inhibisyonunun, halihazırda maksimum tolere edilen statin tedavisi ile tedavi edilen hastalarda $\approx$ %60 LDL kolesterolünün azalmasına yol açtığını göstermektedir (98). 2015 yılında PCSK9'un Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk monoklonal antikor inhibitörü olan Alirocumab ve ardından Evolocumab hiperlipidemi için tedavi seçeneği olarak onaylanmıştır. 2021 yılında ise PCSK9 geninin susturulması yoluyla LDL kolesterol düzeylerini azaltan diğer bir ilaç olan Inclisiran siRNA FDA tarafından onaylandı. Yeni bir antisens oligonukleotit olan ISI-APO(a)_{Rx} aterojenik özelliğe sahip olan apo(a) mRNA'sının tranlasyonunu engelleyerek hem apo(a)'nın üretimini durdurarak ve lipoprotein(a)'nın seviyelerini azaltmaktadır. Bunun yanı sıra trigliserit düzeylerini azaltan ve faz II/III çalışmaları devam eden başka antisens oligonükleotitler de mevcuttur (90,96). Ayrıca yeni terapötik hedefler, ROS'un mitokondriyal etkisinin azaltılmasına, mitokondriyal biyogenezin indüklenmesine veya antioksidanların belirli bölgelere hedefli olarak verilmesine odaklanmaktadır (80).

Ciddi ateroskleroz vakalarında kan akışını yeniden sağlamak ve kan basıncını kontrol altına almak için invaziv tedavi yöntemleri gerekebilmektedir. Bu invaziv tedavi yöntemler anjiyoplasti, karotis endarterektomi ve tıkalı/daralmış koroner arterleri bypass etmek için vücudun diğer bölgelerinden alınan venöz veya arteriyel kan damarlarının kullanılmasını içeren cerrahi bir tedavi yöntemi olan KABG'dir (82). Bypass grefti olarak kullanılan damarlar rutin olarak LIMA ve alt ekstremitelerden safen ven greftleridir. Safen ven greftleri KABG uygulanan hastalarda daha yaygın kullanılmakla beraber zamanla damar lümeninin tıkanması önemli bir dezavantajdır. LIMA'ların $<$ %4'ünde ateroskleroz gelişmesi ve sadece %1'inde hemodinamik öneme sahip aterosklerotik stenoz olması nedeniyle LIMA'lar genellikle ameliyat sonrası uzun yıllar boyunca açık kalır (10 yıllık açıklık $>$ %90) (31,99).

2.3.6. Aterosklerozda Rol Alan Genetik Nedenler

Lipit ve kolesterol metabolizmasında görev alan proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyon ve polimorfizmler hiperlipidemiye neden olarak aterosklerotik hastalıkların erken ortaya çıkmasına katkı sağlayabilmektedir. LDLR proteinini kodlayan gende fonksiyon kaybı mutasyonları, daha nadir olmakla beraber apoB'yi kodlayan gendeki fonksiyon kaybı mutasyonları ve PCSK9'u kodlayan gendeki fonksiyon kazanımı mutasyonları ailesel hiperkolesterolemiye neden olmaktadır. Otosomal kodominant kalıtılan bu hastalık farklı fenotiplerle görülmekle birlikte yüksek IDL kolesterol seviyelerine ve erken ateroskleroz (özellikle koroner arter hastalığı) ile karakterizedir (98,100). LDLR'yi kodlayan gendeki heterozigotluk yaklaşık her 500 kişiden birinde görülmektedir. Bu kişilerde genel popülasyona kıyasla plazma kolesterol seviyelerinde 2-3 kat artış vardır ve yetişkinlikte erken ateroskleroz gelişimine yatkınlığa neden olur. LDLR geninde homozigot mutant olan kişilerde durum daha ciddi olup plazma kolesterolünde 5-6 kat yükselme olabilir. Bu kişilerde ateroskleroz gelişimi daha da hızlanır ve 20 yaşından önce MI'den ölebilirler. LDLR genindeki mutasyonların yanı sıra görülen çoklu polimorfizmler de proaterojenik fonksiyona neden olabilirler (101,102). CETP'nin enzim aktivitesinin artmasına neden olabilecek polimorfizmler HDL kolesterol seviyelerinin azalmasına ve böylece ateroskleroz riskinin artmasına neden olabilirler. PCSK9 geninde görülen polimorfizmler de LDLR seviyelerini etkileyerek aterosklerozda önemli rollere sahiptirler (102). Lipoprotein lipaz (LPL), apoB, apoC-III, apoC-II, apoA-V, lipaz olgunlaşma faktörü, apoE proteinlerini kodlayan genlerdeki patojenik varyantların varlığı hipertrigliseridemiye yol açmaktadır (65,103). Otozomal resesif kalıtılan bir lizozomal depo hastalığında lizozomal asit lipaz eksikliği olup prematüre aterosklerozla ilişkilidir (103). Birkaç farklı formda bulunabilen apoE adlı bir protein, fazla kolesterolün kandan uzaklaştırılması için önemlidir ve bunu kolesterolü karaciğer hücrelerinin yüzeyindeki reseptörlere taşıyarak yapar. ApoE homozigot mutantlığı disbetalipoproteinemiye neden olabilir. ApoE'deki genetik defektler bazen reseptörlere bağlanamamasına neden olur, bu da kişinin kan kolesterolünün ve dolayısıyla ateroskleroz riskinin artmasına yol açar (101,104,105).

2.4. RNA'LAR

Genetik bilgiyi taşıyan RNA'ların primer fonksiyonu, translasyon aracılığıyla ribozomlar tarafından hücresel süreçler için gerekli olan çeşitli proteinlerin

sentezlenmesidir. Protein sentezinde haberci RNA (mRNA), taşıyıcı RNA (tRNA) ve ribozomal RNA (rRNA) olmak üzere 3 tip RNA rol oynamaktadır (106). Bu RNA'ların dışında ncRNA'lar da mevcuttur. ncRNA'lar, tüm biyolojik süreçlerde güçlü ve çok işlevli düzenleyiciler olarak ortaya çıkmaktadır (107). Hatta artan sayıda çalışmalarda bu ncRNA'ların anormal ekspresyonları kardiyovasküler hastalık, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar olmak üzere birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (107–110).

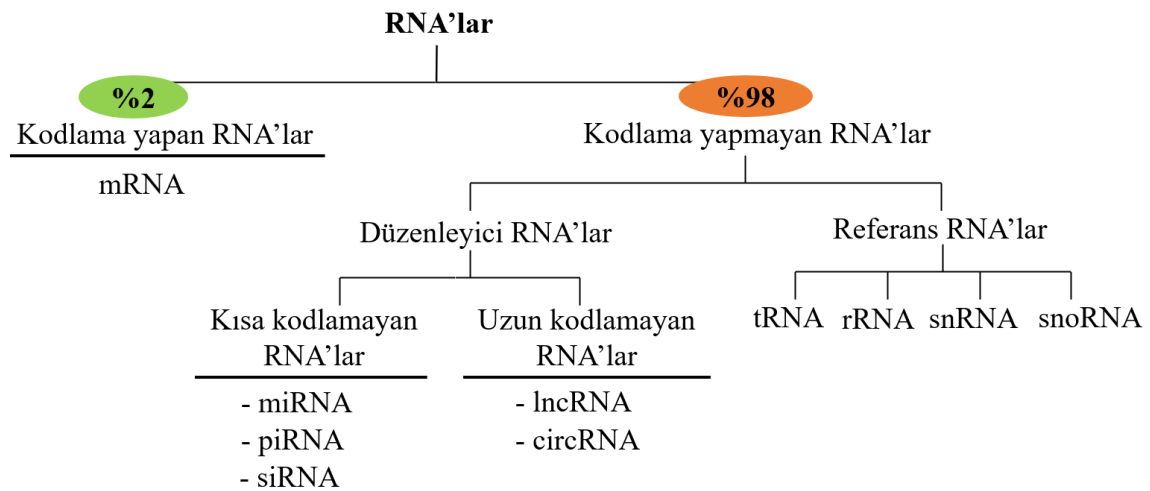
“Encyclopedia of DNA Elements” (ENCODE) gibi genlerin sistematik olarak açıklanması ve işlevsel tasvirine yönelik büyük ölçekli projeler, memelilerin genomik DNA'sının %80'inin etkin bir şekilde kopyalandığını, karmaşık bir şekilde kontrol edildiğini ve çoğunun kodlamayan RNA genlerine ait olduğunu göstermiştir (111). İnsan genomunun yalnızca yaklaşık %2'si protein kodlamakta olup kodlanan genler mRNA'lara transkribe edilmekte ve mRNA'lar translasyon aracılığıyla proteinlere çevrilmektedir. Protein kodlayan genlerden ziyade ncRNA genlerinin sıklığı bir organizmanın karmaşıklığı ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır ve bu da ncRNA'ların önemini vurgulamaktadır (111). tRNA ve rRNA'lar düzenleyici RNA'larla birlikte ncRNA sınıfına dahildirler. Düzenleyici RNA'lar <200 nükleotit uzunluğunda olanlar küçük kodlama yapmayan RNA (sncRNA) ve >200 nükleotitten daha uzun olanlar lncRNA olmak üzere sınıflandırılmaktadır. sncRNA'lar ortalama 21-34 nükleotit uzunluğundadırlar. sncRNA'lar, mikroRNA (miRNA), PIWI-ilişkili RNA (piRNA), tRNA türevi fragmentler ve endojen küçük interfere RNA (siRNA)'lardan oluşmaktadır (20,112–114) (Şekil 2.4). SnoRNA'lar kanonik olarak diğer küçük “housekeeping” RNA'lar üzerindeki nükleotidlerin kimyasal modifikasyonları için kılavuz görevi görürken, bazılarının miRNA'lara benzer posttranskripsiyonel gen susturma işlevselliğine sahip küçük RNA'lara işlendiği gösterilmiştir (114). ncRNA'lar, hem sekansa hem de ikincil yapıya bağlı olarak DNA, mRNA, miRNA ve proteinler için etkileşim alanları sunmaktadır (115,116). Tüm ncRNA'ların büyük çoğunluğunu (>%80) oluşturan ve miRNA'lara kıyasla daha fazla değişkenliğe sahip olan lncRNA'lar, son yıllarda hastalık teşhisi ve hedef terapötiklerde sıcak bir konu haline gelmiştir. (117,118).

2.5. UZUN KODLAMA YAPMAYAN RNA'LAR

21'inci yüzyılın başında, insan ve fare genomunun ilk dizilimi ve analizi, “çöp” DNA'ların %98'inin transkript edilebileceğini ortaya koymuştur ve çoğu transkript protein kodlamadığı için bu transkriptler genellikle ncRNA'lar olarak adlandırılmaktadır.

Kısa bir süre sonra, 2005 yılında başlatılan ENCODE projesi ve son raporları, insan genomunun %80'ine kadarının ncRNA'lara dönüşme kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymuştur (22,119).

Uzun kodlama yapmayan RNA'lar 200 nükleotitten daha uzun olan ve fonksiyonel bir proteine çevrilmeyen RNA'lardır. lncRNA'lar, protein kodlama özelliklerinin olmayışından ötürü daha önce genom transkripsiyonunun gürültüsü olarak nitelendirilmişlerdi. Fakat gelişen transkriptom programları ve çip teknolojisi sayesinde kanser ve kardiyovasküler hastalık dahil olmak üzere çeşitli hastalık alanlarında oldukça dikkat çekici olmuştur. Yapılan çalışmalarda lncRNA'ların belirli hastalıkların oluşumu ve gelişimini regüle etme yeteneğine sahip oldukları gösterilmiştir (120). Mevcut insan genom ENCODE (GENCODE) projesi istatistiklerine göre insanlarda 19.370 lncRNA geni ve 57.722 lncRNA transkripti olduğu rapor edilmiştir (121).



Şekil 2. 4: RNA'ların sınıflandırılması

mRNA: Haberci RNA, miRNA: mikroRNA, piRNA: PiWi-ilişkili RNA, siRNA: küçük interfere RNA, lncRNA: Uzun kodlama yapmayan RNA, circRNA: Sirküler RNA, tRNA: transfer RNA, rRNA: Ribozomal RNA, snRNA: Küçük nüklear RNA, snoRNA: Küçük nükleolar RNA.

Protein kodlayan mRNA'lar ile karşılaştırıldığında, lncRNA'lar kromatinle sınırlı olma eğilimindedir ve daha düşük stabilite, daha kısa transkriptler, daha düşük guanin-sitozin içeriği, daha az ekzon, düşük poliadenilasyon etkinliği, daha az alternatif kırılma

etkinliği, daha yüksek hücre tipi özgülüğü, daha düşük evrimsel koruma ve mRNA'lardan daha az ifade ile büyük dizi karmaşıklığına sahiptir (122).

Uzun kodlama yapmayan RNA'ların biyobelirteç olarak avantajları vardır. Bunlar; lncRNA'ların tespit edilebilir olması, RT-qPCR gibi son derece hassas yöntemlerle doğru bir şekilde ölçülebilmesi ve lncRNA seviyelerindeki değışikliklerin hastalıkların altında yatan mekanizmaları yansıtabilmesidir. Yapılan birçok çalışma lncRNA'ların farklı kardiyovasküler hastalıklar için teşhis, prognostik ve prediktif araçlar olarak uygulanabilirliğini doğrulamıştır (32).

İlk genom çaplı ilişkilendirme çalışmalarında lncRNA'ların kardiyovasküler hastalıklardaki önemine ilişkin ilk bilgiler verilmiş ve koroner arter hastalıkları ile en ilişkili lokus (kromozom 9p21) olarak 3.8 kilobazlık (kb) bir lncRNA bölgesi (INK4 Lokusunda Antisens Kodlamayan RNA, ANRIL) tanımlanmıştır. Bu lokus vasküler endotelin işlev bozukluğu, VSMC proliferasyonu/migrasyonu/senesensi/apoptozu, mononükleer hücre adezyonu ve proliferasyonu, glikolipit metabolizması bozukluğu ve DNA hasarı ile ilişkili olup ateroskleroz ve Mİ, inme ve anevrizmalar gibi farklı ateroskleroz sonuçları ile ilişkili olduğu sonraki çalışmalarda gösterilmiştir (17,48,123,124). İlk keşfedilen lncRNA olan H19 adiposit farklılaşması, anjiyogenez, lipit metabolizması, inflamatuvar yanıt, hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok süreci düzenlemektedir (40,125). Bir lncRNA birden fazla aşamayı da regüle edebilmektedir. Örneğin H19 ve düz kas ve endotel hücresi zenginleştirilmiş migrasyon/farklılaşma ilişkili transkript (SENCR) hem endotel disfonksiyonu hem de vasküler yeniden şekillenmeyi düzenlemektedir. snoRNA konak geni 12 (SNHG12) ve HOX antisens intergenik RNA (HOTAIR) da endotel disfonksiyonda, karaciğerde eksprese edilen karaciğer X reseptörü ile indüklenen sekans (LeXis), primat-spesifik (CHROME) ve Gas5 lncRNA'ları da kolesterol metabolizmasında görev almaktadırlar (23,24,59).

Uzun kodlama yapmayan RNA transkriptleri nükleus veya sitozolde lokalize olabilir, ayrıca hem nükleer hem de mitokondriyal genomlardan türetilirler (126). Eksprese edilen lncRNA'ların %54'ü sitoplazmada tespit edilmiştir. Bunların çoğunluğu (%70) polizomal fraksiyonlarla ilişkili sitoplazmik kopyalarının >%50'sine sahiptir ve lncRNA'lar genlerin ifadesini çoklu düzeyde düzenlerler (127). lncRNA'lar hem nükleus, hem de sitoplazmada mitokondride bulunabilirler (128). Nüklear lncRNA'lar sitoplazmik

olanlara göre daha az kararlıdır (19). MALAT1 gibi bazı lncRNA'ların, hücre döngüsü sırasında mitokondriyal RNA işleme endoribonükleazı RNA bileşeni (RMRP) aracılığıyla nükleustan sitoplazmaya çıktığı, ancak sitoplazmada kalmayıp mitokondriye girdiği ve burada oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal DNA replikasyonunu etkileyerek mitokondriyal fonksiyonda rol oynadığı gösterilmiştir. Mekik mekanizması bilinmemekle birlikte, RMRP, mitokondriyal genom tarafından kodlanan herhangi bir potansiyel lncRNA'ya ek olarak nükleer lncRNA'ların mitokondriye girme ve orada ikamet etme yeteneğine sahip olabileceğine dair güçlü kanıtlar sunmaktadır (129).

Bazı lncRNA'lar hücre içi degradasyon yoluyla miRNA'ların öncüllerini oluşturabilir ve RNA'lar hedef genlerin ifadesini düzenleyen spesifik miRNA'lar üretmek için işlenebilir. Bazı lncRNA'lar ise 3' ucunda, ribonükleaz P (RNaz P) aracılığıyla bölünme ile oluşturulan ve onları degradasyona karşı korumaya yardımcı olan 3'-helikal bir yapıya sahiptir (117).

Kodlama kapasitesine sahip olmamalarından ötürü kodlama yapmayan RNA'lar olarak sınıflandırılan pri-miRNA, circRNA ve lncRNA gibi ncRNA'ların bazılarının, biyoinformatik ve yüksek verimli teknolojilerin gelişmesiyle birlikte küçük açık okuma çerçevelerine sahip olduğu ve bu açık okuma çerçevelerinden kodlanan çeşitli mikropeptitlerin (genellikle <100 aa) olduğu gösterilmiştir. Bu lncRNA'lar sitozolde lokalizedir ve yalnızca tek ekzon dizisi kodlayan bir peptit içerir. (20,21). Bu mikropeptitler mayadan insana kadar temel biyolojik süreçlerde önemli role sahiptir. Yapılan son çalışmalarda ayrıca lncRNA'ların translasyonunun açık okuma çerçeveleri tarafından yönlendirildiğini ve bazı lncRNA'ların işlevlerini kodladıkları peptitler aracılığıyla yerine getirdiğini göstermektedir. Bununla birlikte, mikropeptitleri kodlama yetenekleri, transkript olarak işlevlerini kısıtlamaz. İki işlevli transkriptlerin hem protein şablonları hem de lncRNA'lar olarak kullanılabileceğine dair kanıtlar artmaktadır (66,128,130,131).

2.5.1. Uzun Kodlama Yapmayan RNA'ların Biyogenezi

Uzun kodlama yapmayan RNA'ların transkripsiyonundan primer olarak RNA polimeraz II sorumlu olmakla beraber diğer polimerazlar da sürece katılmaktadır. Oluşturulan lncRNA'lar sıklıkla kanonikal yolla 5' uçlarında 7-metil guanozin (m⁷G) ile kaplanır, 3' uçlarında poliadenillenir ve mRNA'lara benzer şekilde kırılırlar (18,66,111). lncRNA'ların bir kısmı açık okuma çerçevelerine de sahiptirler (21).

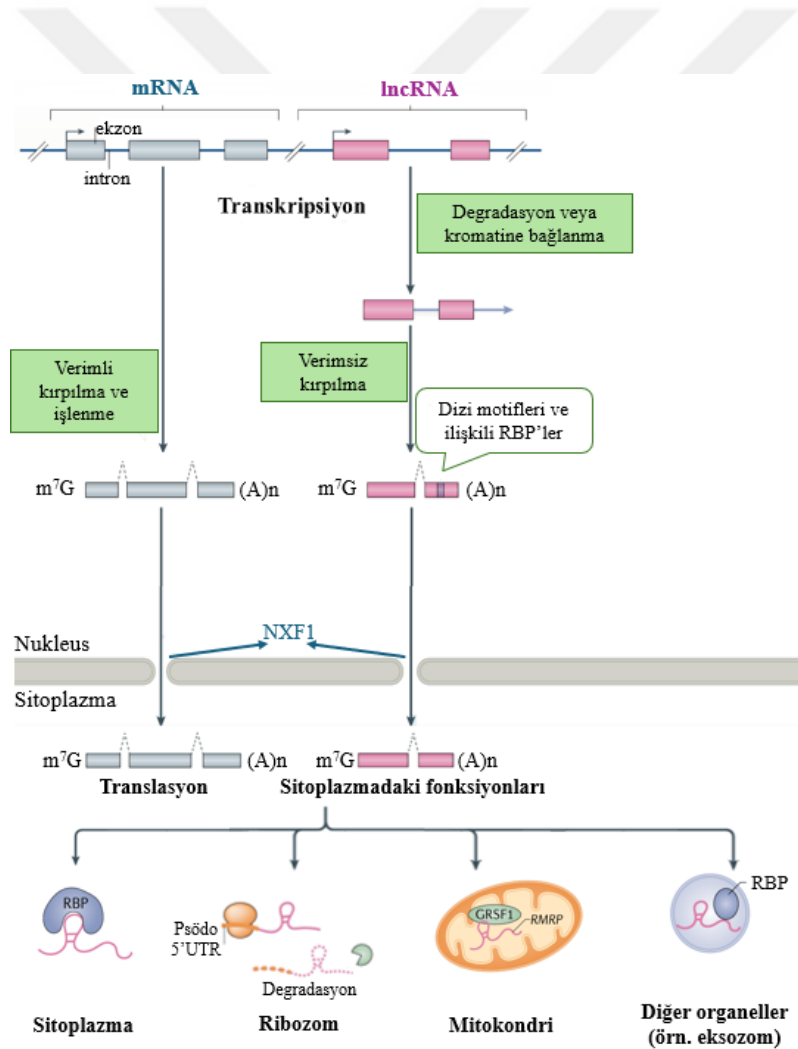
RNA polimeraz II tarafından kopyalanan lncRNA'lar verimsiz bir şekilde işlenir ve nükleusta tutulurlar. Bir veya sadece birkaç ekzon içeren lncRNA'lar (ve mRNA'lar) nükleer RNA çıkış faktörü 1 (NXF1) tarafından sitoplazmaya çıkartılırlar. Bir veya sadece birkaç ekzona sahip uzun ve A/U bakımından zengin transkriptler, nükleustan sitoplazmaya geçmek için NXF1 yoluna bağımlıdırlar. Sitoplazmaya çıkan lncRNA'lar farklı yollara gidebilirler. Sitoplazmada genellikle çeşitli RNA bağlayıcı protein (RBP)'lerle etkileşime girebilirler, psödo 5'-çevrilmeyen bölgeler aracılığıyla ribozomlarla ilişkili olabilirler, lncRNA'ların birkaçı bilinmeyen mekanizmalarla mitokondriye ayrılabilirler ya da bazıları muhtemelen lncRNA-RBP kompleksleri oluşturarak eksozomlar gibi diğer organellerde de bulunabilirler. Sitoplazmik lncRNA'ların %70'ini oluşturan havuzların yarısının polizom fraksiyonlarında bulunduğu tahmin edilmektedir (132,133). Ribozomla ilişkili lncRNA'lar, bilinmeyen mekanizmalar nedeniyle kısa yarı ömürlü olma eğilimindedir. Mitokondride, RMRP ile mitokondriye alınır ve guanince zengin RNA dizisi bağlayıcı faktör 1'e (GRSF1) bağlanarak stabilize edilirler (132) (Şekil 2.5). Böylece lncRNA'lar alternatif olarak kırpılır veya farklı hücre altı lokalizasyonu (ribozom, endoplazmik retikulum, mitokondri gibi) ve işlevi için potansiyele sahip izoformlara işlenir (19,134). Bu şekilde hücre farklılaşması ve hücre döngüsü gibi fizyolojik olayların yanı sıra çeşitli patolojik durumlara katılır (14,135). (21).

Bu yolun yanı sıra RNA polimeraz III, poliadenile olmayan lncRNA'ları transkribe eder ve bazı lncRNA'lar kırpılma ve snoRNA üretimi sırasında çıkartılırlar (136). Ayrıca, RNaz P tarafından olgun 3' uç üretmek için bölünme, uçlarında snoRNA-protein (snoRNP) kompleksleri tarafından kapatma ve dairesel yapıların oluşturulması dahil olmak üzere çeşitli kanonik olmayan mekanizmalarla da işlenebilirler (119,132,137). *cis*'deki sekans motifleri ve *trans*'daki faktörler lncRNA'ların nükleer lokalizasyonuna koordineli olarak katkıda bulunur (132).

2.5.2. Uzun Kodlama Yapmayan RNA'ların Sınıflandırılması

Uzun kodlama yapmayan RNA'ların çeşitli işlevleri, çok sayıda izoformu ve diğer genlerle iç içe geçmiş ilişkileri, lncRNA sınıflandırmasını zorlaştırmaktadır (138). lncRNA'lar bulundukları yerlere ve genomik orijinlerine göre sınıflandırılabilirler. Bulundukları yere göre nükleer ve sitoplazmik olarak ikiye ayrılırlar (128). Nükleer lncRNA'lar *cis*- ve *trans*- hedefleme yoluyla yakınındaki promotörlerle etkileşime

girerek transkripsiyonel girişimi, kromatin döngülerini stabilize ederek distal bir “enhancer”larının bir promotörle etkileşime girmesini, posttranskripsiyonel regulasyonda miRNA'lar aracılığıyla mRNA ile birleşerek lncRNA-miRNA-mRNA ekseninin sentezini sağlayarak mRNA stabilitesini veya translasyonunu etkilemektedir. Ayrıca gen ekspresyonunun posttranskripsiyonel regulasyonunda etkili olan ilgili miRNA'yı düzenlemek için miRNA öncüleri veya miRNA süngerleri olarak hareket ederler (21,139,140). Sitoplazmik lncRNA'lar ise çalışmaların odak noktası olan posttranskripsiyonel gen regulasyonu olmak üzere çok çeşitli işlevlere atfedilmiş olup çok sayıda çalışma, lncRNA'ların mRNA döngüsünü, translasyon etkinliğini ve posttranslasyonel modifikasyonları düzenleyebildiğini göstermektedir (119,128).

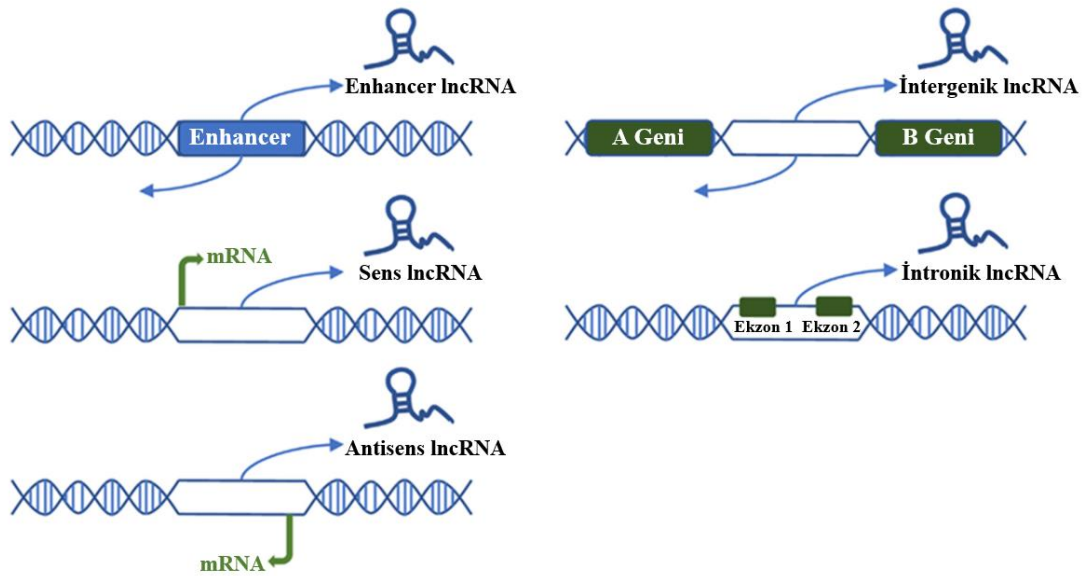


Şekil 2. 5: lncRNA'ların biyogenezi ve hücre içindeki kaderi

mRNA: haberci RNA, lncRNA: Uzun kodlama yapmayan RNA, NXF1: Nuklear RNA çıkış faktörü 1, 5' UTR: 5' ucunda çevrilmeyen bölge, RBP: RNA bağlayıcı protein, GRSF1: Guanince zengin RNA dizisi

bağlama faktörü 1, RMRP: mitokondriyal RNA işleme endoribonükleazı, m⁷G: 7-metil guanozin, (A)n: poli adenin kuyruğu.

Genomik orijinlerine göre lncRNA'lar protein kodlayan gen ile aynı yönde transkribe edilen ve üstüste çakışan lncRNA'lar “sens lncRNA”; protein kodlayan genin tersi yönde transkribe edilen ve üstüste çakışan “antisens lncRNA”; bilinen başka bir kodlayan genle örtüşmeyen ve kendi promotörlerine ve düzenleyici elementlerine sahip olan intergenik bölgelerden transkribe edilen ve protein kodlayan iki gen arasında bulunan bölgeden kodlanan “intergenik RNA”; intronlar gibi kodlanmayan DNA dizilerinden veya “enhancer”ler gibi düzenleyici elementlerden sentezlenen “intronik lncRNA” ve genin promotör bölgesine yakın bir yerden iki yönlü olarak transkribe edilen lncRNA'lar olmak üzere 5 sınıfa ayrılırlar (Şekil 2.6) (14,137,141–143).



Şekil 2. 6: Genomik orijinine göre lncRNA'ların sınıflandırılması

lncRNA: Uzun kodlama yapmayan RNA, mRNA: Haberci RNA

Başka bir sınıflandırmaya göre lncRNA'lar; mRNA benzeri intergenik transkriptler, protein kodlayan genlerin antisens transkriptleri, U-A-U üçlü sarmal yapısının olgun bir 3' ucunu oluşturmak için RNaz P bölünmesiyle stabilizasyonu sağlanabilen RNA polimeraz II transkriptinden türetilmiş geleneksel olmayan lncRNA'lar, ekzonükleolitik bozulmayı önlemek için snoRNA-protein kompleksleri

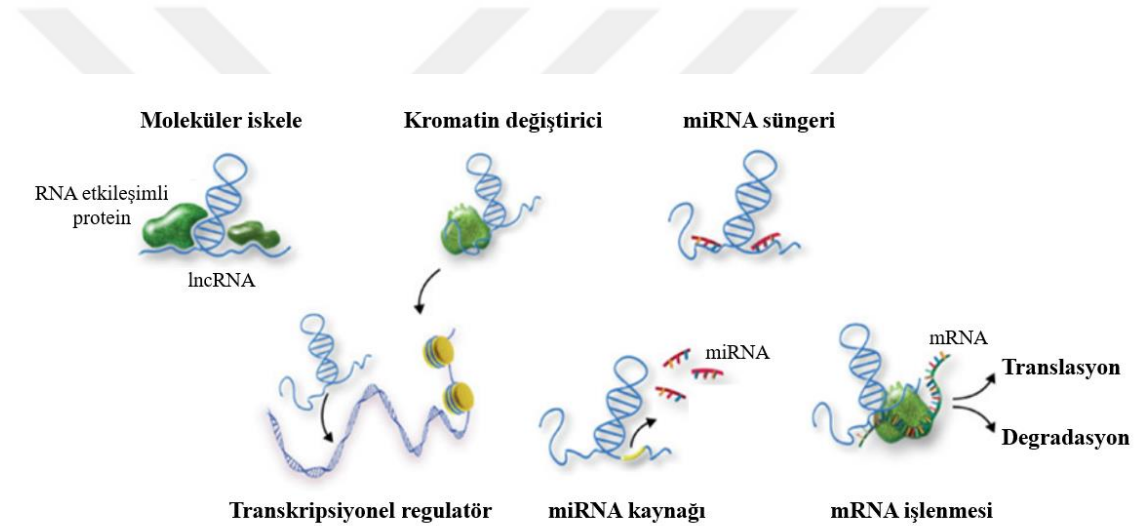
(snoRNP) ile kapatılarak veya kovalent olarak kapalı dairesel yapılar oluşturularak oluşturulan RNA'lar olmak üzere de sınıflandırılabilirler (119).

2.5.3. Uzun Kodlama Yapmayan RNA'ların Fonksiyonları

Uzun kodlama yapmayan RNA'lar, diğer moleküller ile birlikte çeşitli fizyolojik süreçleri koordine edebilir ve işlev bozuklukları çeşitli patolojileri etkileyebilir. Kromozom yapısının düzenlenmesi, transkripsiyonel, post-transkripsiyonel (alternatif kırılma, mRNA stabilitesi/mevcudiyeti) ve post-translasyonel modifikasyonlar (protein fosforilasyonu/asetilasyonu/ubikitinasyonu) gibi genetik bilginin akışını kontrol edebilirler (21,114,115). LncRNA'lar, tüm bu seviyelerde gen ifadesini etkileyerek embriyonik gelişim, hücre büyümesi ve karsinogenez dahil olmak üzere çeşitli biyolojik yollarda ve hücresel süreçlerde önemli roller oynar (111,144). LncRNA'lar hem nükleus hem de sitoplazmada fonksiyon göstermektedir. Nükleus bölgesinde kromatin yeniden şekillenmesi, modifikasyonu ve “paraspeckle”/”speckle” düzenlenmesinde, transkripsiyonel modülasyonda veya RNA işlemede rol oynarken; sitoplazmada, olgun RNA'lar ve/veya proteinlerle etkileşime girerler (138,144). LncRNA'lar sitoplazmaya ulaştığında, belirli organellere yönlendirilmek veya çeşitli RBP'lerle ilişkilendirilmek için özel düzenleme süreçleri yaşarlar (117).

Birçok biyolojik aktivitede LncRNA'ların çok sayıda işlevi bulunmuştur, örneğin: (i) miRNA'lar için birincil transkriptler tarafından kopyalanarak daha kısa fonksiyonel RNA'lar için öncü olarak hizmet etmek; (ii) transkripsiyon, translasyon, imprinting, genom yeniden düzenlenmesi ve kromatin modifikasyonunu düzenlemek; (iii) protein aktivitelerini düzenlemek; (iv) polcomb represif kompleksi 2 (PRC2) gibi üst düzey kompleksler için iskeleler üretmek; (v) rakip endojen RNA'lar (ceRNA'lar) veya doğal miRNA süngerleri olarak çalışmak. miRNA bağlayıcı bölgeler içeren tüm RNA transkriptleri, özellikle paylaşılan miRNA'lar için rekabet ederek birbirleriyle iletişim kurabilir, birbirlerini düzenleyebilir ve böylece LncRNA'lar miRNA moleküler süngerleri olarak hareket ederek hedef gen mRNA ekspresyonunu etkileyebilir (124,145,146). Transkripsiyonel baskılanma ribonükleoprotein-K'ye (hn-RNP-K) bağlanarak gerçekleştirilir (136). Son zamanlarda miRNA'ların, LncRNA'ları kontrol ettiği ve tersine LncRNA'ların miRNA'ların ifadesini düzenleyebildiği, böylece birçok hücresel patofizyolojik süreçte önemli rolleri olan iki yönlü bir düzenleyici ağ oluşturduğu gösterilmiştir (118). LncRNA'lar, RNA kaynaklı susturma kompleksi oluşturarak miRNA

kaynaklı susturmayı engellemek için belirli bir hedef mRNA üzerindeki miRNA bağlanma bölgelerini maskeleyebilirler (147). miRNA kaynağı, miRNA'nın negatif düzenleyicisi ve miRNA'dan bağımsız mRNA degradasyonunun uyarıcısı olarak hizmet ederek mRNA işleme ve posttranskripsiyonel düzenlemede kritik bir rol oynamaktadır (148). Buna ek olarak, doğrusal veya dairesel lncRNA'lar, miRNA'ları hedef mRNA'larından ayırmak için miRNA tuzakları olarak işlev görebilir (149). lncRNA'lar farklı transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini uyaran veya inhibe eden ve DNA bağlanma bölgelerini taklit eden yapılara da katlanabilirler (150). Örneğin, GAS5 lncRNA'sı, glukokortikoid reseptörlerinin DNA bağlanma bölgesini taklit eden belirli bir şekle katlanarak glukokortikoid reseptör aracılı transkripsiyonu baskılar (151).



Şekil 2. 7: lncRNA'ların fonksiyonları

lncRNA: Uzun kodlama yapmayan RNA, miRNA: mikroRNA, mRNA: Haberci RNA.

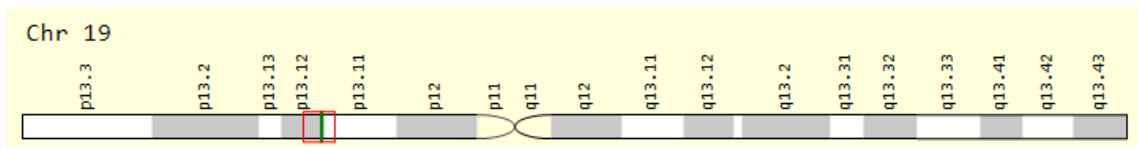
Protein kodlayan genlere benzer şekilde lncRNA genleri de promotör bölgelerinde histon 3, 27. lizin (H3K27) asetilasyonu, histon 3, 4. lizin (H3K4) trimetilasyonu ve histon 3, 9. lizin (H3K9) asetilasyonu gibi histon modifikasyonları ile zenginleştirilmiştir. Bununla birlikte birçok lncRNA geni transkripsiyon başlangıç bölgesinde H3K4 trimetilasyonu ve gen gövdesi boyunca histon 3, 36. lizin (H3K36) trimetilasyonu ile karakterize edilir. lncRNA'lar ayrıca kromatin durumunu ve ekspresyonlarını düzenlemek için PRC2 gibi kromatinle ilişkili komplekslerle ilişki kurarak kendi genlerinin ve/veya hedef genlerinin (örneğin DNA metiltransferaz) ekspresyonunu ve protein düzeylerini düzenleyebilirler (21,136,152). Nükleusta

lncRNA'lar, başta metilasyon ve asetilasyon olmak üzere histon veya DNA epigenetik modifikasyonlarını modüle ederek transkripsiyonel düzeyde gen transkripsiyonunu düzenlerler. lncRNA'lar tek başına histon metilasyonu/asetilasyonunu düzenleyebilir veya enzimlerle ya da metilasyon/asetilasyon kompleksleriyle etkileşime giren bir iskele görevi görerek histon metilasyonunu ve asetilasyonunu aynı anda düzenleyebilir (153).

lncRNA'ların rol oynadığı fizyolojik süreçlere seks-kromozom dozaj kompensasyonu, hücre farklılaşması, proliferasyon ve apoptoz örnek verilebilir (21,119,128,154). lncRNA'ların rolleri, vasküler gelişimden farklı kanser türleri, hipertansiyon, böbrek hasarı, ateroskleroz, diyabet ve diyabetle ilişkili komplikasyonlar da dahil olmak üzere bir dizi hastalığa kadar dahil edilmiştir (73). lncRNA'lar endotel genlerinin ifade düzeyini transkripsiyon ve/veya post-transkripsiyonel düzeyde doğrudan etkileyerek hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda endotel işlevinin bozulmasına yol açabilir (67). Endotelial genlerin post-transkripsiyonel düzenleyicisi olarak endotelial genlerin ekspresyonunu düzeylerini hem fizyolojik hem patolojik süreçlerde etkileyen birçok lncRNA mevcuttur (155,156).

2.5.4. Ürotelial Kanser İlişkili 1

Ürotelial kanser ilişkili 1 transkripti (UCA1, LINC00178), ilk kez insan mesane kanser hücre hattında (mesane transizyonel hücreli karsinomu) keşfedilmiştir (157). UCA1 19. kromozomun kısa kolunda (19p13.12) lokalizedir (158) (Şekil 2.7). UCA1 lncRNA'sı korunmuş uzun açık okuma çerçeveleri olmaksızın çok sayıda durdurma kodonlarına sahip üç ekzon ve iki intron içermektedir (144). UCA1'in alternatif kırılma ile üretilen 1,4 kb, 2,2 kb ve 2,7 kb olmak üzere 3 izoformu bulunmaktadır (157). 1,4 kb boyutundaki izoform UCA1 olarak gösterilirken; 2,2 kb boyutundaki izoform UCA1a veya "cancer upregulated drug resistant" (CUDR) olarak adlandırılır. 2,7 kb boyutundaki izoformun biyolojik rolü bilinmemektedir (144).

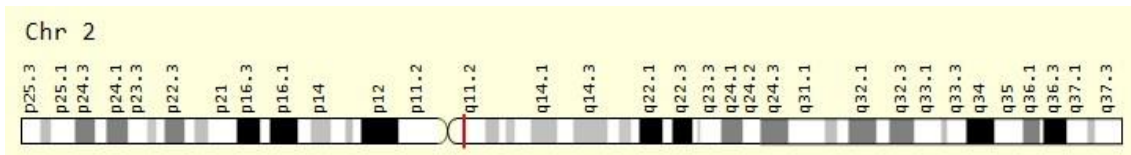


Şekil 2. 8: UCA1 geninin lokalizasyonu (158)

Uzun kodlamayan RNA UCA1, ceRNA olarak hareket ederek temel sinyal yollarını düzenler; böylece kanserlerin yanı sıra kanser dışı hastalıklarda hücre proliferasyonu, apoptoz, migrasyon, invazyon ve ilaç direnci gibi biyolojik aktiviteleri etkiler (159). UCA1 kardiyovasküler hastalıkta önemli bir etki göstermiştir ancak UCA1'in aterosklerozdaki biyolojik rolü belirsiz ve çelişkilidir. Ateroskleroz parametrelerinden biri olan ox-LDL'nin UCA1 ekspresyonunu artırdığı, UCA1 susturulduğunda ise oksidatif stresi azalttığı ve apoptozu artırdığı gözlenmiştir (160). Yapılan çalışmaların birçoğunda UCA1'in yüksek ekspresyonlarının kötü prognoz ve kısa sağkalım süresi ile ilişkili olarak onkojenik role sahip olduğu gösterilmiştir. Fakat birkaç çalışmada proliferasyonu ve migrasyonu azalttığı için anti-karsinojenik özelliğe sahip olduğu da rapor edilmiştir (157). Ayrıca UCA1'in upregulasyonunun endotel disfonksiyonunu baskıladığı ifade edilmiştir (146).

2.5.5. Aterosklerotik Plak Patogenezi İlişkili Transkript

Aterosklerotik plak patogenezi ilişkili transkript (APPAT, LINC02969), 4 ekzondan oluşan ve 2. kromozom üzerinde (2q11.2) lokalize olan 717 baz çiftinden oluşan intergenik uzun kodlama yapmayan bir RNA'dır (161–163) (Şekil 2.8). APPAT geni kodlanmayan bir gen olduğundan protein ürünü yoktur ve post-translasyonel modifikasyona da uğramamaktadır (163). Bir intergenik lncRNA olan APPAT, ilk olarak insan kanında tanımlanmıştır. Daha da önemlisi, aterosklerotik plakta ekspresyonu azalmıştır ve kan dolaşımında stabildir; bu nedenle, APPAT ekspresyon modelindeki bir değişiklik potansiyel olarak hastalığın ilerlemesini yansıtan bir biyobelirteç görevi görebilir (126).



Şekil 2. 9: APPAT geninin lokalizasyonu (163)

Yapılan yeni çalışmalarda APPAT'ın ateroskleroz gelişiminde potansiyel prediktif rolü olduğu gösterilmiştir. APPAT, VSMC'lerin bolca bulunduğu arter duvarının orta tabakasında (tunica media) dağılım göstermekte olup VSMC'lerin

sitoplazmasında lokalizedir (161,164). Bu lokalizasyon da biyolojik işlevinin miRNA için bir ceRNA olarak hareket ederek uygulanabileceğini düşündürmektedir (126). ceRNA'lar, aynı bağlanma bölgesini içeren miRNA'lar için rekabet ederek dolaylı olarak birbirleriyle ilişki kurar, böylece miRNA'ların kullanılabilirliğini düzenlerler (164).

Son yıllarda çok sayıda çalışma, lncRNA'ların kardiyovasküler hastalık patogenezindeki rolünü incelemektedir. Kardiyovasküler hastalıkların yüksek prevalansı ve mortalitesi ışığında, patogenezinde yer alan molekülleri ve bunların başlattığı sinyal yollarını anlamak zorunludur. Bu, daha kesin ve uygun tanı tekniklerinin geliştirilmesini, daha etkili prognostik moleküllerin tanımlanmasını ve potansiyel terapötik hedeflerin belirlenmesini kolaylaştırabilir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI

Çalışmamıza Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran, klinik ve laboratuvar değerlendirmeleri göz önüne alınarak bypass kararı verilmiş hastalar dahil edildi. Etik kurul onayı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı (Etik Kurul Onay no: 2021/36-2) (EK-1).

Örneklem seçiminde uygun sayının hesaplanmasında güç analizi yapılmıştır. %80 güç, 0,05 alfa ve 0,65 etki boyutu ile 30 hasta ve 30 kontrol örnek sayısı hesaplanmıştır. Güç analizi için G*Power (3.1.9.7) programı kullanılmıştır. Çalışmamızda EK-2'de verilmiş olan bilgilendirilmiş onam formunu dolduran kişilerden kan ve doku örnekleri olmak üzere iki tip biyolojik örnek toplanmıştır:

1. Doku örnekleri: Bypass kararı verilmiş olan hastalardan koroner arterden alınan aterosklerotik doku (n=30) ve ateroskleroz gelişimi en az olan ve bypass grefti olarak kullanılmış olan LIMA dokusuna ait örnekler (n=30) alındı. Alınan doku örnekleri içerisinde RNA koruyucu çözelti bulunan 1,5 ml'lik tüplere konuldu.
2. Kan Örnekleri: Doku örnekleri alınmış olan bypass hastalarından (n=30) alınan kan örnekleri ile hasta grubu, klinik muayeneleri sonucu herhangi bir kalp damar hastalığı ve başka bir hastalığı bulunmayan sağlıklı bireylerden (n=30) alınan kan örnekleri ile kontrol grubu oluşturuldu.

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden laboratuvar parametreleri hastane veri tabanından alındı. Bu parametreler glukoz, hemoglobin A1c (HbA1c), ürik asit, üre, kreatinin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL kolesterol, sodyum, potasyum, gama glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), kreatin kinaz (CK) ve hemoglobin verileriydi. Sonrasında alınan bu verilerle trigliserit/HDL, non-HDL/HDL ve trigliserit/glukoz oranları da hesaplandı.

3.2. PERİFERİK KAN ÖRNEKLERİNDEN TOTAL RNA İZOLASYONU

Periferik kan örneklerinden Quick-RNA™ Miniprep Plus Kit (ZymoResearch, Amerika) izolasyon kiti kullanılarak üretici firma protokolüne uygun olarak total RNA izole edildi.

3.2.1. Kit ile Kandan Total RNA İzolasyon Protokolü

- a. 200 µl kan örneği 1,5 ml'lik tüplere konularak üzerinde 200 µl 2X DNA/RNA Shield solüsyonu eklendi ve iyice vortekslenerek homojenize edildi.
- b. 400 µl olan bu karışım üzerine 8 µl Proteinaz K eklendi, vortekslendi ve oda sıcaklığında (20-30°C) 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- c. İnkübasyondan sonra örnekler vortekslendi ve 16 000 g'de 2 dk santrifüjlendi.
- d. Santrifüj sonrası süpernatant örnekleri yeni bir nükleaz içermeyen 1,5 ml'lik tüpe aktarıldı ve üzerine 1:1 oranında izopropanol eklendi.
- e. Karışım Zymo-Spin™ IIICG Column (yeşil)'na transfer edildi, 14 000 g'de 30 sn santrifüj edildi ve toplama tüpüne geçen alt kısım atıldı.
- f. Kolon üzerine 400 µl Wash Buffer eklendi, 14 000 g'de 30 sn santrifüj edildi ve toplama tüpüne geçen alt kısım atıldı.
- g. Yeni bir nükleaz içermeyen tüpte örnek başına 5 µl DNase I (1 U/µl) ve 75 µl DNA Digestion Buffer karışımı hazırlandı, iyice karıştırıldı.
- h. Kolon matriksinin tam merkezine 80 µl DNase I - DNA Digestion Buffer karışımı eklendi ve 15 dk oda sıcaklığında (20-30°C) inkübasyona bırakıldı.
- i. İnkübasyondan sonra 400 µl RNA Prep Buffer solüsyonu eklendi, 14 000 g'de 30 sn santrifüj edildi ve toplama tüpüne geçen alt kısım atıldı.
- j. Ardından 700 µl RNA Wash Buffer solüsyonu eklendi, 14 000 g'de 30 sn santrifüj edildi ve toplama tüpüne geçen alt kısım atıldı.
- k. Sonrasında tekrar 400 µl RNA Wash Buffer solüsyonu eklendi ve 14 000 g'de 1 dk santrifüj edildi.
- l. Santrifüj sonrası kolon yeni bir nükleaz içermeyen 1.5 ml'lik tüpe geçirildi, kolon matriksinin tam merkezine 50 µl DNaz/RNaz içermeyen su koyuldu ve 14 000 g'de 30 sn santrifüj edildi.

- m. Santrifüj sonrası alt kısma geçen sıvıda total RNA bulunmakta olup bir sonraki aşamaya kadar -80 °C’de muhafaza edildi.

3.3. DOKU ÖRNEKLERİNDEN TOTAL RNA İZOLASYONU

Aterosklerotik doku örneklerinden öncelikle 5 mg tartılarak Quick-RNA™ Microprep Kit (ZymoResearch, Amerika) kiti aracılığıyla, LIMA doku parçalarından ise 25 mg tartılarak Quick-RNA™ Miniprep Plus Kit (ZymoResearch, Amerika) kiti aracılığıyla üretici firma protokollerine uygun olarak total RNA izole edildi.

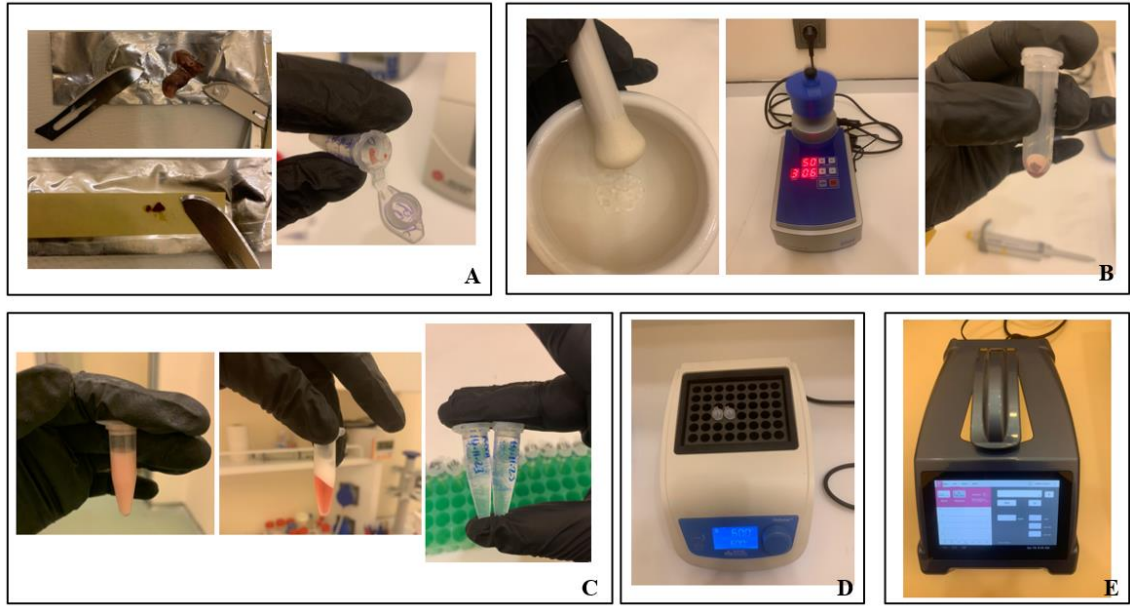
3.3.1. Kit ile Dokudan Total RNA İzolasyon Protokolü

- a. RNA koruyucu içerisinde -80°C’de muhafaza edilen doku örneklerinden ilk olarak RNA koruyucu sıvısı uzaklaştırıldı, ardından tüplere bead ve 600 µl RNA Lysis Buffer eklendi.
- b. TissueLyser cihazında 15-20 dk homojenize edildi.
- c. Homojenizasyon sonrası tüplere 600 µl absolut etanol eklendi ve vortekslendi.
- d. Bu karışım kit içeriğinden çıkan spin kolonlara (Zymo-Spin™ IC Column in a Collection Tube) transfer edildi ve oda sıcaklığında 14 000xg’de 30 sn santrifüj edildi.
- e. Santrifüj sonrası altta kalan kısım döküldü ve kolon üzerine 400 µl RNA Wash Buffer eklendi, oda sıcaklığında 14 000 g’de 30 sn santrifüj edildi.
- f. Ayrı bir nukleaz içermeyen tüpte örnek başına 5 µl DNase I (1 U/µl), 35 µl DNA Digestion Buffer konulup karıştırıldı ve bir önceki aşamadaki spin kolon üzerine 40 µl dağıtıldı ve oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona bırakıldı.
- g. İnkübasyondan sonra kolonlara 400 µl RNA Prep Buffer eklendi, oda sıcaklığında 14 000 g’de 30 sn santrifüj edildi ve alta geçen kısım atıldı.
- h. Ardından 700 µl RNA Wash Buffer eklendi, oda sıcaklığında 14 000 g’de 30 sn santrifüj edildi ve alta geçen kısım atıldı.
- i. Ardından 400 µl RNA Wash Buffer eklendi, oda sıcaklığında 14 000 g’de 1 dk santrifüj edildi ve alta geçen kısım atıldı.
- j. Kolon kısmı dikkatli bir şekilde yeni bir 1,5 ml’lik, steril tüpe alındı ve kolonun direkt merkezine 15 µl DNase/RNase-Free su eklendi.

5 mg'dan daha az olan örneklerden fenol-guanidin yöntemiyle manuel olarak total RNA izolasyon yapıldı.

3.3.2. Manuel Yöntemle Dokudan Total RNA İzolasyon Protokolü

- a. RNA koruyucu içerisinde -80°C'de muhafaza edilen doku örneklerinden ilk olarak RNA koruyucu sıvısı uzaklaştırıldı, ardından sıvı azot bulunan havanda kısmi parçalandı.
- b. Ardından bu doku parçaları steril tüpe konarak üzerine 100 µl Qiazol Reagent (Qiagen, Amerika) eklendi ve TissueLyser cihazında 10 dk homojenize edildi.
- c. Homojenizasyon sonrası 5-10 dk inkübasyona bırakıldı.
- d. İnkübasyonun ardından tüplere 20 µl kloroform eklendi, vortekslendi ve 10 dk inkübasyona bırakıldı.
- e. İnkübasyonun ardından 12 000 g'de 10 dk +4°C'de santrifüj edildi.
- f. Santrifüj sonrası üstteki aköz faz yeni steril tüpe alındı.
- g. 1:1 oranında izopropanol eklendi ve birkaç kez alt üst edildi. Ardından 10 dk inkübasyona bırakıldı.
- h. İnkübasyonun ardından 12 000 g'de 15 dk +4°C'de santrifüj edildi.
- i. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı ve pellet üzerine 100 µl %75'lik etanol eklenip vortekslendi.
- j. Ardından 7500 g'de 5 dk +4°C'de santrifüj edildi.
- k. Süpernatant atıldı, etanol uzaklaştırılması için 10-15 dk oda sıcaklığında kapak açık bekletildi.
- l. Ardından 15 µl distile suda çözdürüldü.



Şekil 3. 1: Total RNA izolasyon aşamaları

Total RNA'lar hem kan örnekleri hem de doku örneklerinden yukarıda verilen protokollere göre izole edildikten sonra Nanofotometre (Denovix , Amerika) cihazında saflık ve konsantrasyonları belirlendi ve çalışma gününe kadar -80°C 'de muhafaza edildi. Özetle total RNA izolasyonlarının aşamaları şekil 3.1'de verilmiştir.

3.4. KOMPLEMENTER DNA SENTEZİ

Tüm total RNA örnekleri izole edildikten sonra öncelikle aynı konsantrasyonda eşitlemek adına sulandırıldı. Daha sonrasında tablo 3.1'de verildiği şekilde reaktifler ile reaksiyon karışımı hazırlandı. Hazırlanan karışımdan her örnek başına 200 ng RNA örneği içerecek şekilde hesaplanarak ve RNA ile nükleaz içermeyen su totalde 15 μl olacak şekilde tüplere dağıtıldı.

Tablo 3. 1: cDNA sentezi bileşenleri

Karışım Bileşenleri	Miktar (μl)
5X TransAmp Buffer	4 μl
Revers Transkriptaz	1 μl
Nükleaz İçermeyen Su	15 μl
RNA	
Toplam	20 μl

0,2 ml'lik ependorf tüplerinde hazırlanan örnekler Thermal Cycler (BioRad C1000) cihazına konularak tablo 3.2'de verilen koşullara göre cDNA elde edildi.

Tablo 3. 2: cDNA sentezi koşulları

Sıcaklık	Süre
25 °C	10 dakika
42 °C	15 dakika
48 °C	15 dakika
85 °C	5 dakika
4 °C	∞

3.5. UZUN KODLAMA YAPMAYAN RNA'LARIN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Komplementer DNA sentezinin ardından spesifik primerler varlığında ve uygun Tm sıcaklığında UCA1 ve APPAT lncRNA'larının ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) yöntemiyle belirlendi. Tablo 3.3'te PCR'da kullanılan primer dizileri ve bağlanma sıcaklığı değerleri verilmiştir.

Tablo 3. 3: Primer dizileri ve bağlanma sıcaklığı değerleri

Gen Adı	Primer Dizisi	Bağlanma Sıcaklığı Değeri
<i>GAPDH_F</i>	5'-GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG-3'	60 °C
<i>GAPDH_R</i>	5'-ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA-3'	
<i>UCA1_F</i>	5'-CTCTCCATTGGGTTCACCATTTC-3'	57,4 °C
<i>UCA1_R</i>	5'-GCGGCAGGTCTTAAGAGATGAG-3'	
<i>APPAT_F</i>	5'-GCAGAGGCAGGTCACCAAC-3'	60 °C
<i>APPAT_R</i>	5'-CAGGATGATTCGAGACCAGGA-3'	

Gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için tablo 3.4'te verilmiş olan miktarlara göre mikropiplakalarda PCR karışımı toplam hacim 20 µl olacak şekilde buz üzerinde her gen için ayrı ayrı hazırlandı. Sonrasında Real-Time PCR cihazında (BioRad CFX 96 Touch) tablo 3.5'te verilmiş olan protokole göre Ct değerleri belirlendi.

Tablo 3. 4: Real-Time PCR bileşenleri

Bileşen	Miktar
2X SensiFast SYBR No-ROX Mix	10 µl
İleri Primer (10 µM)	0,8 µl
Geri Primer (10 µM)	0,8 µl
Nükleaz-içermeyen Su	3,4 µl
cDNA	5 µl
Toplam	20 µl

Tablo 3. 5: Real-Time PCR koşulları

PCR Aşaması	Sıcaklık	Süre	Siklus Sayısı
Polimeraz aktivasyonu	95 °C	2 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	5 saniye	40
Bağlanma	Değişken	10 saniye	
Uzama	72 °C	20 saniye	
	4 °C	∞	

“Housekeeping” gen olarak *GAPDH* geni kullanıldı. İki lncRNA’nın ekspresyon düzeylerindeki rölatif değişiklikler, ΔC_t (döngü eşik değeri farkı, “cycling threshold”) formülüne göre housekeeping gen *GAPDH* ile normalizasyonu yapıldı. Kat değişimleri $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ değerine göre gerçekleştirildi.

$$\Delta C_t: [(C_{t_{lncRNA}} - C_{t_{housekeeping}})]$$

$$\Delta\Delta C_t: [(C_{t_{lezyonludoku}} - C_{t_{housekeeping}}) - (C_{t_{sağlıklıdoku}} - C_{t_{housekeeping}})]$$

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen bulgu ve verilerin istatistiksel analizi SPSS 23.0 programı ile yapıldı. İkili bağımsız değişkenlerin non-parametrik dağılım gösterenlerinde Mann-Whitney U, parametrik gösterenlerde ise student T testi, bağımlı değişkenlerin arasındaki korelasyon için ise Spearman’s ve Pearson korelasyon analizi yapıldı. P değeri 0,05’in altında olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.7. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR

3.7.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Etil Alkol (Isolab, Katalog No: 920.026, Türkiye)
- Dokudan Total RNA İzolasyon Kiti (Zymo Research Quick-RNA Microprep Kit, Katalog No: R1050, Amerika)
- Kandan Total RNA İzolasyon Kiti (Zymo Research Quick-RNA Miniprep Plus Kit, Katalog No: R1057, Amerika)

- Lizis Solüsyonu (Qiagen Qiazol, Katalog No: 79306, Amerika)
- cDNA Sentez Kiti (Bioline SensiFAST™ cDNA Synthesis Kit, Katalog No: BIO-65053, Amerika)
- APPAT, UCA1 ve GAPDH Genleri İçin Primer Çiftleri
- SYBR Green Master Mix Real-Time PCR Kiti (Bioline SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit, Katalog No: BIO-98005)

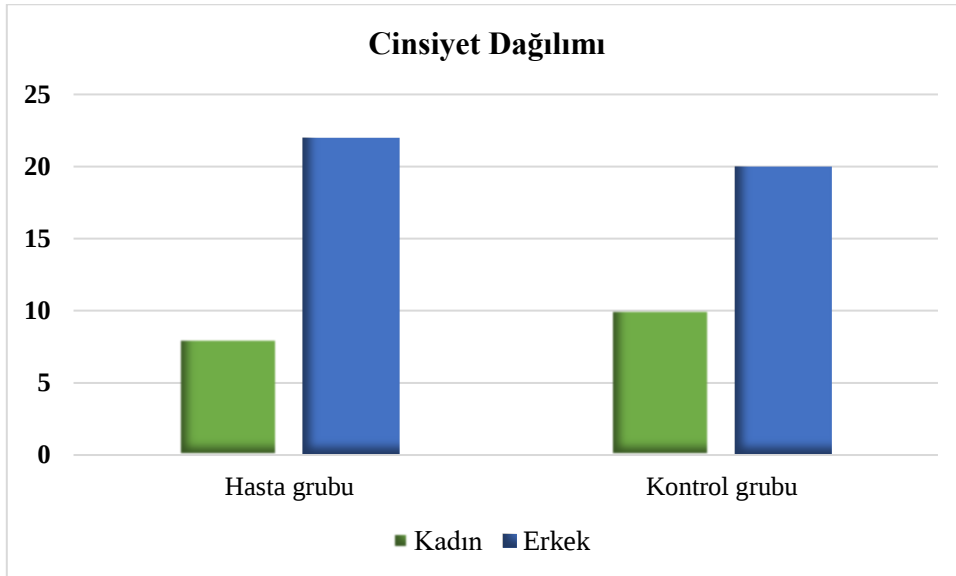
3.7.2. Kullanılan Cihazlar

- +4 °C Buzdolabı (KW K-Lab, İtalya)
- -20 °C Buzdolabı (Phcbi, Japonya)
- -80 °C Derin Dondurucu (Phcbi, Japonya)
- Etüv (ThermoScientific, Amerika)
- Otoklav (Daihan Scientific, Güney Kore)
- Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter Allegra X30R, Amerika)
- Vorteks (Daihan Scientific, Güney Kore)
- Kuru Isıtıcı Blok (Daihan Scientific, Güney Kore)
- Mikrosantrifüj (Beckman Coulter Microfuge16, Amerika)
- Mini Santrifüj (ThermoScientific MySpin 12, Amerika)
- Otomatik Mikropipet (Eppendorf Research Plus, Almanya)
- Thermal Cycler Cihazı (Biorad C1000, Amerika)
- Real-Time PCR Cihazı (Biorad CFX 96 Touch, Amerika)
- Nanofotometre Cihazı (DeNovix DS-11, Amerika)

4. BULGULAR

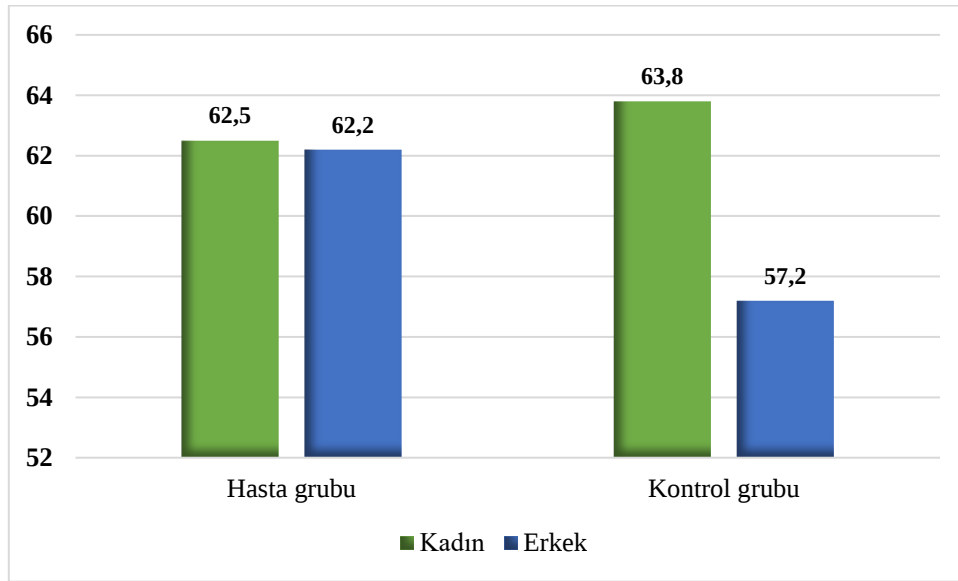
4.1. KATILIMCILARIN DEMOGRAFİK VERİLERİ

Çalışmaya dahil edilmiş olan bypass ameliyatına giren 30 hastadan doku örnekleri olarak hem aterosklerotik koroner doku örnekleri hem de ateroskleroz gelişmemiş ve greft olarak kullanılacak olan LIMA doku örnekleri alındı. Doku örnekleri toplanmış olan bu hastalardan periferik kan örnekleri de toplandı. Ayrıca kontrol grubunu oluşturan bireylerden de (n=30) periferik kan örnekleri toplandı. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin hastane sisteminden glukoz, HbA1c, ürik asit, üre, kreatinin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL kolesterol, sodyum, potasyum, GGT, LDH, CK ve hemoglobin verileri alındı. Alınan bu verilerden de trigliserit/HDL, non-HDL/HDL ve trigliserit/glukoz oranları hesaplandı. Doku örnekleri ve kan örnekleri toplanmış olan hastaların 8'i kadın (%26,67), 22'si erkekti (%73,33). Sadece kan örnekleri alınmış olan sağlıklı bireylerin ise 10'u kadın (%33,33), 20'si erkekti (%66,67) (p=0,573) (Şekil 4.1).



Şekil 4. 1: Grupları oluşturan bireylerin cinsiyet dağılımı

Hasta grubunu oluşturan bireylerin yaş ortalaması $62,3 \pm 9,42$ iken, kontrol grubunu oluşturan bireylerin yaş ortalaması $59,40 \pm 6,01$ idi ($p=0,118$) (Şekil 4.2). Böylece gruplarımızı oluşturan bireyler yaş ve cinsiyet açısından dengeliydi. Katılımcıların hastane sisteminden alınmış olan laboratuvar bulguları ile yaş arasındaki korelasyon incelendiğinde yalnızca üre ($p<0,01$) ve kreatinin ($p<0,05$) düzeyleri ile pozitif olarak korele bulundu. Diğer veriler ile yaş arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmedi.



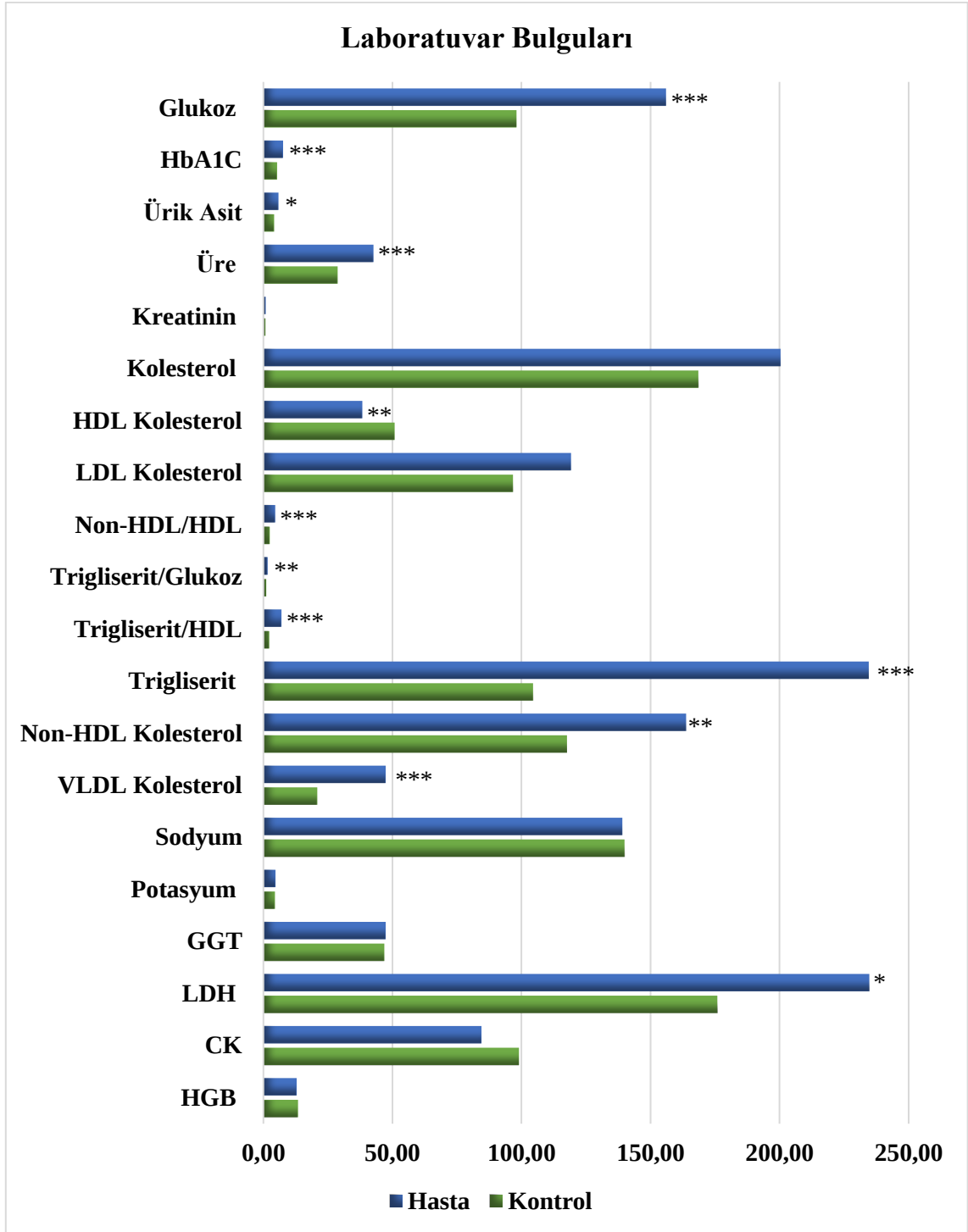
Şekil 4. 2: Hasta ve kontrol gruplarının yaş-cinsiyet grafiği

Hasta grubunu oluşturan bireylerin 8'i (%26,67) akut Mİ geçirmekteydi. Mİ geçirme durumunun olup olmamasına göre yapılan istatistiksel analizlerde yaş, cinsiyet, DM ve bypass yapılan damar sayısı arasında bir anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$). HDL kolesterol düzeyleri Mİ geçirenlerde ($29,40 \pm 4,98$ mg/dL), geçirmeyenlere ($41,00 \pm 10,36$ mg/dL) göre daha düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,0184$). Non-HDL/HDL oranı Mİ geçirenlerde ($6,31 \pm 3,23$), Mİ geçirmeyenlerde ($3,09 \pm 1,62$) daha düşük olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,005$). GGT düzeyleri ise Mİ geçirenlerde ($91,00 \pm 38,00$ U/L), geçirmeyenlerde ($21,20 \pm 16,99$ U/L) daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,0253$). Periferik kan örneklerinde lncRNA APPAT ve UCA1 ekspresyon düzeyleri hastaların Mİ geçirme durumuyla istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Hasta grubunu oluşturan bireylerin 16'sında (%53,3) DM mevcuttu. Bireylerin DM'sinin olup olmamasına göre yapılan istatistiksel analizlerde yaş, cinsiyet, Mİ ve bypass yapılan damar sayısı arasında bir anlamlılık bulunmadı ($p>0,05$). Beklendiği üzere DM varlığı/yokluğu glukoz ve HbA1c düzeyleri ileri derece anlamlı idi (sırasıyla $p=0,0001$ ve $p=0,0002$). Bununla beraber DM'li olan olgularda ($34,42\pm11,20$ mg/dL), olmayanlara göre ($43,10\pm7,78$ mg/dL) HDL kolesterol düzeyleri anlamlı derecede daha düşüktü ($p=0,0158$). DM'li olan olgularda non-HDL/HDL oranı ($5,21\pm2,74$), olmayanlara göre ($2,86\pm1,40$) anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,003$). Ayrıca trigliserit/HDL oranı DM'li olan olgularda ($9,27\pm7,99$), olmayanlara göre ($4,21\pm1,64$) anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,0349$). Ancak DM varlığı/yokluğu ile trigliserit/glukoz oranı arasında bir anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,379$).

4.2. KATILIMCILARIN LABORATUVAR BULGULARI

Hasta ve kontrol grupları arasında glukoz, HbA1c, ürik asit, üre, kreatinin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL, sodyum, potasyum, GGT, LDH, CK ve hemoglobin verileri ile eldeki verilerden hesaplanan trigliserit/HDL, trigliserit/glukoz ve non-HDL/HDL kolesterol oranları laboratuvar parametreleri olarak Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Bu parametrelerden glukoz, HbA1c, ürik asit, üre, kreatinin, HDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL kolesterol, trigliserit/HDL oranı, trigliserit/glukoz, non-HDL/HDL ve LDH verileri iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmuştur. Hasta grubunda kontrol grubuna göre glukoz, HbA1c, ürik asit, üre, kreatinin, GGT, total kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL kolesterol, potasyum, LDH düzeyleri, trigliserit/HDL, trigliserit/glukoz ve non-HDL/HDL daha yüksek; HDL kolesterol, sodyum, CK ve hemoglobin düzeyleri ise daha düşüktü (Şekil 4.3 ve tablo 4.1).



Şekil 4. 3: Grupları oluşturan bireylerin laboratuvar bulguları

HbA1c: Hemoglobin A1c, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, GGT: Gama glutamil transferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, CK: Kreatin kinaz.

Tablo 4. 1: Hasta ve kontrol gruplarında laboratuvar parametreleri

Parametre	Hasta	Kontrol	<i>p</i> değeri
Glukoz (mg/dL)	155,97±70,18	98,10±21,00	0,0002
HbA1c (%)	7,67±2,27	5,35±0,45	0,000
Ürik asit (mg/dL)	5,81±1,62	4,11±0,93	0,0137
Üre (mg/dL)	42,68±16,38	28,79±8,08	0,0001
Kreatinin (mg/dL)	0,90±0,24	0,79±0,16	0,0907
Kolesterol (mg/dL)	200,41±60,78	168,47±31,58	0,0738
HDL kolesterol (mg/dL)	38,36±10,54	50,80±14,00	0,0011
LDL kolesterol (mg/dL)	119,23±49,58	96,72±29,50	0,1304
Trigliserit (mg/dL)	234,55±174,07	104,43±49,34	0,000
Non-HDL kolesterol (mg/dL)	163,81±63,02	117,67±32,11	0,0046
Non-HDL/HDL	4,61±2,40	2,52±1,07	0,000
VLDL kolesterol (mg/dL)	47,43±35,63	20,89±9,87	0,000
Trigliserit/HDL	6,97±6,42	2,31±1,55	0,000
Trigliserit/Glukoz	1,62±0,77	1,08±0,54	0,003
Sodyum (mmol/L)	139,03±2,35	139,96±2,62	0,1830
Potasyum (mmol/L)	4,64±0,91	4,47±0,38	0,5068
GGT (U/L)	47,38±43,39	46,86±78,94	0,2825
LDH (U/L)	234,79±68,20	175,91±34,13	0,0117
CK (U/L)	84,50±56,98	99,00±55,08	0,5121
Hemoglobin (g/L)	12,91±1,89	13,41±1,94	0,3450

HbA1c: Hemoglobin A1c, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, GGT: Gama glutamil transferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, CK: Kreatin kinaz.

Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet bazlı karşılaştırma yapıldığında kadın cinsiyette glukoz, HbA1c, üre, HDL kolesterol, trigliserit, VLDL, trigliserit/HDL oranı ve non-HDL/HDL oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.2). Erkek cinsiyette ise glukoz, HbA1c, üre, ürik asit, kreatinin, HDL kolesterol, trigliserit, non-HDL, VLDL,

trigliserit/HDL, trigliserit/glukoz ve non-HDL/HDL'nin yanı sıra UCA1 ve APPAT ekspresyon düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2: Cinsiyete göre parametrelerin değişimi

Kadın			
Parametre	Hasta	Kontrol	p değeri
Glukoz (mg/dL)	162,63 ± 56,10	98,60 ± 20,21	0,0025
HbA1c (%)	7,56 ± 1,76	5,24 ± 0,46	0,0011
Ürik Asit (mg/dL)	5,71 ± 2,02	4,85 ± 0,49	0,6434
Üre (mg/dL)	40,47 ± 11,96	26,22 ± 10,57	0,0390
Kreatinin (mg/dL)	0,72 ± 0,14	10,45 ± 31,11	0,1532
Total Kolesterol (mg/dL)	182,50 ± 29,92	166,60 ± 36,49	0,6642
HDL Kolesterol (mg/dL)	40,83 ± 6,68	60,20 ± 15,16	0,0077
LDL Kolesterol (mg/dL)	99,83 ± 17,57	86,20 ± 32,16	0,3841
Trigliserit (mg/dL)	209,00 ± 75,48	101,00 ± 49,92	0,0048
Non-HDL (mg/dL)	141,67 ± 30,72	106,40 ± 36,04	0,0922
Non-HDL/HDL	3,57 ± 1,04	1,89 ± 0,83	0,007
VLDL Kolesterol (mg/dL)	41,83 ± 15,28	20,20 ± 9,98	0,0048
Trigliserit/HDL	5,30 ± 2,29	1,84 ± 1,17	0,0034
Trigliserit/Glukoz	1,33 ± 0,46	1,00 ± 0,26	0,092
Sodyum (mmol/L)	140 ± 2,71	139,89 ± 1,83	0,9573
Potasyum (mmol/L)	5,13 ± 1,73	4,52 ± 0,25	0,7911
GGT (U/L)	66,00 ± 57,61	18,33 ± 14,65	0,0381
LDH (U/L)	224,00 ± 38,00	176,20 ± 11,95	0,0512
CK (U/L)	34,67 ± 16,01	56,00	0,1797
Hemoglobin (g/L)	12,04 ± 1,26	12,69 ± 1,54	0,3846
Erkek			
Parametre	Hasta	Kontrol	p değeri
Glukoz (mg/dL)	153,55 ± 75,70	97,85 ± 17,21	0,0156
HbA1c (%)	7,73 ± 2,55	5,41 ± 0,45	0,0008
Ürik Asit (mg/dL)	5,86 ± 1,56	3,94 ± 0,94	0,0178
Üre (mg/dL)	43,39 ± 17,74	30,00 ± 6,59	0,0026
Kreatinin (mg/dL)	0,97 ± 0,23	0,83 ± 0,12	0,0211
Total Kolesterol (mg/dL)	207,13 ± 68,53	169,40 ± 29,81	0,0772
HDL Kolesterol (mg/dL)	37,44 ± 11,72	46,10 ± 10,98	0,0314

Tablo 4. 2 (devam)

LDL Kolesterol (mg/dL)	126,50 ± 55,96	102,26 ± 27,26	0,2022
Trigliserit (mg/dL)	244,13 ± 200,41	106,15 ± 50,26	0,0005
Non-HDL	172,67 ± 71,01	123,30 ± 29,30	0,0302
Non-HDL/HDL	5,00 ± 2,67	2,84 ± 1,06	0,004
VLDL	49,67 ± 41,37	21,23 ± 10,05	0,0006
Trigliserit/HDL	7,60 ± 7,38	2,54 ± 1,69	0,0004
Trigliserit/Glukoz	1,73 ± 0,84	1,13 ± 0,63	0,014
Sodyum (mmol/L)	138,73 ± 2,21	140,00 ± 2,99	0,1701
Potasyum (mmol/L)	4,48 ± 0,36	4,45 ± 0,43	0,4982
GGT (U/L)	36,20 ± 34,91	58,27 ± 91,31	0,8956
LDH (U/L)	237,73 ± 75,58	175,67 ± 47,07	0,0559
CK (U/L)	101,11 ± 56,20	107,60 ± 54,48	0,8415
Hemoglobin (g/L)	13,12 ± 1,98	13,73 ± 2,05	0,2847

HbA1c: Hemoglobin A1c, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, GGT: Gama glutamil transferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, CK: Kreatin kinaz.

Korelasyon analizlerine bakıldığında glukoz ile HbA1c, trigliserit, VLDL, trigliserit/HDL ve non-HDL/HDL oranı arasında pozitif korelasyon görülürken; HDL kolesterol arasında negatif korelasyon olduğu bulundu. HbA1c ile trigliserit, VLDL, trigliserit/HDL, non-HDL/HDL, LDH ve hemoglobin değerleri arasında pozitif korelasyon gözlenirken; sodyum değerleri arasında negatif korelasyon gözlemlendi. Ürik asit ile kreatinin arasında pozitif korelasyon görülürken, LDH ile negatif korelasyon olduğu bulundu. Üre ile yalnızca kreatinin arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Kolesterol düzeyleri ile ise LDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL, trigliserit/HDL oranı, trigliserit/glukoz oranı, non-HDL/HDL oranı ve hemoglobin düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. HDL kolesterol düzeyleri ile de trigliserit/HDL ve non-HDL/HDL oranı arasında negatif korelasyon mevcuttu. LDL kolesterol ile non-HDL kolesterol, trigliserit/glukoz, non-HDL/HDL oranı ve hemoglobin düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu. Trigliserit düzeyleri ile non-HDL kolesterol, VLDL, trigliserit/HDL, trigliserit/glukoz ve non-HDL/HDL oranı arasında pozitif korelasyon olduğu, sodyum düzeyleri arasında negatif korelasyon olduğu görüldü. Trigliserit/glukoz oranı ile non-HDL kolesterol, VLDL, trigliserit/HDL ve non-HDL/HDL oranı arasında

pozitif korelasyon mevcuttu. Non-HDL kolesterol ile VLDL, trigliserit/HDL oranı, non-HDL/HDL oranı ve hemoglobin düzeyleri arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. VLDL düzeyleri ile trigliserit/HDL oranı ve hemoglobin düzeyleri arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Trigliserit/HDL oranı ile hemoglobin arasında pozitif korelasyon, sodyum arasında da negatif korelasyon olduğu bulundu. Korelasyon analizlerinin sonuçları tablo 4.3'te korelasyon katsayıları ve anlamlılık değerleri ile özetlenmiştir.

Tablo 4. 3: Korelasyon analizi sonuçları

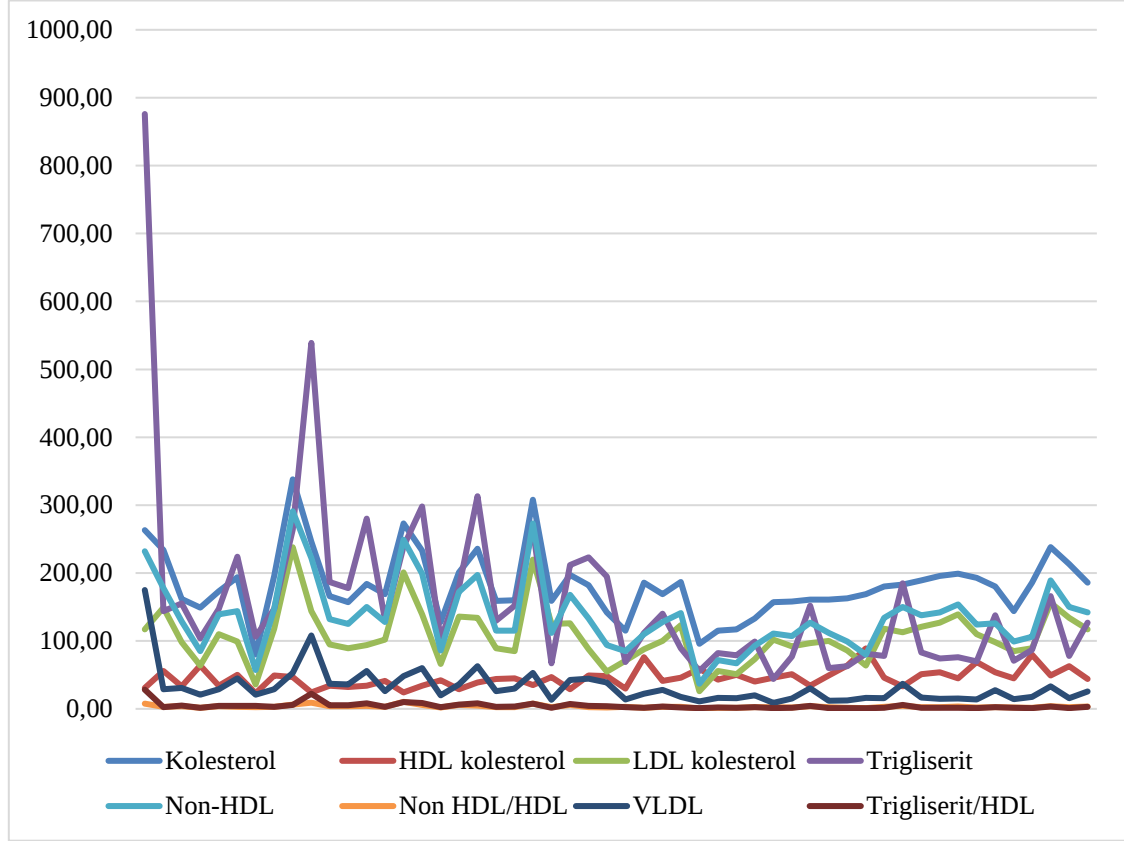
Parametre	Parametre	r	p değeri
Glukoz	HbA1c	0,921	0,000
	Trigliserit	0,581	0,0046
	VLDL kolesterol	0,581	0,0057
	Trigliserit/HDL	0,645	0,0012
	Non-HDL/HDL	0,451	0,035
	HDL kolesterol	-0,546	0,0086
HbA1c	Trigliserit	0,678	0,001
	VLDL kolesterol	0,679	0,0014
	Trigliserit/HDL	0,736	0,0002
	Non-HDL/HDL	0,590	0,006
	LDH	0,678	0,0449
Ürik Asit	Kreatinin	0,560	0,0374
	LDH	-0,670	0,02
Üre	Kreatinin	0,703	0,000
Total kolesterol	LDL kolesterol	0,947	0,000
	Trigliserit	0,520	0,0132
	Non-HDL kolesterol	0,986	0,000
	VLDL kolesterol	0,519	0,0159
	Trigliserit/HDL	0,449	0,0359
	Trigliserit/Glukoz	0,760	0,000
	Non-HDL/HDL	0,758	0,000
HDL kolesterol	Trigliserit/HDL	-0,509	0,02
	Non-HDL/HDL	-0,607	0,003
LDL kolesterol	Trigliserit/Glukoz	0,613	0,002
	Non-HDL kolesterol	0,942	0,000
	Non-HDL/HDL	0,741	0,000

Tablo 4. 3 (devam)

Trigliserit	Non-HDL kolesterol	0,565	0,0076
	VLDL kolesterol	1,000	0,000
	Trigliserit/Glukoz	0,649	0,001
	Trigliserit/HDL	0,967	0,000
	Non-HDL/HDL	0,626	0,002
Trigliserit/Glukoz	Non-HDL kolesterol	0,741	0,000
	VLDL kolesterol	0,648	0,001
	Trigliserit/HDL	0,551	0,008
	Non-HDL/HDL	0,512	0,015
Non-HDL kolesterol	VLDL kolesterol	0,568	0,0072
	Trigliserit/HDL	0,525	0,0144
	Non-HDL/HDL	0,846	0,000
Non-HDL/HDL	VLDL kolesterol	0,626	0,002
	Trigliserit/HDL	0,706	0,000
VLDL kolesterol	Trigliserit/HDL	0,967	0,000

HbA1c: Hemoglobin A1c, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein, GGT: Gama glutamil transferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz.

Şekil 4.4'te de hasta ve kontrol gruplarında lipit parametrelerinin birbirleriyle olan korelasyonları şematize edilmiştir.



Şekil 4. 4: Lipit parametreleri değerleri

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

4.3. EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

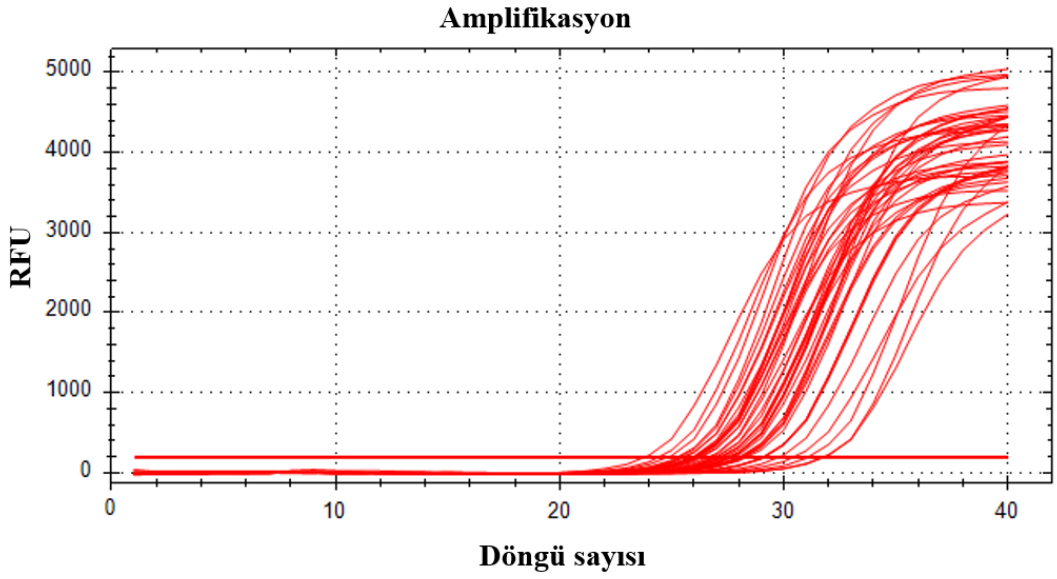
Hasta grubundan alınan koroner ile LIMA dokuları ve hasta/kontrol gruplarından toplanan periferik kan örnekleri arasındaki APPAT ve UCA1 lncRNA'larının ekspresyon düzeyleri RT-qPCR yöntemiyle belirlendi. Her bir lncRNA için ekspresyon düzeyleri ΔCt , kat değişimleri ise $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüyle hesaplandı. “Housekeeping” gen olarak *GAPDH* geni kullanıldı.

$$\Delta Ct: [(Ct_{lncRNA} - Ct_{GAPDH})]$$

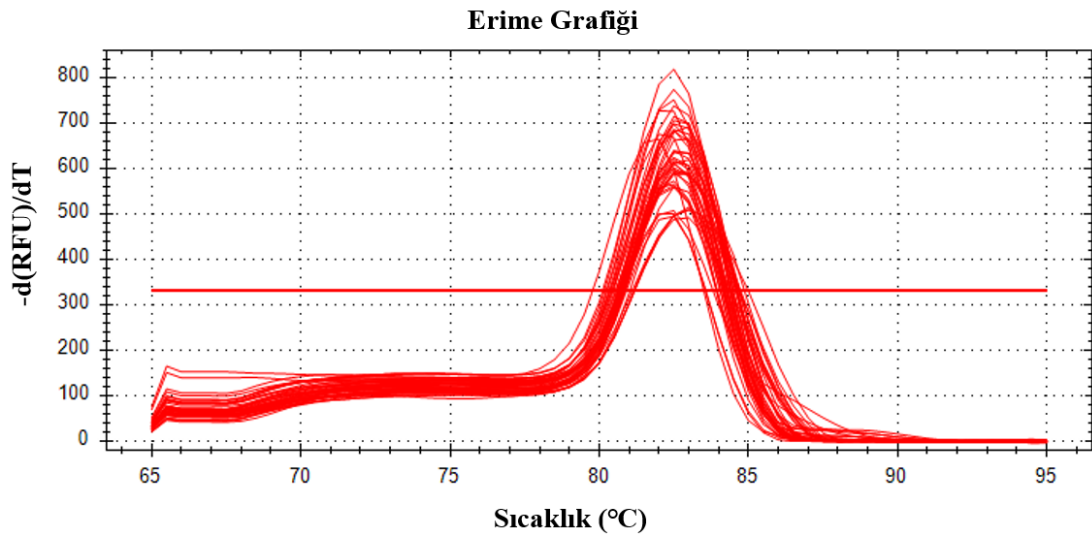
$$\Delta\Delta Ct: [(Ct_{hasta} - Ct_{GAPDH}) - (Ct_{kontrol} - Ct_{GAPDH})]$$

4.3.1. Doku Örneklerinde Ekspresyon Düzeyleri

Hasta gruplarından alınmış olan koroner ve LIMA doku örneklerinde lncRNA APPAT'ın ekspresyon düzeyleri incelendiğinde koroner doku örneklerinde, LIMA dokularına göre APPAT'ın daha çok downregüle olduğu fakat bu azalmış ekspresyonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p= 0,0919$). APPAT'ın amplifikasyon ve erime eğrisi şekilleri şekil 4.5 ve şekil 4.6'da verildiği gibidir.

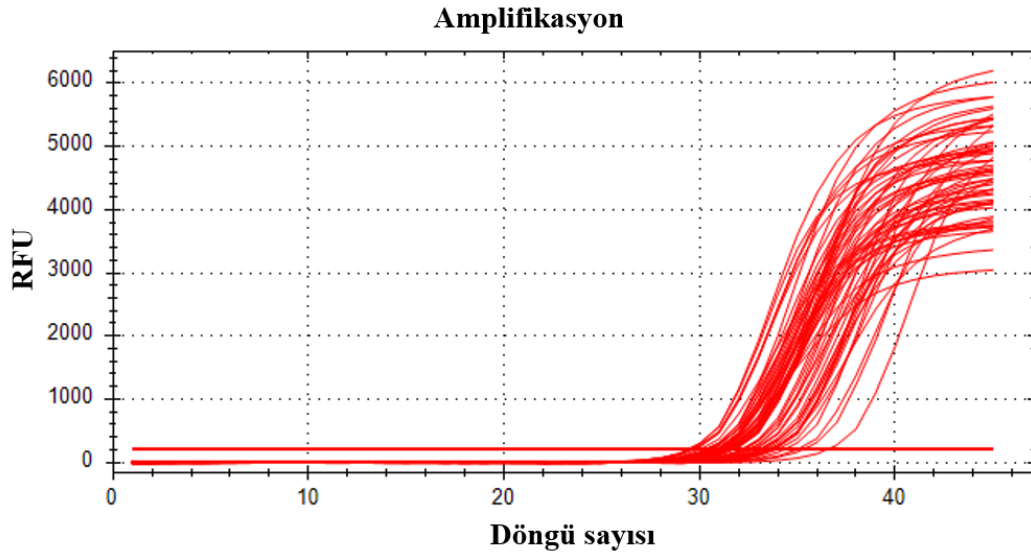


Şekil 4. 5: lncRNA APPAT'ın amplifikasyon eğrisi

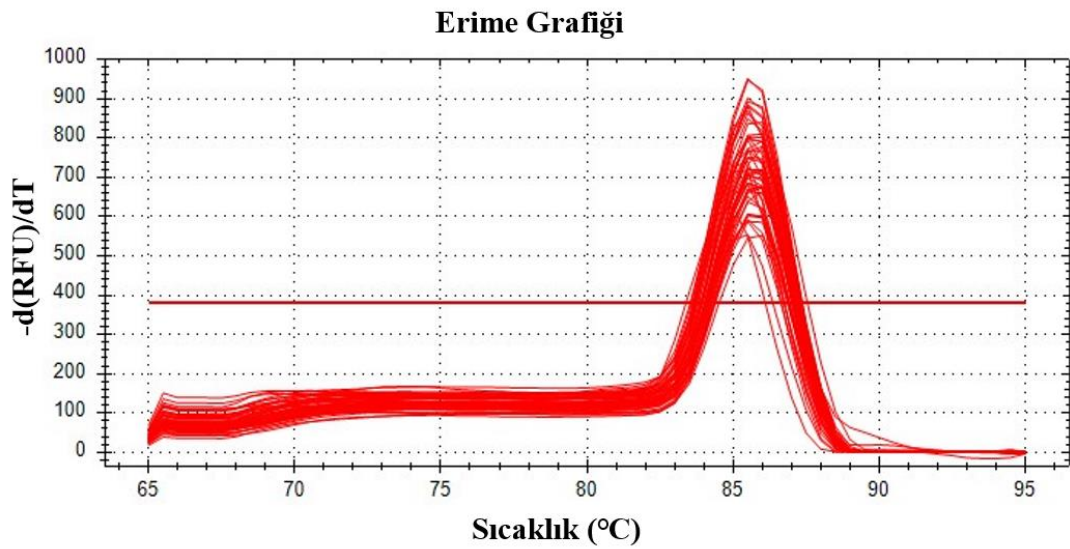


Şekil 4. 6: lncRNA APPAT'ın erime grafiği

Hasta gruplarından alınmış olan koroner ve LIMA doku örneklerinde lncRNA UCA1'in ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise koroner doku örneklerinde LIMA dokularına göre UCA1'in daha çok downregüle olduğu fakat bu azalmış ekspresyonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p= 0,3871$). UCA1'in amplifikasyon ve erime eğrisi şekilleri şekil 4.7 ve şekil 4.8'de verildiği gibidir.



Şekil 4. 7: lncRNA UCA1'in amplifikasyon grafiği



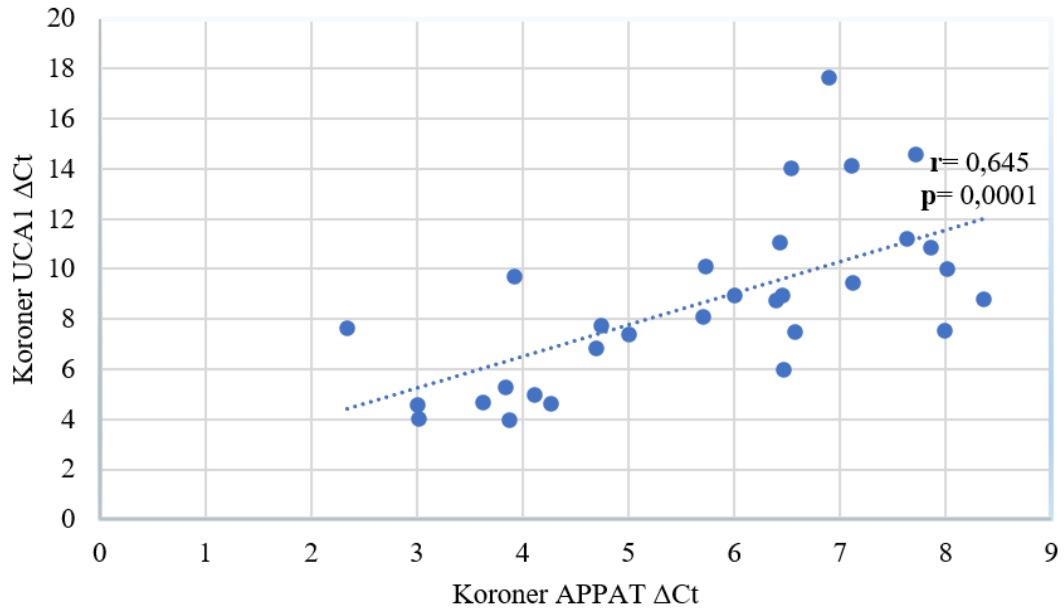
Şekil 4. 8: lncRNA UCA1'in erime eğrisi grafiği

Koroner doku örneklerinde lncRNA APPAT ekspresyon düzeyleri LIMA'ya kıyasla 1,66 kat, UCA1 ekspresyon düzeyleri ise 2,01 kat daha downregüle idi. Koroner ve LIMA dokuları arasında lncRNA APPAT ve UCA1 ekspresyonlarındaki kat değişimleri tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4. 4: Koroner ve LIMA dokuları arasındaki kat değişimleri

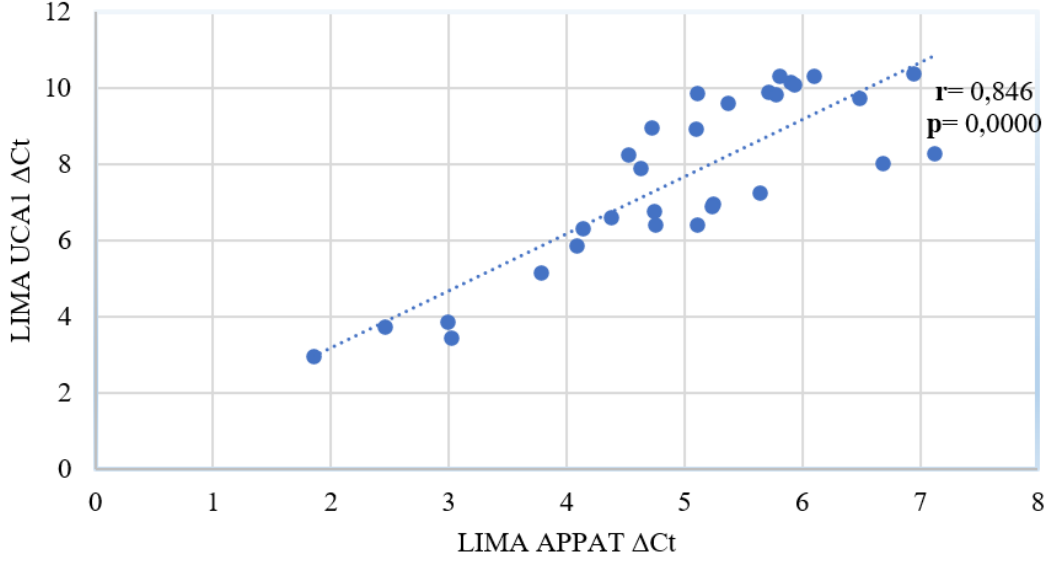
lncRNA	Koroner (n=30)	LIMA (n=30)	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	p
UCA1	8,65±3,38	7,65±2,25	-1,007	2,01 kat	0,3871
APPAT	5,71±1,73	4,98±1,27	-0,735	1,66 kat	0,0919

Korelasyon analizleri ekspresyon düzeyleri ve diğer parametler arasında da yapıldı. Koroner doku örneklerinde lncRNA APPAT ve UCA1 ekspresyon düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardı ($p<0,01$) (Şekil 4.9). lncRNA UCA1 ekspresyon düzeyleri üre ve kreatinin ile de negatif olarak korele idi.



Şekil 4. 9: Koroner doku örneklerinde APPAT ve UCA1 ΔCt korelasyon grafiği

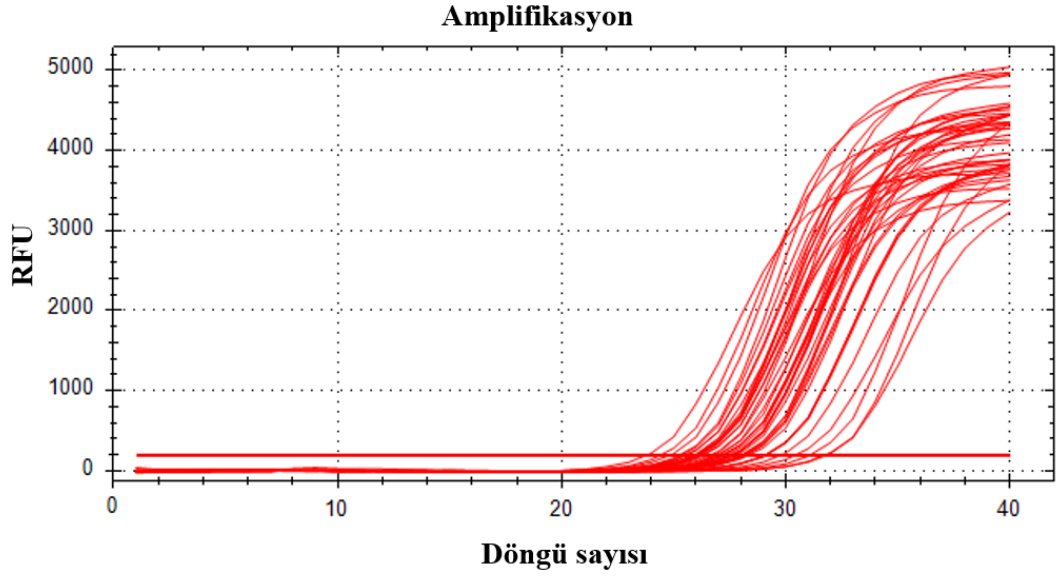
Greft olarak kullanılan LIMA doku örneklerinde de lncRNA APPAT ve UCA1 ekspresyon düzeyleri pozitif korele idi ($p<0,01$) (Şekil 4.10). lncRNA UCA1 ekspresyon düzeyleri LDL kolesterol düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($p<0,05$).



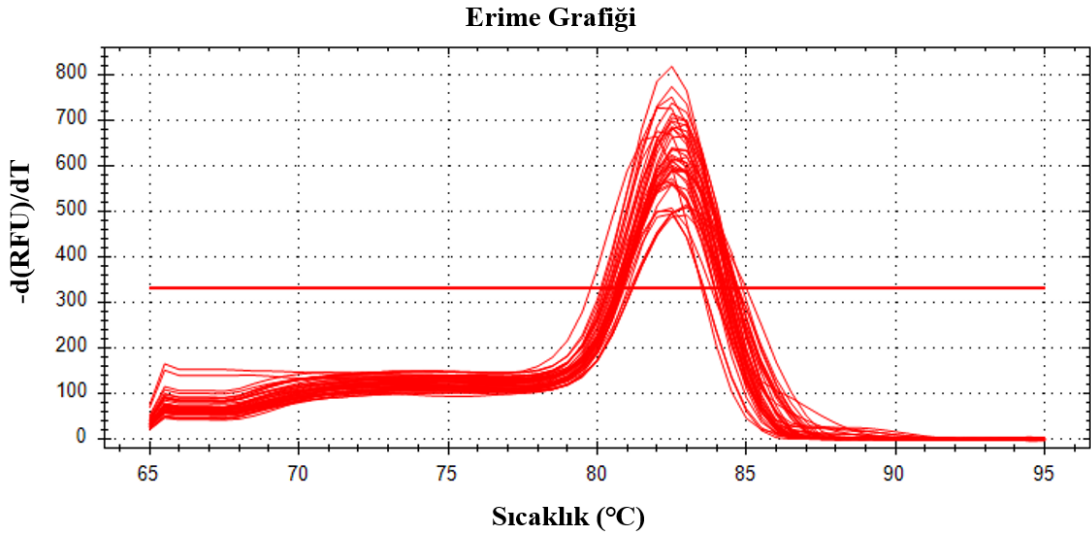
Şekil 4. 10: LIMA doku örneklerinde APPAT ve UCA1 ΔCt korelasyon grafiği

4.3.2. Periferik Kan Örneklerinde Ekspresyon Düzeyleri

Hasta ve kontrol gruplarında lncRNA APPAT'ın ekspresyon düzeyleri incelendiğinde hasta grubunda kontrol grubuna göre APPAT'ın daha çok downregüle olduğu ve bu azalmış ekspresyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p=0,025$). APPAT'ın amplifikasyon ve erime eğrisi şekilleri şekil 4.11 ve şekil 4.12'de verildiği gibidir.

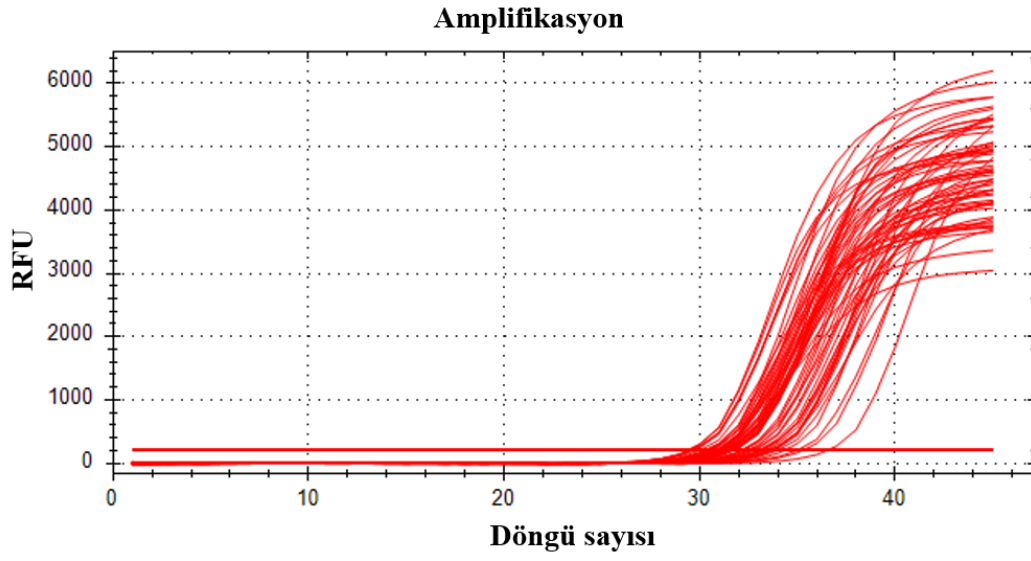


Şekil 4. 11: lncRNA APPAT'ın amplifikasyon eğrisi

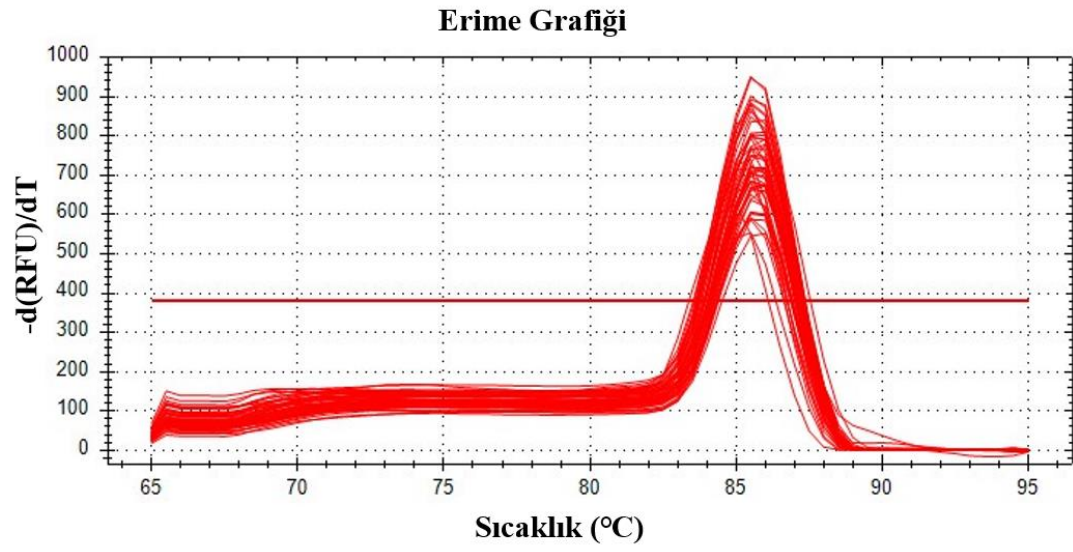


Şekil 4. 12: lncRNA APPAT'ın erime grafiği

Hasta ve kontrol gruplarında lncRNA UCA1'in ekspresyon düzeyleri incelendiğinde hasta grubunda kontrol grubuna göre UCA1'in daha çok downregüle olduğu ve bu azalmış ekspresyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p=0,000$). UCA1'in amplifikasyon ve erime eğrisi şekilleri şekil 4.13 ve şekil 4.14'te verildiği gibidir.



Şekil 4. 13: lncRNA UCA1'in amplifikasyon grafiği



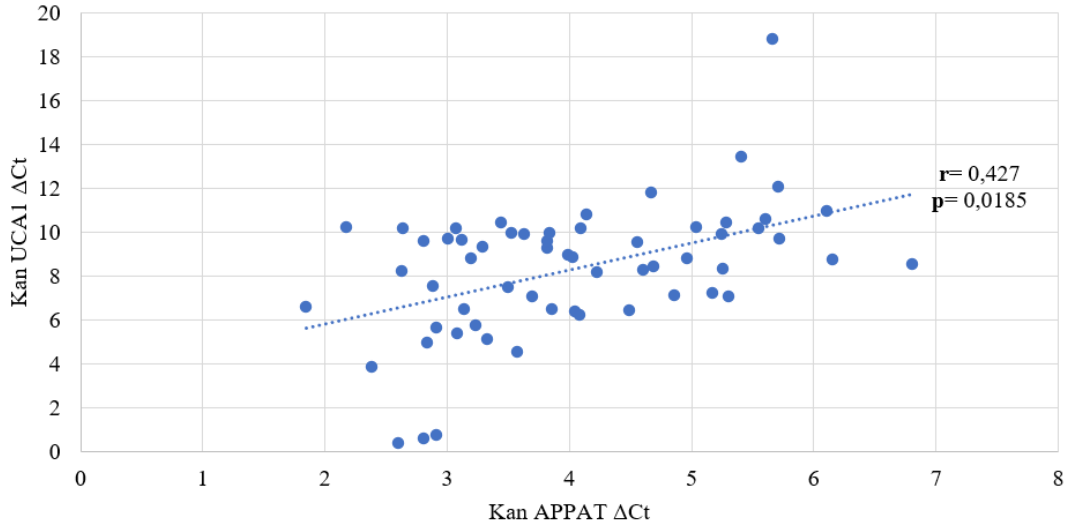
Şekil 4. 14: lncRNA UCA1'in erime grafiği

Hasta grubu kan örneklerinde lncRNA APPAT ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre 1,61 kat, UCA1 ekspresyon düzeyleri ise 5,33 kat daha downregüle idi. Hasta ve kontrol grupları arasında APPAT ve UCA1 ekspresyonlarındaki kat değişimleri tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4. 5: Periferal kan örneklerindeki kat değişimleri

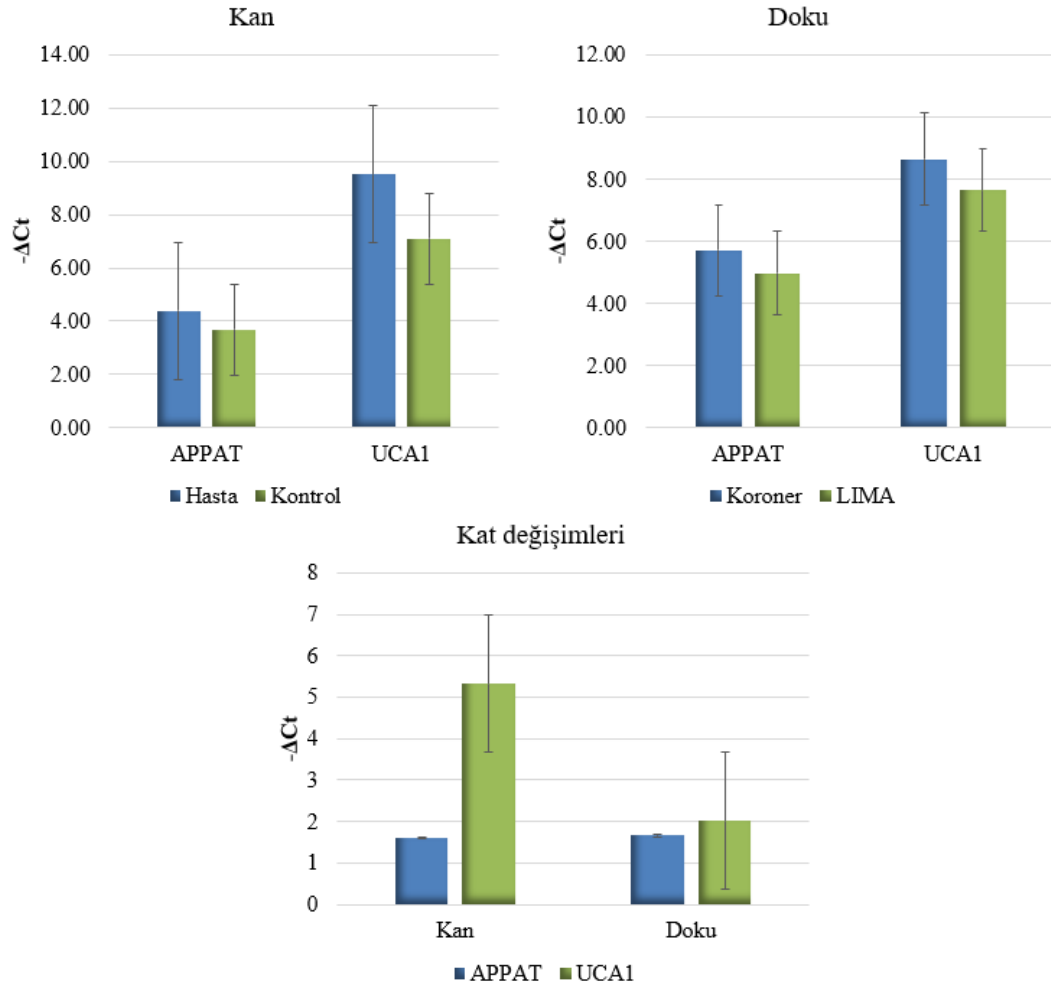
lncRNA	Hasta (n=30)	Kontrol (n=30)	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	p
UCA1	9,52±2,66	7,11±2,82	-2,413	5,33 kat	0,000
APPAT	4,38±1,27	3,69±0,89	-0,686	1,61 kat	0,025

Korelasyon analizleri ekspresyon düzeyleri ve diğer parametler arasında da yapıldı. Periferal kan örneklerinde lncRNA APPAT ve UCA1 ekspresyon düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.15). lncRNA APPAT ekspresyon düzeyleri ile kolesterol, LDL kolesterol, non-HDL kolesterol düzeyleri ve non-HDL/HDL oranı arasında da negatif korelasyon mevcuttu ($p<0,05$) (Tablo 4.6).



Şekil 4. 15: Kan örneklerinde APPAT ve UCA1 ΔCt korelasyon grafiği

Periferal kan ve doku örneklerindeki lncRNA APPAT ve UCA1 ΔCt değerleri ve ekspresyon düzeylerindeki kat değişimleri şekil 4.16’da gösterilmiştir.



Şekil 4. 16: Kan ve doku örneklerindeki lncRNA APPAT ve UCA1 ΔC_t ve kat değişimleri

Aşağıda verilen tabloda UCA1 ve APPAT'ın ekspresyon düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar özetlenmiştir.

Tablo 4. 6: UCA1 ve APPAT ile lipit parametreleri korelasyon analizleri

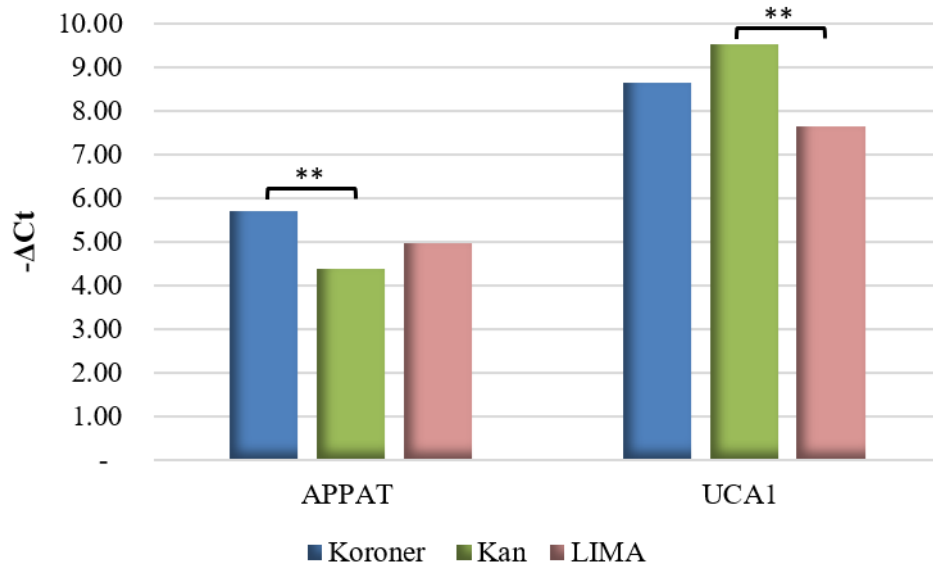
Parametre	Parametre	r	P değeri
Kan APPAT	Kan UCA1	0,427	0,0185
	Kolesterol	-0,473	0,0261
	HDL kolesterol	0,200	0,3726
	LDL kolesterol	-0,469	0,0277
	Trigliserit	-0,250	0,2545
	Non-HDL kolesterol	-0,487	0,0251
	VLDL kolesterol	-0,250	0,2795
	Trigliserit/HDL	-0,270	0,2294
	Non-HDL/HDL	-0,529	0,011
Kan UCA1	Kan APPAT	0,427	0,0185
	Kolesterol	0,01	0,9656
	HDL kolesterol	0,04	0,8446
	LDL kolesterol	-0,08	0,7114
	Trigliserit	0,19	0,4013
	Non-HDL kolesterol	0,00	0,9848
	VLDL kolesterol	0,19	0,4211
	Trigliserit/HDL	0,15	0,4938
	Non-HDL/HDL	0,01	0,961
Koroner APPAT	Koroner UCA1	0,645	0,0001
	Kolesterol	-0,11	0,6400
	HDL kolesterol	-0,17	0,4495
	LDL kolesterol	-0,08	0,7080
	Trigliserit	-0,04	0,8544
	Non-HDL kolesterol	-0,09	0,7080
	VLDL kolesterol	-0,05	0,8320
	Trigliserit/HDL	-0,06	0,7981
	Non-HDL/HDL	-0,09	0,692
Koroner UCA1	Koroner APPAT	0,645	0,0001
	Kolesterol	0,00	0,9986
	HDL kolesterol	0,00	0,9915
	LDL kolesterol	-0,01	0,9678
	Trigliserit	-0,04	0,8581
	Non-HDL kolesterol	0,00	0,9950
	VLDL kolesterol	-0,04	0,8604
	Trigliserit/HDL	-0,11	0,6103
	Non-HDL/HDL	-0,08	0,722

Tablo 4.6 (devam)

	LIMA UCA1	0,846	0,0000
	Kolesterol	0,23	0,2951
	HDL kolesterol	0,14	0,5402
	LDL kolesterol	0,28	0,2095
LIMA APPAT	Trigliserit	-0,14	0,5381
	Non-HDL kolesterol	0,20	0,3736
	VLDL kolesterol	-0,14	0,5545
	Trigliserit/HDL	-0,16	0,4674
	Non-HDL/HDL	0,11	0,639
	LIMA APPAT	0,846	0,0000
	Kolesterol	0,38	0,0778
	HDL kolesterol	0,25	0,2552
	LDL kolesterol	0,431	0,05
LIMA UCA1	Trigliserit	-0,16	0,4683
	Non-HDL kolesterol	0,36	0,1656
	VLDL kolesterol	-0,18	0,4349
	Trigliserit/HDL	-0,24	0,2905
	Non-HDL/HDL	0,12	0,596

HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, APPAT: Aterosklerotik plak patogenezi ilişkili transkript, UCA1: Üroteliyal kanser ilişkili 1, LIMA: Sol internal meme arteri

Hasta grubunda koroner, LIMA dokuları ve kan örnekleri arasında UCA1 ve APPAT ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında; UCA1 ve APPAT ekspresyon düzeyleri bu örnekler arasında anlamlı bulundu (sırasıyla $p=0,0277$ ve $p=0,0052$). Ayrıca koroner doku örneği ile kan arasında APPAT ekspresyon düzeyleri ($p=0,019$); LIMA doku örneği ile kan arasında da UCA1 ekspresyon düzeyleri ($p=0,005$) arasında anlamlı farklılık mevcuttu (Şekil 4.17).



Şekil 4. 17: Hasta grubunda koroner, LIMA ve kan örnekleri arasında ΔC_t değerleri

5. TARTIŞMA

Ateroskleroz, orta ve büyük arterleri etkileyen kronik, dejeneratif, inflamatuvar bir durumdur. Arter duvarında lipit ve matriks proteinlerinin yavaş yavaş ilerleyerek birikmesini içerir ve sonuçta lümenin daralmasına neden olur. Aterosklerozun klinik özellikleri, etkilenen dokulara kan akışında kritik bir azalmanın olduğu, iskemi veya infarktüse neden olan ileri bir aşamaya kadar yoktur. Aterosklerozla ilişkili akut klinik olaylar çoğu durumda stabil olmayan ve yırtılmaya yatkın lezyonlardan kaynaklanır ve ateroskleroz plakta kanamaya yol açar. Sonuçta ortaya çıkan tromboz, yani bir arter içinde tıkaçıcı bir pıhtı oluşması, Mİ'nin olağan nedenidir (165). Mİ damar duvarındaki aterosklerotik plağın yırtılması veya erozyona uğraması sonucu ortaya çıkar ve koroner tromboza ve kalbe giden kan akışının tıkanmasına neden olur (59). Ölümcül Mİ vakalarının çoğunda, en az bir majör koroner arter %75'ten fazla daralmıştır ve bu genellikle plak çatlaması ve tromboz ile ilişkilidir (161). Özetle atardamar duvarlarının kalınlaşması ve sertleşmesi ile karakterize olan ateroskleroz, Mİ ve inmelerin en önemli sebebi olan ve yüksek morbidite ve mortaliteye sahip inflamatuvar bir süreçtir (34,166). Kolesterol düzeyleri ne kadar iyi kontrol edilirse edilsin, hastaların en az %20'si ilk klinik belirtiden sonraki 3 yıl içinde tekrarlayan Mİ geçirmektedir ve bu nedenle aterosklerozla ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltmak için acilen başka tedavilere ihtiyaç vardır (167). Ateroskleroz araştırmalarındaki önemli ilerlemelere rağmen, mevcut tedaviler bu hastalığı etkili bir şekilde tedavi etmek için yetersizdir. Şu anda mevcut olan ilaçların klinik olayların %70'inin bile meydana gelmesini önleyemediği belirtilmektedir. Koroner aterosklerozun erken teşhisi, plak rüptürünü ve ani ölümü önlemek için kritik öneme sahiptir.

Aterosklerotik patogenez lezyonun tetiklenmesiyle başlar ve başta endotel disfonksiyonu, lipoprotein ve ROS'ların infiltrasyonu gibi belirli faktörlere bağlı olarak ortaya çıkar. Daha sonra intimada lipoprotein artışının tetiklediği yağlı bir çizgi ve plak oluşumu başlar. Hücre içi lipitlerin biriktiği aterom oluşumuna doğru ilerler. Bir sonraki aşama, intimanın kalınlaşmasının fibroateroma adı verilen fibroyağlı bir lezyona dönüşmesidir. Son aşama ise hücre dışı matrisin akut bir trombüse dönüşmesidir (82). Endotel hücrelerin yapım-yıkım hızı artışı, “gap junction”ların bozulması, inflamasyon ve oksidasyon dahil olmak üzere endotel hücre işlev bozukluklarının, vasküler

bozuklukların ve aterosklerozun başlamasında hayati rol oynadığı bulunmuştur. Bu yanıtlar endotelin sağlam yapısını bozarak endotel geçirgenliğini artırabilir ve aterosklerozun ilerlemesini teşvik etmek için lipoproteinlerin ve inflamatuvar monositlerin nüfuz etmesine izin verebilir (72). Ateroskleroz plağının gelişiminde, media odaklı VSMC'ler kontraktıl fenotipten “synthetic” fenotipe farklılaşır ve bu patogenezin ilerlemesinde hayati bir rol oynayan proliferasyon veya yönlendirilmiş göç yoluyla intimaya birikir (41,164). Endotel tabaka arteriyal dallarda hasar oluştuğunda, azalmış eNOS ekspresyonu ve artmış nükleer faktör kappa B (NF-κB) ekspresyonu LDL'lerin infiltrasyonu, platelet agregasyonu, lökosit adezyonu ve inflamatuvar yanıtı açar. LDL infiltrasyonu, arter duvarlarının yaralı bölgesinde monositlerin toplanmasını artırır ve kronik inflamasyon yanıtını uyarır, böylece aterosklerotik plak oluşumunu indükler (1,69,168–170). Birçok kanıt lncRNA'ların endotel hücreler, makrofajlar ve VSMC'lerde önemli fonksiyon düzenleyicileri olduğunu göstermektedir (66).

Ateroskleroz multifaktöriyel bir biyolojik süreç olduğundan gen-çevre etkileşimine de tabidir. Bu nedenle, günümüzün klasik risk faktörlerinin ateroskleroz gelişimine katkısı tartışılmaz olsa da, damar ağında aterosklerotik lezyonların ortaya çıkmasındaki rolleri sadece inflamasyon ve bağışıklık sisteminin aktivasyonunu değil, aynı zamanda arter duvarında lipit birikiminin oluşumunu kolaylaştıran veya buna karşı çıkan genetik faktörleri de içerir (171). Ateroskleroz halen çağımızın önemli bir sağlık problemi olup, insidansı yükselmeye devam etmekte olup patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak patogeneizde rol oynayan olası moleküler mekanizmalar çalışılmaya devam etmektedir. lncRNA'lar da ateroskleroz patogenezinde rol alan önemli regülatörler olarak karşımıza çıkmaktadır (66).

Birkaç çalışmada bazı yetişkinlerin 10 yıllık aterosklerotik hastalık riskinin düşük ancak yaşam boyu öngörülen aterosklerotik hastalık riskinin yüksek olabileceği bildirilmiştir. Yaş, 10 yıllık öngörülen riske en güçlü katkıda bulunan faktör olduğundan, risk faktörü profilleri yüksek yaşam boyu riske işaret etse bile genç yetişkinler genellikle düşük bir 10 yıllık aterosklerotik hastalık öngörülen riskine sahiptir (172).

Aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar için HDL kolesterol seviyesinin düşük olması bir risk faktörü olarak kabul edilirken, HDL kolesterolü artıran farmakolojik tedavinin olumsuz sonuçlar vermesi, HDL'nin bu hastalıklar üzerindeki rolü konusunda endişelere yol açmaktadır (11). Aterojenik dislipidemi, yüksek düzeyde LDL kolesterol

ile karakterize olup, buna trigliserit düzeylerinde bir artış, artan sayıda küçük yoğun LDL, düşük HDL kolesterol düzeyleri ve postprandiyal hiperlipideminin eşlik etmesidir (93). Aterosklerotik hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir risk faktörü ters kolesterol transportunda önemli role sahip olan lipoprotein HDL'nin düşüklüğüdür. HDL kolesterol aterosklerozda koruyucu özelliğe sahiptir (173). Bizim çalışmamızda da beklendiği üzere kontrol grubundaki katılımcıların HDL kolesterol düzeyleri, hasta grubundaki katılımcılarınkine göre anlamlı olarak daha yüksekti. Bununla beraber son yapılan çalışmalarda HDL kolesterol seviyelerinden ziyade işlevselliğinin önemli olduğu (174,175), ayrıca HDL kolesterolün iyi bir tanı biyobelirteci olduğu ancak tedavi seçeneği olamayacağı da ifade edilmiştir (176). Bu durum her ne kadar normal HDL kolesterol düzeylerine sahip olursa da aterosklerotik hastalıkların yine de ortaya çıkmasını açıklayabilir. Ayrıca gruplarımızda APPAT ve UCA1 ekspresyon düzeyleri ile HDL kolesterol düzeyleri arasında korelasyon olmamasını da açıklayabilir. Kendi çalışmamızda APPAT ekspresyon düzeyleri non-HDL kolesterol düzeyleri ve non-HDL/HDL oranı ile negatif korele idi.

Ateroskleroz için başka bir önemli risk faktörü LDL kolesterol düzeyi yüksekliğidir. LDL kolesterol ateroskleroz gelişiminde nedensel veya etiyolojik bir rol oynamaktadır (177). Büyük kapsamlı bir çalışmada kardiyovasküler risk faktörü olmayanların %49,7'sinde subklinik aterosklerozun olduğu ve LDL kolesterolün şu anda normal kabul edilen seviyelerde bile (majör kardiyovasküler risk faktörlerinin yokluğunda) erken sistemik aterosklerozun varlığı ve yaygınlığı ile bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (178). Genetik olarak belirlenen hedefler, farmakolojik prosedürler veya tedaviler yoluyla LDL kolesterol seviyelerinin düşürülmesi ile ateromatöz plakların gerilemesinin ve aterosklerozla ilişkili kardiyovasküler olayların azalmasının eşlik ettiğini gösteren çalışmalarla doğrulanmıştır (171,177). Geleneksel olarak optimal risk altında olduğu düşünülen bireylerde bile önleyici korunma için daha etkili yöntemlerle LDL kolesterolün düşürülmesini desteklemektedir. Bununla beraber yapılan bir çalışmada çok ilginç bir şekilde LDL kolesterol ile total kolesterolün ateroskleroz ve ilişkili hastalıklar için risk faktörü olmadığı; hatta akut Mİ geçiren hastalarda LDL kolesterol düzeylerinin normalden daha düşük olduğu; ailesel hiperkolesterolemisi olan kişilerde tedavi edilmeyenlerle aynı LDL kolesterol düzeylerine sahip olduğu rapor edilmiştir (179). Kendi çalışmamızda LDL kolesterol düzeyleri hasta grubunda daha yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu

durumun hasta grubumuzu oluşturan bireylerin kolesterol düşürücü ilaç kullanıyor olmalarından kaynaklı olması muhtemeldir. Ayrıca APPAT ekspresyon düzeyleri ile de negatif olarak korele idi.

Ateroskleroz gelişimine eşlik eden yüksek glukoz seviyesi, dislipidemi ve diğer metabolik değişiklikler, aterojenik sürecin neredeyse her aşamasında sıkı bir şekilde yer almaktadır. Kronik inflamasyon günümüzde ateroskleroz gelişiminde anahtar faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir ve patolojinin başlangıcının en erken aşamalarından itibaren mevcuttur. Ayrıca ateroskleroz ve DM arasındaki olası bağlantılardan biri olarak da görülebilir. Aterosklerozun gelişmesini açıklayan faktörler arasında, artmış aterojenik LDL seviyeleri ile dislipidemi, hiperglisemi, oksidatif stres ve artmış inflamasyon öne sürülmüştür (180). Yapılan bir çalışmada HbA1c düzeyinin akut koroner sendromlu DM hastalarında koroner ateroskleroz lezyonlarının yaygınlığı ve prognoz ile pozitif korelasyon gösterdiği, şiddetli lezyon ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (181). Başka bir çalışmada da HbA1c'nin rutin kullanımının, geleneksel risk faktörlerine ek olarak daha yüksek subklinik ateroskleroz riski taşıyan asemptomatik bireyleri belirleyebileceği ifade edilmiştir (182). Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında beklediğimiz üzere glukoz ve HbA1c parametreleri hasta grubunda anlamlı derecede daha yüksekti. Ayrıca glukoz ve HbA1c ile VLDL, trigliserit ve trigliserit/HDL oranı arasında pozitif korelasyon mevcuttu. Hasta grubunda da DM varlığı/yokluğu ile HDL ve trigliserit/HDL arasında anlamlılık mevcuttu. Aterojenik indeks olan trigliserit/HDL oranı ve non-HDL/HDL oranının anlamlılığı DM'nin aterosklerozla ile yakından ilişkili olduğunu da göstermektedir.

Biriken kanıtlar, trigliseritten zengin lipoproteinlerin ve bunların kolesterolle zenginleştirilmiş kalıntılarının aterogenezdeki nedensel rolüne işaret etmektedir. Özellikle genetik çalışmalar sadece plazma trigliserit seviyeleri ile aterosklerotik kardiyovasküler hastalık riski arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymakla kalmamış, aynı zamanda trigliserit taşınmasının düzenlenmesinden sorumlu anahtar proteinleri de belirlemiştir (183,184). Genel popülasyonda açlık trigliseritleri 580 mg/dL olan bireylerde, 70 mg/dL olan bireylere kıyasla Mİ riski 5,1 kat, iskemik kalp hastalığı riski 3,2 kat, iskemik inme riski 3,2 kat ve tüm nedenlere bağlı ölüm riski ise 2,2 kat daha yüksektir (184). Çalışmamız sonuçlarında hasta grubunda trigliserit düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü ve glukoz, HbA1c, total kolesterol, non-HDL

kolesterol, VLDL kolesterol, trigliserit/glukoz, trigliserit/HDL ve non-HDL/HDL oranları ile pozitif olarak korele idi.

Kendi çalışmamızda total kolesterol düzeyleri hasta grubunda daha yüksek olmakla beraber kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak bunun sebebinin hasta grubumuzda olan katılımcıların hali hazırda lipit düşürücü ilaçlar kullanıyor olmalarından kaynaklandığını düşünmekteyiz. kolesterol düzeyleri; LDL kolesterol, trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL, non-HDL/HDL, trigliserit/glukoz ve trigliserit/HDL ile pozitif korele idi. Kolesterol düzeyleri ayrıca kan APPAT ekspresyon düzeyleri ile de negatif korele idi. LDL kolesterol düzeyleri de LIMA UCA1 ile pozitif, kan APPAT ekspresyon düzeyleri de negatif korele idi. Non-HDL kolesterol düzeyleri ile kan APPAT ekspresyon düzeyleri negatif korele idi. Kan APPAT ve UCA1 ekspresyon düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasındaki anlamlılığı da göz önüne alındığında lipit parametreleri ile bu korelasyon ateroskleroz gelişimindeki rolüne katkı sağladığını düşündürebilir.

52 ülkeden oluşan geniş kapsamlı bir çalışmada dislipideminin Mİ gelişme riskinin yaklaşık %50'sinden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (185). Kendi çalışmamızda da literatüre benzer şekilde hasta grubumuzda trigliserit, non-HDL kolesterol, VLDL seviyeleri, trigliserit/HDL oranı, trigliserit/glukoz ve non-HDL/HDL oranı kontrol grubuna göre daha yüksek olmakla beraber ileri derecede anlamlıydı. Genellikle, dislipideminin yönetiminde birincil hedef olan LDL kolesteroldür. Ancak, son zamanlarda non-HDL kolesterol alternatif ve güvenilir bir hedef olarak dikkat çekmektedir. LDL, trigliseritten zengin lipoproteinler (VLDL), bunların kalıntıları ve lipoprotein(a) gibi tüm plazma lipoproteinlerini kapsayan non-HDL kolesterolün de aterosklerotik olduğu ve ateroskleroz patofizyolojisine yardımcı olduğu bildirilmiştir ve kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü/öngörücü olarak kabul edilmektedir. Ayrıca dislipidemi yönetiminde non-HDL kolesterolün birincil veya ikincil hedef haline gelebileceği ifade edilmiştir (186,187). Aynı şekilde, esas olarak kalıtım faktörleri tarafından belirlenen dolaşımdaki yüksek lipoprotein(a) seviyeleri, makrofaj VLDL reseptörleri aracılığıyla doğrudan aterosklerotik hastalıkları indüklemektedir. LDL reseptörü ailesinden olan VLDL reseptörü kalıntı lipoproteinler tarafından makrofaj köpük hücresi oluşumunda rol oynayan bir reseptör olup lipoprotein(a) bir VLDL reseptör ligandıdır ve makrofaj köpük hücresi oluşumu için makrofaj VLDL reseptörleri

aracılığıyla doğrudan alınır (188). Yapılan bir çalışmada çocukluk çağındaki non-HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinin orta yaşta kardiyovasküler hastalık olayları ile ilişkili olduğu ve hatta non-HDL kolesterolün yetişkin kardiyovasküler hastalık olaylarını öngörmeye (özellikle LDL kolesterolü normal, non-HDL kolesterolü yüksek olan bireyler arasında) LDL kolesterolden daha iyi olduğu gösterilmiştir (189).

Yapılan bir çalışmada non-HDL/HDL kolesterol oranının postmenopozal kadınlarda karotid ateroskleroz riskini öngörmeye güçlü bir belirteç olabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca bu anlamlı ilişki, proaterojenik ve antiaterojenik lipit partikülleri arasındaki dengenin vasküler yeniden şekillenme üzerindeki önemine de işaret etmektedir (190). Ayrıca non-HDL/HDL oranının kombine lipit sorunlarını gösterdiği ve koroner kalp hastalığı, insülin direnci, metabolik sendrom ve kronik böbrek hastalığı gibi dislipidemi ile ilişkili bozukluklar için tek lipoprotein oranından daha iyi bir belirleyici olduğu gösterilmiştir. Tip 2 diyabetle ilgili yeni bir gözlemsel çalışmada non-HDL/HDL oranının koroner kalp hastalığı riski üzerinde non-HDL kolesterolden daha belirleyici olduğu bulunmuştur (191). Başka bir çalışmada da non-HDL/HDL oranının karotid plak stabilitesi ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ve yüksek riskli karotid plağının erken teşhisi için yararlı bir gösterge olabileceği ifade edilmiştir (192). Kendi çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede belirgin fark mevcuttu. Ayrıca DM ve Mİ varlığı ile non-HDL/HDL oranı da istatistiksel olarak anlamlıydı ve hasta grubunda bu oran daha yüksekti. Beklediğimiz üzere total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL, non-HDL kolesterol ve trigliserit/HDL oranı ile pozitif; HDL kolesterol ile negatif korele idi. Non-HDL/HDL oranı, kandaki APPAT ekspresyon düzeyleri ile de negatif olarak korele idi. Çalışmamızın sonuçları bu parametre açısından da literatürü desteklemektedir.

Birçok çalışmada, yüksek serum trigliserit seviyeleri ve düşük HDL kolesterolün, arzu edilen LDL kolesterol seviyelerine ulaşıldığında bile hem akut koroner sendrom hem de stabil koroner arter hastalığı riskinde artışla ilişkili olduğu belirtilmiştir (193). Çin popülasyonunda yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada da, trigliserit/HDL oranının koroner arter kalsifikasyonunun varlığının iyi bir öngörücüsü olduğu gösterilmiştir (194). Prediyabetiklerde yüksek trigliserit/HDL oranının erken tespiti, aterosklerotik komplikasyonların erken saptanmasına yardımcı olabilir ve prediyabet ve DM hastalarında aterosklerotik hastalıklar ile mücadelede birincil önleyici stratejilerin çerçevelenmesinde hekimlere yardımcı olabilir (195). Kendi çalışmamızda da

trigliserit/HDL oranı hasta grubumuzda daha yüksek olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. Ayrıca glukoz, HbA1c, total kolesterol, LDL, trigliserit, non-HDL, VLDL, trigliserit/glukoz ve non-HDL/HDL oranları ile pozitif korele; HDL ile de negatif koreleydi.

Trigliserit/glukoz indeksi, insülin direncinin güvenilir bir alternatif biyobelirteci olarak tanımlanmış olup birçok çalışma bu indeksin kardiyovasküler hastalık gelişimi ve prognozu ile ilişkili olduğunu gösteren sağlam istatistiksel kanıtlar sağlamıştır. Bununla birlikte, bu indeksin kardiyovasküler hastalıkların bir belirteci olarak uygulanması sistematik olarak değerlendirilmemiştir (196). Trigliserit/glukoz indeksinin gelecekteki kardiyovasküler mortalite, Mİ, inme ve tip 2 diyabet ile önemli ölçüde ilişkili olduğu ve insülin direncinin kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynadığı konusunda yapılan başka bir çalışma mevcuttur (197). Biz de bu sebeple aterosklerozlu hasta grubumuzda hem DM’li hem de DM’si olmayan kişilerin bulunmasından ötürü bu indeksi değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamız sonuçlarına göre hasta grubunda trigliserit/glukoz indeksi daha yüksekti. Ancak bu indeks ile DM varlığı/yokluğu ya da Mİ geçirme durumu arasında ilişki görülmedi. Ayrıca glukoz veya HbA1c değerleri ile de korele değildi. İnsülin direnci indeksi olan trigliserit/glukoz indeksinin daha geniş çalışma grubu ve diğer diyabetik belirteçlerle beraber karşılaştırılarak değerlendirilmesinin daha uygun olacağı kanaatindeyiz. Çalışmamızda trigliserit/glukoz oranını laboratuvar parametreleri ile kıyasladığımızda total kolesterol, LDL, trigliserit, non-HDL, VLDL, trigliserit/HDL ve non-HDL/HDL oranları ile pozitif korele olduğunu gördük.

Ürik asit hem ROS’ları temizleme hem de ROS üretimine katkı sağlama özelliklerinden dolayı hem oksidan hem de antioksidan özelliğe sahiptir ve ayrıca koroner arter hastalığı üzerindeki etkilerinin de çelişkili olduğu ifade edilmiştir (198,199). Bir çalışmada serum ürik asit düzeylerinin artmasının HDL disfonksiyonuna neden olduğu ve plak gelişiminde proaterojenik etki gösterdiği gösterilmiştir. Artmış serum ürik asit düzeyleri oksidatif stres, inflamasyon, endotel disfonksiyon, otofaji disfonksiyonu ve ferroptozu artırmaktadır (80). Yapılan başka bir çalışmada koroner bilgisayarlı tomografi ile subklinik aterosklerozu saptanan asemptomatik bireylerin yüksek serum ürik asit düzeylerine sahip olduğu ve kalsifiye olmayan plakların bağımsız bir belirleyicisi olup kardiyovasküler riski artırdığı gösterilmiştir (199). Kurajoh ve ark. (198) ürik asitin ROS

temizlenmesini etkilemeden ROS üretimini artırarak oksidatif stresin artmasına katkıda bulunabileceğini bulmuşlardır. Kendi çalışmamızda da serum ürik asit seviyelerinin KABG yapılan hastalarda daha yüksek olduğu görülmüştür.

Artan çalışmalar, lncRNA'ların ateroskleroz ve vasküler hasar patobiolojisinde çok önemli düzenleyici roller oynadığını göstermektedir. Giderek artan sayıda lncRNA, yüksek derecede doku ve hücre özgüllüğü göstererek onları çekici hedefler haline getirmektedir (23). LncRNA ekspresyon çalışmaları çoğunlukla hücre hatları ve hayvan modellerinde yapılmıştır. Kendi çalışmamızda insandan KABG cerrahisi esnasında alınan koroner arter ve LIMA dokuları kullanılmıştır. Bu şekilde yapılan çalışma sayısının azlığı çalışmamıza özgünlük katmaktadır ve bulunan sonuçlar literatüre katkı sağlamaktadır. LncRNA ekspresyonunun in vivo modülasyonu, ateroskleroz veya vasküler yeniden şekillenmeyi değiştirmede yeni bir terapötik strateji olarak umut vadetmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu artan kanıtlar da lncRNA'ların kanser, nörolojik hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklarda önemli rollere sahip olduğunu göstermektedir. Son yıllarda çok sayıda çalışma, lncRNA'ların kardiyovasküler hastalık patogenezindeki rolünü incelemektedir. Kardiyovasküler hastalıkların yüksek prevalansı ve mortalitesi ışığında, patogenezinde yer alan molekülleri ve bunların başlattığı sinyal yollarını anlamak zorunludur. Bu, daha kesin ve uygun tanı tekniklerinin geliştirilmesini, daha etkili prognostik moleküllerin tanımlanmasını ve potansiyel terapötik hedeflerin belirlenmesini kolaylaştırabilir (200).

Uzun kodlama yapmayan RNA'lar, memeli genomundan ifade edilen diğer transkript türlerine kıyasla daha fazla hücre tipi veya dokuya özgü ifade sergiler (128). Bu da lncRNA'yı bir biyobelirteç ve terapötik hedef olarak umut verici bir aday haline getirmektedir (119,122). Liu ve ark. (128) yaptığı bir çalışmada tek hücre-RNA dizileme yapıldığında lncRNA:mRNA oranı daha yüksek bulunurken, RNA sekanslama total olarak yapıldığında lncRNA:mRNA oranının daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu da lncRNA'ların hücreye özgü ekspresyona sahip olduğunu ifade etmektedir (130).

Yapılan bir çalışmada insan ileri aterosklerotik plaklarında ve normal arteriyel intima dokuları karşılaştırılarak lncRNA ekspresyon profili tespit edilmiş ve toplam 236 farklı şekilde ifade edilen lncRNA tanımlanmıştır. Tanımlanan bu lncRNA'ların bir kısmının serum, doku ve kan gibi farklı biyolojik örneklerde ekspresyon düzeyleri incelenmiştir (139,201). Çok sayıda lncRNA, ateroskleroz ve VSMC'lerin çoğalması ve

göçü ile ilişkili bulunmuştur. Örneğin lncRNA H19 aterosklerozlu hastalarda daha yüksek eksprese olmuş ve mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) ve NF-κB sinyal yollarını aktive ederek aterosklerozu teşvik etmiştir. Başka bir lncRNA taurin upregüle 1 (TUG1)'in miRNA-21/ fosfataz ve tensin homolog (PTEN) eksenini aracılığıyla VSMC'lerin proliferasyonunu ve aterosklerozu teşvik ettiği bildirilmiştir (46,202,203). Yapılan bir araştırma sonucunda ANRIL, metastaz ilişkili akciğer adenokarsinoma transkripti 1 (MALAT1), maternal eksprese edilen 3 (MEG3), APPAT, nexilin F-aktin bağlayıcı protein antisens RNA 1 (NEXN), GAS5, lincRNA-p21, CHROME, lncRNA n342419 lncRNA'larının ateroprotektif; H19, Mİ ilişkili transkript (MIAT), TUG1, nükleer paraspeckle toplanma transkripti 1 (NEAT1) lncRNA'larının ise aterojenik özellikte olduğu rapor edilmiştir (1,124).

Endotel hücre fonksiyonu ve yapısının regülasyonunda rol oynayan birkaç lncRNA'nın, aterosklerozun erken aşaması olan endotel disfonksiyonda farklı ekspresyon düzeylerine sahip olduğu gösterilmiştir. Örnek olarak; endotel hücre pro-inflamatuvar ve anjiyogenez lncRNA'sı olarak bilinen MALAT1, artmış endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonu ile ilişkili; distal uçtaki HOXA transkript (HOTTIP) ve LINC00968 lncRNA'larının ekspresyon düzeylerinin koroner arter hastalığında yüksek olduğu gösterilmiştir (7,161). Li ve ark. (201) 2021 yılında yaptıkları bir çalışmada başka bir lncRNA olan MIAT'ın downregülasyonunun miR-214-3p/Kaspaz-1 sinyal yolu üzerinden aterosklerozda koruyucu etkiye sahip olduğu ve MIAT lncRNA'sının inhibisyonunun aterosklerozun tedavisinde etkili olabileceği ifade edilmiştir. Bai ve ark. (139) yaptığı bir çalışmada ileri aterosklerotik doku ve normal arter intima dokularında mikroarray yöntemiyle hem mRNA hem de lncRNA ekspresyon düzeylerinde görülen değişiklikler saptamış ve bunların hedef genleri belirlendikten sonra kardiyovasküler biyobelirteçleriyle korelasyonlarına bakmışlardır. Genlerin gen ontolojisi (GO) fonksiyonel zenginleştirme analizlerinde, farklı şekilde eksprese edilen birkaç mRNA'nın aterosklerotik lezyon gelişiminin tüm aşamalarına katılan sitokin ve kemokin aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu RNA'ların hedef genlerinin protein ürünlerinin kardiyovasküler hastalık biyobelirteçleriyle anlamlı derecede korele olduğu bulunmuştur. Özetle endotel hücrelerin fonksiyonları çeşitli lncRNA'lar tarafından düzenlenebilir ve potansiyel olarak farklı vasküler hastalıkların gelişimi ve ilerlemesinin modülasyonunda yer alabilir.

Çalışmamızda ekspresyon düzeylerini incelediğimiz lncRNA'lerden biri olan UCA1; fosfatidilinositol 3 kinaz/protein kinaz B (PI3K/Akt), Wingless ile ilişkili entegrasyon bölgesi (Wnt)/ β -katenin, MAPK, NF- κ B, Janus kinaz ailesi/sinyal başlatıcı ve transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT) ve transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynayarak hücre çoğalması, apoptoz, migrasyon, invazyon ve tümör ilaç direnci gibi bir dizi hücre biyolojik işlevi etkilemektedir (157,159). Wnt yolağı, endotel disfonksiyondan lipid birikimine ve ilk inflamasyondan plak oluşumuna kadar aterosklerozun tüm farklı aşamalarına katılmaktadır. Wnt yolağı, hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenlemenin ötesinde, lipid homeostazını ve depolanmasını da kontrol eder. Ayrıca Wnt sinyalizasyonunun aktivasyonu aterosklerotik şiddet ile negatif korelasyon göstermektedir. β -katenin ise eNOS aktivasyonunu ve anti-apoptotik gen ekspresyonunu indükleyerek endotelial sağkalımı kolaylaştırır (97). Kanonik olmayan Wnt sinyalizasyonu vasküler oksidatif stres, endotel disfonksiyonu, inflamasyon, VSMC fenotipleri ve hücre insülin direncini etkileyerek vasküler hastalıkta umut verici bir hedeftir ve bunların tümü ateroskleroz ilerlemesini ve plak stabilitesini etkileyebilir (204). NF- κ B ve MAPK sinyal yolağının aktivasyonu ox-LDL'nin intima göçünü artırır ve inflamatuvar sitokinlerin aktivasyonuna yol açar. MAPK sinyal yolağı ayrıca hücrelerden kolesterol çıkış yollarını da regüle eder (65,97). NF- κ B yolağının interleukin-1, CD40, ox-LDL ve ROS gibi inflamatuvar stimüller tarafından uyarılması vasküler inflamatuvar yükün artmasına ve uzun vadede devam etmesine neden olarak aterogenezi kolaylaştırmaktadır. Endotel hücrelerinde NF- κ B'nin aktivasyonu, inflamatuvar hücrelerin vasküler duvara invazyonu ve yerleşmesinin yanı sıra VSMC'lerin göçü, hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesinin koordinasyonuna katkıda bulunan çok çeşitli adezyon moleküllerinin ekspresyonunu tetikler (205).

Yapılan bir çalışmada UCA1'in akut Mİ için öngörü yeteneği ROC eğrisi ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada UCA1'in, akut Mİ için belirgin bir duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmakla birlikte tanıda troponin ve kalp kası-kreatin kinaz kadar iyi olmayabileceği de gösterilmiştir (24,206). Başka bir çalışmada ise UCA1'in, miRNA-26 sünger gibi davranarak ve böylece PTEN yolağı üzerindeki inhibisyonu hafifleterek VSMC'lerin proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir (45,120). PI3K/Akt/Rapamisin mekanik hedefi (mTOR) sinyal yolu, ökaryotik hücrelerde hücre sağkalımını, hücre büyümesini ve hücre döngüsü ilerlemesini destekleyen oldukça korunmuş bir sinyal yolağıdır (207). PTEN, PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı üzerinde de inhibitör etkisine sahip olan böylece

apoptozu, hücre döngüsü ilerlemesini, proliferasyonu ve anjiyogenezi modüle eden bir tümör baskılayıcı proteindir ve bu protein Mİ'da apoptozda rol oynamaktadır (208,209). PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağının aktivasyonu, VSMC'lerin fenotipik dönüşümünü kontraktıl durumdan "synthetic" duruma olacak şekilde indükleyerek aterosklerozunun gelişimini artırmaktadır (210). Aynı zamanda makrofaj otofajisini düzenleyerek ateroskleroz ilerlemesini etkilemektedir (211,212). Başka bir çalışmada da aterosklerozda upregüle olduğu bilinen bir kemokin reseptörünün susturulmasının PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı üzerinden makrofaj otofajisini artırdığı ve ateroskleroza hafiflettiği gösterilmiştir (213). Bu bilgiler ışığında PTEN/PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı ateroskleroz gelişiminde önemli rollere sahiptir. Yapılan bir çalışmada UCA1'in PI3K/Akt sinyal yolağı üzerinden apoptozu azaltarak kardiyomiyositlerin hasarını hafiflettiği gösterilmiştir (214).

Literatürde UCA1'in potansiyel rolleri daha çok kanserde incelenmiş olup ateroskleroz ile ortak bazı yolaklardaki rolleri açığa çıkartılmıştır. Wang ve ark. (215) yaptıkları çalışmada, UCA1'in miR-193a ve miR-214'ü süngerleştirerek programlanmış hücre ölümü ligand 1'in ekspresyonunun upregülasyonuna yol açarak mide kanseri hücrelerinin immün kaçışına katkıda bulunduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada UCA1'in upregülasyonunun p27 proteininin ve onun hedeflerinin baskılanmasına yol açabileceği ve böylece hücre büyümesinin inhibisyonu ve apoptoz indüksiyonuna katkıda bulunabileceğini bulunmuştur (216). Aynı zamanda başka bir çalışmada tam tersi olarak miR-1, UCA1'in ekspresyonunu azaltarak mesane kanserinde hücre büyümesini inhibe ettiği, apoptozu indüklediği ve hücre hareketliliğini azalttığı gösterilmiştir (217). miR-195, vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörünü hedefleyerek renal hücre karsinomunda apoptozu indüklemekte ve tümör hücrelerinin migrasyon, invazyon ve sağkalımını inhibe etmektedir. Fakat UCA1, miR-195 üzerinde sünger etkisi göstererek durumu tersine çevirmektedir (153). TGF- β sinyal yolu, miR-1 ve miR-203a gibi UCA1 ile ilişkili miRNA'ların ekspresyonunu da indükleyebilmektedir (218).

Literatürde kardiyovasküler hasar veya hastalıklarda UCA1 ile ilişkisini araştıran çok sınırlı çalışma mevcuttur. Bir çalışmada UCA1'in iskemi/reperfüzyon hasarı sırasında reaktif olarak tetiklenebildiği; UCA1'in adenovirüs transfeksiyonu ile aşırı ekspresyonunun endoplazmik retikulum stresini ve ROS kaynaklı hücre apoptozunu baskılayarak önemli miyokardiyal koruma sağladığı gösterilmiştir (219). Ayrıca başka bir

çalışmada UCA1'in hipoksi indüklenmiş hücre hatlarında miR-873-5p ve miR-143 üzerinde tuzak etkisi göstererek kardiyak hasara karşı koruyucu role sahip olduğu gösterilmiştir (220–222). UCA1, kardiyak miyositlerde hidrojen peroksit kaynaklı apoptoza karşı koruyucudur (24). UCA1 miR-1, miR-203a, miR-193a-3p, miR-216b, miR-16 ve miR-143'ler üzerinde sünger etkisi yaparak negatif olarak düzenlemekte ve çeşitli kanser türlerinde invazyon, proliferasyon ve migrasyon süreçlerinde rol almaktadır (223). Bunların arasından miR-1 ve miR-16'nın sekonder kardiyovasküler olayın olası risk faktörleri olabileceği gösterilmiştir (224). Benzer şekilde miR-143'ün de ateroskleroz için potansiyel spesifik biyobelirteç olabileceği rapor edilmiştir (225). Mİ ve kalp yetmezliği hastalarının plazma örneklerinde UCA1 lncRNA'sının downregüle olduğu, Mİ'yi tahmin etmede kullanılabileceği gösterilmiştir (161,206). Chen ve ark. (226) 2023 yılında yaptıkları çalışmada, UCA1 ekspresyonunun aterosklerozlu hastaların plazmasında upregüle olduğunu, hedefi olduğu düşünülen miR-132'nin ise downregüle olduğunu ortaya çıkarmışlardır. UCA1, miR-26a üzerinde sünger etkisi göstererek VSMC'lerin proliferasyonu ve migrasyonunu düzenleyerek VSMC'lerin ateroskleroza karşı proliferasyonunu hafiflettiğini ortaya koymaktadır (45,227). Zhang ve ark. (228) yaptığı bir çalışmada UCA1, PI3K/Akt sinyal yolağı üzerinden Mİ sonrası kardiyomiyositlerde apoptozu düzenleyerek hasarı hafifletmiştir.

Çalışmamızda ateroskleroz hastalarında kontrol grubuna göre UCA1 ekspresyon düzeylerinin kanda anlamlı derecede downregüle olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar UCA1'in ateroskleroz gelişiminde rol oynayabileceğini ve sistemik etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Ancak lezyonlu koroner örneklerinde, sağlıklı LIMA örneklerine göre daha düşük eksprese olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bununla beraber hasta grubunda kan, koroner ve LIMA arasında UCA1 ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise LIMA dokusunda kana göre daha yüksek olduğu görüldü. Bu durum LIMA'nın aterosklerozdan koruyan mekanizmalara sahip olduğunu ve ateroskleroza dirençli olduğunu desteklemektedir. Ayrıca UCA1'in LIMA dokusunda kana göre yüksek olması koruyucu mekanizma/ların patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalar VSMC'lerin anormal proliferasyonu ve göçünün ateroskleroz, anjiyoplasti sonrası restenoz gibi birçok kardiyovasküler hastalık için ortak patogenez olduğunu göstermiştir (45). Sağlıklı, anjina pektorisli ve Mİ geçirmiş hastaların kanında

saptanmış olan APPAT'ın, ateroskleroz gelişimiyle korele olduğu için kardiyovasküler hastalıkların erken teşhisinde potansiyel bir invaziv olmayan biyobelirteç olabileceği öne sürülmüştür. Daha ileri çalışmalarda ciddi stenotik koroner arterlerin dokularında APPAT ekspresyonunda bir azalma olduğu ortaya koyulmuştur (164,229). APPAT'ın potansiyel mekanizması, miR-647 ve miR-135 gibi spesifik miRNA'lara sinyal göndererek VSMC fenotip değişiminin etkisine atfedilmektedir (120). İnsan VSMC'lerine ox-LDL uygulanmış olan bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla ox-LDL uygulanmış grupta APPAT'ın downregüle olduğu ve hatta uygulanan ox-LDL konsantrasyonu arttıkça daha çok downregüle olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda yaptıkları bu çalışmada, APPAT'ın hastalığın ilerlemesinde VSMC'lerin fenotipinin korunmasında muhtemelen anahtar rol oynadığı ve böylece koroner arter stenozunun ciddiyetini, özellikle hassas plak stabilitesini etkilediği sonucuna varmışlardır (164). Yapılan iki farklı çalışmada da akut MI'li hastaların plazma ve tam kan örneklerinde, APPAT'ın downregüle olduğu ve hedefi olan miR-328a'nın upregüle olduğu gösterilmiştir (230,231).

Önemli bir kanser türü olan meme kanserinde normalde upregüle olan APPAT geni inhibe edildiğinde, hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyonunun baskılandığı gözlenmiştir (232). Wang ve ark. (232) yaptığı bir çalışmada APPAT'ın meme kanserinde miR-328a/Plakophilin-1 (Pkp1) sinyal yolunu düzenleyerek proliferasyon, migrasyon ve invazyonunu düzenlemiş olduğunu göstermişlerdir. Pkp1, Wnt sinyal yolağının da bir regülatörüdür (233). Böylece lncRNA-miRNA-mRNA ağı da çıkartılmıştır. Primer hipertansiyonlu hastalarda yapılan bir çalışmada fibroblast büyüme faktörü 5 (FGF5) gen ve protein ekspresyon seviyelerinin upregüle olduğu ve primer hipertansiyonlu hastalarda genetik varyasyonun da pozitif korele olduğu gösterilmiştir (234). Meng ve ark. (229) yaptıkları daha sonraki bir çalışmada APPAT'ın miR-647 üzerinden hedef geni FGF5'i downregüle ettiği gösterilmiştir. miR-647'nin yapılan bir çalışmada ox-LDL uygulanmış VSMC'lerin proliferasyonunu ve migrasyonunu PTEN/PI3K/Akt yolağını düzenleyerek uyardığı, başka bir çalışmada da circRNA (Circ_0000345) üzerinden ateroskleroz proliferasyon, migrasyon, invazyon ve inflamatuvar yanıtını düzenlediği gösterilmiştir (235,236). Yapılan bir proteomiks çalışmasında plazma FGF5 seviyelerinin ailesel hiperkolesterolemi olan ve olmayanı ayıracak güçlü bir prediktör olduğu ortaya konmuştur (237). Vasküler endotelial büyüme faktörü ile uyarılan insan aortik endotelial hücrelerde de FGF5 ekspresyonunun daha yüksek olduğu başka bir çalışmada daha gösterilmiştir (238). Özetle APPAT'ın miR-647 üzerinden çeşitli sinyal yollarını

düzenlediği ve miR-647'nin ateroskleroz gelişimindeki rolü göz önüne alındığında APPAT'ın literatürü destekleyici şekildeki dolaşımdaki downregulasyonu aterosklerozun patogenezinde role sahip olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda KABG cerrahisi yapılan hastaların kan örneklerinde, kontrol grubuna göre APPAT ekspresyonunun anlamlı derecede downregüle olduğu görüldü. Bu sonuçlar APPAT'ın ateroskleroz gelişiminde rol oynayabileceğini ve sistemik etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Ancak koroner dokusu örneklerinde, LIMA dokularına göre karşılaştırıldığında APPAT ekspresyonunda azalma gözlenirken istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bununla beraber hasta grubunda kan, koroner ve LIMA arasında APPAT ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise koroner dokuda kana göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğu görüldü. Bu durum ateroskleroz gelişmiş olan koroner dokuda APPAT'ın aterosklerozun gelişmesi/ilerlemesi ile yakından ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Tüm bunların yanı sıra 2023 yılında yapılan bir biyoinformatik analiz çalışmasında sağlıklı ve aterosklerotik arter dokuları arasında 323 downregüle, 120 upregüle gen olmak üzere toplam 443 farklı şekilde ifade edilen gen tanımlanmıştır. Upregüle edilen genler lökosit aktivasyonu, endositik vezikül ve sitokin bağlanması düzenlenmesi ile ilişkilendirilirken; downregüle edilen genler hücre büyümesi, hücre dışı matriks ve G protein-bağlı reseptör bağlanması negatif regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (239). Yapılan genom çaplı ilişkilendirme çalışmalarında da ateroskleroza yakınlıkla ilişkili birçok RNA (kodlayan ve kodlamayan dahil olmak üzere) tanımlanmıştır (240). Ayrıca histon metilasyonu, histon asetilasyonu ve DNA metilasyonu süreçlerindeki epigenetik mekanizmalar da endotel disfonksiyon ve ateroskleroz gelişimine katkı sağlarlar (72,241,242). Bu bulgular, ateroskleroz gelişiminin immün reaksiyonlarla birlikte karmaşık bir inflamatuvar süreç olduğunu ve azalmış VSMC kontraksiyonu ve artmış proliferasyonu ile ilişkili olduğunu belirten hipotezle uyumludur.

Gelişen teknoloji ve ilerlemelere rağmen aterosklerozun Mİ, iskemi ya da herhangi bir vasküler hastalık komplikasyonu gelişmeden önce erken tanısı ve potansiyel tedavisi için invaziv olmayan biyobelirteçlere çok ihtiyaç vardır. lncRNA'ların hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde önemli rollere sahip olduğu düşünüldüğünde potansiyel biyobelirteç adayları olduğu/olabileceği de aşıkardır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Mevcut çalışmanın birincil kısıtlaması tek merkezli bir çalışma olmasıdır; çalışma sonuçlarını daha geniş bir ölçekte doğrulamak için çok merkezli kaynaklardan daha büyük bir örneklem büyüklüğüne sahip daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Bu çalışma bir ön çalışma olup daha büyük çalışmaların yapılması planlanmaktadır. lncRNA'ların kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalığın patofizyolojisinde potansiyel rollere sahip olduğu göz önüne alındığında çalıştığımız lncRNA UCA1 ve APPAT ile ilgili çalışmaların azlığından ötürü literatür boşluğunu doldurmak ve bu alanda daha fazla araştırmaya duyulan ihtiyacı vurgulamak için bir fırsat oluşturmuştur.

Çalışmanın ikinci en önemli kısıtlaması koroner dokularının çok küçük olması ve sertliğinden ötürü homojenizasyonu ve bu sebeple total RNA eldesinin zorluğu olmuştur. Buna rağmen çalışma deneyleri sorunsuzca tamamlanmıştır. Ayrıca sağlıklı bireyden sağlıklı damar dokusunun alınması gibi bir durumun söz konusu olamayacağından ötürü çalışmada hasta grubunun hem lezyonlu koroner dokusu hem de greft yapılan LIMA dokusu kullanılmıştır. Çalışmamızda örnek toplama sürecinin bu şekilde belirlenmesinin nedeni literatürde hem buna benzer çalışmaların varlığı hem de en önemlisi sağlıklı damar dokularının bulunmasının oldukça zor olmasıydı. Çalışmadaki hedefimiz doku düzeyindeki ekspresyon farklılığı ile dolaşımdaki ekspresyon farklılıklarını incelemek ve olası korelasyonu irdelemektir.

Çalışmamız sonuçlarına göre KABG yapılan hastalardan alınan kan örnekleri ile sağlıklı kişilerin kan örnekleri arasında UCA1 ve APPAT lncRNA'larında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenirken, KABG yapılan hastaların koroner ve LIMA dokuları arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Bununla beraber kan, koroner ve LIMA örnekleri karşılaştırıldığında; LIMA örneklerinde kana göre UCA1'in ekspresyonunun daha yüksek olduğu, koroner dokuda ise kana göre APPAT'ın daha düşük ekspresyona sahip olduğu tespit edildi. Hasta grubunda kan UCA1 ve APPAT ekspresyonlarının daha düşük olması bu iki lncRNA'nın aterosklerozun patogenezinde rol oynayabileceğini ve sistemik etkilere sahip olabileceğini göstermektedir. LIMA dokusunda UCA1'in ekspresyonunun kan örneklerine göre daha yüksek olması, LIMA'nın ateroskleroza karşı direncine katkı sağlayan mekanizmalarda rolü olabileceğini düşündürmektedir. Koroner dokuda ise

APPAT ekspresyonunun kan örneklerinden daha düşük olması, stenoz gelişmiş olan bu dokuda ateroskleroza yol açan mekanizmalarda rol alabileceğini göstermektedir.

Literatür detaylı incelendiğinde UCA1 ilk kez mesane kanseri hücre hattında keşfedilmiş olan ve birçok kanser türünün yanı sıra kardiyovasküler hastalıklarda da potansiyel rolleri araştırılmış ve araştırılmaya devam etmekte olan bir lncRNA'dır. APPAT'ın ise ilk kez dolaşımda keşfedilen yeni bir lncRNA olduğu görülmektedir. Çalışmalar daha çok hücre kültürü bazlı yapılmakta olup doku düzeyinde yapılan çalışmalar çok az sayıdadır. APPAT'ın dolaşımda bulunmasının ardından bir grup araştırmacı bu lncRNA'nın ekspresyon düzeylerini koroner arter ve sağlıklı dokuda da incelemişlerdir. Ancak bununla ilgili yapılan çalışma sayısı çok az ve örnek sayıları kısıtlı idi. Literatürde kullanılan sağlıklı doku otopsi örneklerinden alınmıştı. Bundan yola çıkılarak daha sonra ateroskleroza bulunmayan sağlıklı bireylerden sağlıklı arter dokusu toplanması arayışına gidilecektir. Çalışma sonuçlarımız literatürde çalışma azlığı ve insan doku örneklerinde çok az çalışılmış olması nedeniyle literatüre katkı sağlayacaktır.

İdeal bir biyobelirteç invaziv girişim gerektirmemeli ve kararlı, yüksek duyarlılık ve özgüllükle kolayca saptanabilmelidir. Dolaşımdaki lncRNA'ların kardiyovasküler hastalığın teşhisi/prognozunda kullanıldığına dair çok az kanıt rapor edilmiştir. Bizim sonuçlarımız bu iki lncRNA'nın ateroskleroz için biyobelirteç adayı olabileceğini göstermektedir. Ancak bulgularımızın desteklenmesi ve lncRNA'ların tanı biyobelirteci ve terapötik aday olarak kullanılma potansiyelini vurgulamak için fonksiyonel *in vitro* ve *in vivo* çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Jebari-Benslaiman, S., Galicia-García, U., Larrea-Sebal, A., Olaetxea, J.R., Alloza, I., Vandenbroeck, K., Benito-Vicente, A., Martin, C. (2022). Pathophysiology of Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6):3346.
2. Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (2014). Kan Damarları. İçinde: Tuzlalı, S., Güllüoğlu, M., Çevikbaş, U. (Ed.). *Robbins Temel Patoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 327–63.
3. Wang, M., Cheng, L., Xiang, Q., Gao, Z., Ding, Y., Xie, H., Chen, X., Yu, P., Shen, L. (2023). Evaluation the role of cuproptosis-related genes in the pathogenesis, diagnosis and molecular subtypes identification of atherosclerosis. *Heliyon*. 9(10):e21158.
4. Gupta, K.K., Ali, S., Sanghera, R.S. (2019). Pharmacological Options in Atherosclerosis: A Review of the Existing Evidence. *Cardiology and Therapy*, 8(1):5–20.
5. Libby, P., Buring, J.E., Badimon, L., Hansson, G.K., Deanfield, J., Bittencourt, M.S., Tokgözoğlu, L. Lewis, E.F. (2019). Atherosclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*. 5(1):56.
6. Mahmoudi M. (2022). The pathogenesis of atherosclerosis. *Medicine*, 50(7):395–398.
7. Ismail, N., Abdullah, N., AbdulMurad, N.A., Jamal, R., Sulaiman, S.A. (2021). Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) in Cardiovascular Disease Complication of Type 2 Diabetes. *Diagnostics*, 11(1):145.
8. Wang, Q., Wan, Y.Y., Li, N., Zhang, P., Guo, K., Liu, B. (2022). The Mechanism Underlying the Regulation of LncRNA-ASLNC18810 Involved in the Abnormal Function of Vascular Endothelial Cell in Atherosclerosis: Its Function as a microRNA (miRNA) Sponge for miR-559. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 15(5):1010–23.
9. Grundy, S.M., Stone, N.J., Bailey, A.L., Beam, C., Birtcher, K.K., Blumenthal, R.S., Braun, L.T., de Ferranti, S., Faiella-Tommasino, J., Forman, D.E., Goldberg, R., Heidenreich, P.A., Hlatky, M.A., Jones, D.W., Lloyd-Jones, D., Lopez-Pajares, N., Ndumele, C.E., Orringer, C.E., Peralta, C.A., Saseen, J.J., Smith, S.C. Jr, Sperling, L., Virani, S.S., Yeboah, J. (2019). 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 139 (25), e1082–e1143.
10. Aprotosoaie, A.C., Costache, A.D., Costache, I.I. (2022). Therapeutic Strategies and Chemoprevention of Atherosclerosis: What Do We Know and Where Do We Go? *Pharmaceutics*, 14(4):722.
11. Pahwa, R., Jialal, I. (8 Ağustos 2023). *Atherosclerosis*. (18.03.2024). StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507799/>
12. Lechner, K., von Schacky, C., McKenzie, A. L., Worm, N., Nixdorff, U., Lechner, B., Kräinkel, N., Halle, M., Krauss, R. M., & Scherr, J. (2020). Lifestyle factors and high-risk atherosclerosis: Pathways and mechanisms beyond traditional risk factors. *European Journal of Preventive Cardiology*, 27(4), 394–406.
13. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration. (2010). Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *The Lancet*, 376(9753):1670–81.
14. Taniue, K., & Akimitsu, N. (2021). The Functions and Unique Features of LncRNAs in Cancer Development and Tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 632.
15. Wang, K.C., Chang, H.Y. (2011). Molecular Mechanisms of Long Noncoding RNAs. *Molecular Cell*, 43(6):904–14.
16. Gao, N., Li, Y., Li, J., Gao, Z., Yang, Z., Li, Y., Liu, H., Fan, T. (2020). Long Non-Coding RNAs: The Regulatory Mechanisms, Research Strategies, and Future Directions in Cancers. *Frontiers in Oncology*, 10, 598817.
17. Uchida, S., Dimmeler, S. (2015). Long noncoding RNAs in cardiovascular diseases. *Circulation Research*, 116(4), 737–750.
18. Quinn, J. J., Chang, H.Y. (2016). Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nature reviews. Genetics*, 17(1), 47–62.

19. Bridges, M.C., Daulagala, A.C., Kourtidis, A. (2021). LNCcation: lncRNA localization and function. *Journal of Cell Biology*, 220(2);e202009045.
20. Kazimierczyk, M., Kasprzycz, M.K., Kasprzyk, M.E., Wrzesinski, J. (2020). Human Long Noncoding RNA Interactome: Detection, Characterization and Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 1027
21. Zhang, X., Wang, W., Zhu, W., Dong, J., Cheng, Y., Yin, Z., Shen, F. (2019). Mechanisms and Functions of Long Non-Coding RNAs at Multiple Regulatory Levels. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5573.
22. Zhang, P., Wu, W., Chen, Q., Chen, M. (2019). Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *Journal of Integrative Bioinformatics*, 16(3), 20190027.
23. Pierce, J. B., Feinberg, M. W. (2020). Long Noncoding RNAs in Atherosclerosis and Vascular Injury: Pathobiology, Biomarkers, and Targets for Therapy. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 40(9), 2002–2017.
24. Cao, M., Luo, H., Li, D., Wang, S., Xuan, L., Sun, L. (2022). Research advances on circulating long noncoding RNAs as biomarkers of cardiovascular diseases. *International Journal of Cardiology*, 353, 109–117.
25. Berezin, AE. (2022). Cell-free long noncoding RNAs as predictive biomarkers for cardiovascular diseases. *International Journal of Cardiology*, 359:115–117.
26. Taylor, A.M., Bordoni, B. (1 Mayıs 2023). *Histology, Blood Vascular System*. (18.03.2024). StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553217/>
27. Sabra, M., Karbasiafshar, C., Aboulgheit, A., Raj, S., Abid, M.R., Sellke, F.W. (2021). Clinical Application of Novel Therapies for Coronary Angiogenesis: Overview, Challenges, and Prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3722.
28. Kierszenbaum, A.L., Tres, L.L. (2021). Kalp-Damar Sistemi Bölümü. İçinde: Demir, R. (Ed.). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*. 4th ed. 2021.
29. Yıldırım M. (2016). *Çekirdek Eğitim Programı Çerçevesinde Temel İnsan Anatomisi*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
30. Tucker, W.D., Arora, Y., Mahajan, K. (8 Ağustos 2023). *Anatomy, Blood Vessels*. (18.03.2024). StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470401/>
31. Bachar, B.J., Manna, B. (8 Ağustos 2023). *Coronary Artery Bypass Graft*. (18.03.2024). StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507836/>
32. Cao, M., Luo, H., Li, D., Wang, S., Xuan, L., & Sun, L. (2022). Research advances on circulating long noncoding RNAs as biomarkers of cardiovascular diseases. *International Journal of Cardiology*, 353, 109–117.
33. World Health Organisation. *Cardiovascular diseases* (Internette) 2021, Temmuz. Erişim 20.02.2024, [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)?gad_source=1&gclid=CjwKCAjw88yxBhBWEiwA7cm6pY4q01h9OYM0n9u1Nt1rylQGmpzX0jg8Wtb9Gh-P8j5YZaBncbquKxoCLlgQAvD_BwE](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)?gad_source=1&gclid=CjwKCAjw88yxBhBWEiwA7cm6pY4q01h9OYM0n9u1Nt1rylQGmpzX0jg8Wtb9Gh-P8j5YZaBncbquKxoCLlgQAvD_BwE)
34. Sun, X., Deng, K., Zang, Y., Zhang, Z., Zhao, B., Fan, J., Huang, L. (2021). Exploring the regulatory roles of circular RNAs in the pathogenesis of atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*, 141, 106898.
35. Kawai, K., Finn, A.V., Virmani, R., Subclinical Atherosclerosis Collaborative (2024). Subclinical Atherosclerosis: Part 1: What Is it? Can it Be Defined at the Histological Level?. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 44(1), 12–23.
36. Alfarişi, H.A.H., Mohamed, Z.B.H., Ibrahim, M. Bin. (2020). Basic pathogenic mechanisms of atherosclerosis. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1):116–25.
37. Fan, J., Watanabe, T. (2022). Atherosclerosis: Known and unknown. *Pathology International*, 72(3), 151–160.
38. Ishida, M., Sakai, C., Ishida, T. (2023). Role of DNA damage in the pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of Cardiology*, 81(4), 331–336.
39. Kraler, S., Libby, P., Evans, P.C., Akhmedov, A., Schmiady, M.O., Reinehr, M., Camici, G., Lüscher, T.F. (2021). Resilience of the Internal Mammary Artery to Atherogenesis: Shifting From Risk to Resistance to Address Unmet Needs. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular biology*, 41(8), 2237–2251.

40. Shi, X., Wei, Y.T., Li, H., Jiang, T., Zheng, X.L., Yin, K., Zhao, G.J. (2020). Long non-coding RNA H19 in atherosclerosis: what role?. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 26(1), 72.
41. Ren, K., Xu, X.D., Yu, X.H., Li, M.Q., Shi, M.W., Liu, Q.X., Jiang, T., Zheng, X.L., Yin, K., Zhao, G.J. (2020). LncRNA-modulated autophagy in plaque cells: a new paradigm of gene regulation in atherosclerosis?. *Aging*, 12(21), 22335–22349.
42. Libby P. (2024). Inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*, 154:107255.
43. Barquera, S., Pedroza-Tobías, A., Medina, C., Hernández-Barrera, L., Bibbins-Domingo, K., Lozano, R., Moran, A.E. (2015). Global Overview of the Epidemiology of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Archives of Medical Research*, 46(5), 328–338.
44. Khatana, C., Saini, N.K., Chakrabarti, S., Saini, V., Sharma, A., Saini, R.V., Saini, A. K. (2020). Mechanistic Insights into the Oxidized Low-Density Lipoprotein-Induced Atherosclerosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020;5245308.
45. Tian, S., Yuan, Y., Li, Z., Gao, M., Lu, Y., Gao, H. (2018). LncRNA UCA1 sponges miR-26a to regulate the migration and proliferation of vascular smooth muscle cells. *Gene*, 673, 159–166.
46. Zhou, Y., Zhang, S., Ji, W., Gan, X., Hua, L., Hou, C., Chen, J., Wang, Y., He, S., Zhou, H., Jia, E. (2021). LncRNA Landscape of Coronary Atherosclerosis Reveals Differentially Expressed LncRNAs in Proliferation and Migration of Coronary Artery Smooth Muscle Cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 656636.
47. Orekhov, A.N., Sukhorukov, V.N., Nikiforov, N.G., Kubekina, M.V., Sobenin, I.A., Foxx, K.K., Pintus, S., Stegmaier, P., Stelmashenko, D., Kel, A., Poznyak, A.V., Wu, W.K., Kasianov, A.S., Makeev, V.Y., Manabe, I., Oishi, Y. (2020). Signaling Pathways Potentially Responsible for Foam Cell Formation: Cholesterol Accumulation or Inflammatory Response-What is First?. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8), 2716.
48. Fasolo, F., Di Gregoli, K., Maegdefessel, L., Johnson, J.L. (2019). Non-coding RNAs in cardiovascular cell biology and atherosclerosis. *Cardiovascular Research*, 115(12), 1732–1756.
49. Alonso-Herranz, L., Albarrán-Juárez, J., Bentzon, J.F. (2023). Mechanisms of fibrous cap formation in atherosclerosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 1254114.
50. Schaar, J.A., Muller, J.E., Falk, E., Virmani, R., Fuster, V., Serruys, P.W., Colombo, A., Stefanadis, C., Ward Casscells, S., Moreno, P.R., Maseri, A., van der Steen, A.F. (2004). Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece. *European Heart Journal*, 25(12), 1077–1082.
51. Ray, A., Maharana, K., Meenakshi, S., Singh, S. (2023). Endothelial dysfunction and its relation in different disorders: Recent update. *Health Sciences Review*, 7:100084.
52. Stary, H.C., Chandler, A.B., Dinsmore, R.E., Fuster, V., Glagov, S., Insull, W., Jr, Rosenfeld, M. E., Schwartz, C.J., Wagner, W.D., Wissler, R.W. (1995). A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, 92(5), 1355–1374.
53. Watson, M.G., Byrne, H.M., Macaskill, C., Myerscough, M.R. (2018). A two-phase model of early fibrous cap formation in atherosclerosis. *Journal of Theoretical Biology*, 456, 123–136.
54. Martos-Rodríguez, C. J., Albarrán-Juárez, J., Morales-Cano, D., Caballero, A., MacGrogan, D., de la Pompa, J.L., Carramolino, L., Bentzon, J.F. (2021). Fibrous Caps in Atherosclerosis Form by Notch-Dependent Mechanisms Common to Arterial Media Development. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 41(9), e427–e439.
55. Yang, R., Yao, L., Du, C., Wu, Y. (2021). Identification of key pathways and core genes involved in atherosclerotic plaque progression. *Annals of Translational Medicine*, 9(3), 267.
56. Liu, X., He, W., Hong, X., Li, D., Chen, Z., Wang, Y., Chen, Z., Luan, Y., Zhang, W. (2022). New insights into fibrous cap thickness of vulnerable plaques assessed by optical coherence tomography. *BMC Cardiovascular Disorders*, 22(1), 484.
57. Li, M., Wang, Z.W., Fang, L.J., Cheng, S.Q., Wang, X., Liu, N.F. (2022). Programmed cell death in atherosclerosis and vascular calcification. *Cell Death & Disease*, 13(5), 467.
58. Falk, E., Nakano, M., Bentzon, J.F., Finn, A.V., & Virmani, R. (2013). Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. *European Heart Journal*, 34(10), 719–728.

59. Petkovic, A., Erceg, S., Munjas, J., Ninic, A., Vladimirov, S., Davidovic, A., Vukmirovic, L., Milanov, M., Cvijanovic, D., Mitic, T., Sopic, M. (2023). LncRNAs as Regulators of Atherosclerotic Plaque Stability. *Cells*, 12(14), 1832.
60. van Veelen, A., van der Sangen, N.M.R., Henriques, J.P.S., Claessen, B.E.P.M. (2022). Identification and treatment of the vulnerable coronary plaque. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 23(1), 39.
61. Naghavi, M., Libby, P., Falk, E., Casscells, S.W., Litovsky, S., Rumberger, J., Badimon, J. J., Stefanadis, C., Moreno, P., Pasterkamp, G., Fayad, Z., Stone, P. H., Waxman, S., Raggi, P., Madjid, M., Zarrabi, A., Burke, A., Yuan, C., Fitzgerald, P.J., Siscovick, D.S., ... Willerson, J. T. (2003). From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*, 108(14), 1664–1672.
62. Chen, Y., Waqar, A.B., Nishijima, K., Ning, B., Kitajima, S., Matsuhisa, F., Chen, L., Liu, E., Koike, T., Yu, Y., Zhang, J., Chen, Y.E., Sun, H., Liang, J., Fan, J. (2020). Macrophage-derived MMP-9 enhances the progression of atherosclerotic lesions and vascular calcification in transgenic rabbits. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(7), 4261–4274.
63. Niimi, M., Nishijima, K., Kitajima, S., Matsuhisa, F., Satoh, K., Yamazaki, H., Zhang, J., Chen, Y.E., Fan, J. (2019). Macrophage-derived matrix metalloproteinase-1 enhances aortic aneurysm formation in transgenic rabbits. *The Journal of Biomedical Research*, 33(4):271.
64. Liang, J., Liu, E., Yu, Y., Kitajima, S., Koike, T., Jin, Y., Morimoto, M., Hatakeyama, K., Asada, Y., Watanabe, T., Sasaguri, Y., Watanabe, S., Fan, J. (2006). Macrophage metalloelastase accelerates the progression of atherosclerosis in transgenic rabbits. *Circulation*, 113(16), 1993–2001.
65. Mebrat, Y. (2023). Cellular and molecular mechanisms that underlies the formation of atherosclerotic plaque and plaque rupture-review. *International Journal of Medical Biochemistry*, 6(3):210-222.
66. Yuan, Y., Xu, L., Geng, Z., Liu, J., Zhang, L., Wu, Y., He, D., Qu, P. (2021). The role of non-coding RNA network in atherosclerosis. *Life Sciences*, 265, 118756.
67. Islam, R., Lai, C. (2019). A Brief Overview of lncRNAs in Endothelial Dysfunction-Associated Diseases: From Discovery to Characterization. *Epigenomes*, 3(3), 20.
68. Khazaei, M., Moien-Afshari, F., Laher, I. (2008). Vascular endothelial function in health and diseases. *Pathophysiology: the official journal of the International Society for Pathophysiology*, 15(1), 49–67.
69. Gimbrone, M. A., Jr, & García-Cardeña, G. (2016). Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circulation Research*, 118(4), 620–636.
70. Chiu, J. J., & Chien, S. (2011). Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiological Reviews*, 91(1), 327–387.
71. Zhou, J., Li, Y.S., Chien, S. (2014). Shear stress-initiated signaling and its regulation of endothelial function. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 34(10), 2191–2198.
72. Lee, D.Y., Chiu, J.J. (2019). Atherosclerosis and flow: roles of epigenetic modulation in vascular endothelium. *Journal of Biomedical Science*, 26(1), 56.
73. Zhang, H.N., Xu, Q.Q., Thakur, A., Alfred, M.O., Chakraborty, M., Ghosh, A., Yu, X.B. (2018). Endothelial dysfunction in diabetes and hypertension: Role of microRNAs and long non-coding RNAs. *Life Sciences*, 213, 258–268.
74. da Silva, F.C., de Araújo, B.J., Cordeiro, C.S., Arruda, V.M., Faria, B.Q., Guerra, J.F.D.C., Araújo, T.G., Fürstenau, C. R. (2022). Endothelial dysfunction due to the inhibition of the synthesis of nitric oxide: Proposal and characterization of an in vitro cellular model. *Frontiers in Physiology*, 13, 978378.
75. Cyr, A.R., Huckaby, L.V., Shiva, S.S., Zuckerbraun, B.S. (2020). Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Critical Care Clinics*, 36(2), 307–321.
76. Nakagawa, K., Nakashima, Y. (2018). Pathologic intimal thickening in human atherosclerosis is formed by extracellular accumulation of plasma-derived lipids and dispersion of intimal smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 274, 235–242.
77. Herrington, W., Lacey, B., Sherliker, P., Armitage, J., Lewington, S. (2016). Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circulation Research*, 118(4), 535–546.

78. Tyrrell, D.J., Blin, M.G., Song, J., Wood, S.C., Zhang, M., Beard, D.A., Goldstein, D.R. (2020). Age-Associated Mitochondrial Dysfunction Accelerates Atherogenesis. *Circulation Research*, 126(3), 298–314.
79. Du, W., Wong, C., Song, Y., Shen, H., Mori, D., Rotllan, N., Price, N., Dobrian, A.D., Meng, H., Kleinstein, S.H., Fernandez-Hernando, C., & Goldstein, D.R. (2016). Age-associated vascular inflammation promotes monocyteosis during atherogenesis. *Aging Cell*, 15(4), 766–777.
80. Wojtasińska, A., Frąk, W., Lisińska, W., Sapeda, N., Młynarska, E., Rysz, J., Franczyk, B. (2023). Novel Insights into the Molecular Mechanisms of Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), 13434.
81. Man, J.J., Beckman, J.A., Jaffe, I.Z. (2020). Sex as a Biological Variable in Atherosclerosis. *Circulation Research*, 126(9), 1297–1319.
82. Imtiaz, C., Farooqi, M.A., Bhatti, T., Lee, J., Moin, R., Kang, C.U., Farooqi, H.M.U. (2023). Focused Ultrasound, an Emerging Tool for Atherosclerosis Treatment: A Comprehensive Review. *Life (Basel, Switzerland)*, 13(8), 1783.
83. Minhas, A., Cubero Salazar, I., Kazzi, B., Hays, A.G., Choi, A.D., Arbab-Zadeh, A., Michos, E.D. (2021). Sex-Specific Plaque Signature: Uniqueness of Atherosclerosis in Women. *Current Cardiology Reports*, 23(7), 84.
84. Siasos, G., Tsigkou, V., Kokkou, E., Oikonomou, E., Vavuranakis, M., Vlachopoulos, C., Verveniatis, A., Limperi, M., Genimata, V., Papavassiliou, A.G., Stefanadis, C., Tousoulis, D. (2014). Smoking and atherosclerosis: mechanisms of disease and new therapeutic approaches. *Current Medicinal Chemistry*, 21(34), 3936–3948.
85. Ambrose, J.A., Barua, R.S. (2004). The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(10), 1731–1737.
86. Aminuddin, A., Cheong, S.S., Roos, N.A.C., Ugusman, A. (2023). Smoking and Unstable Plaque in Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review of The Role of Matrix Metalloproteinases. *International Journal of Medical Sciences*, 20(4), 482–492.
87. Hurtubise, J., McLellan, K., Durr, K., Onasanya, O., Nwabuko, D., Ndisang, J.F. (2016). The Different Facets of Dyslipidemia and Hypertension in Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 18(12), 82.
88. Kattoor, A.J., Pothineni, N.V.K., Palagiri, D., Mehta, J.L. (2017). Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 19(11), 42.
89. Xiang, Q., Tian, F., Xu, J., Du, X., Zhang, S., Liu, L. (2022). New insight into dyslipidemia-induced cellular senescence in atherosclerosis. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 97(5), 1844–1867.
90. Kumric, M., Urlic, H., Bozic, J., Vilovic, M., Ticinovic Kurir, T., Glavas, D., Miric, D., Zanchi, J., Bradaric-Slujo, A., Lozo, M., Borovac, J.A. (2023). Emerging Therapies for the Treatment of Atherosclerotic Cardiovascular Disease: From Bench to Bedside. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 8062.
91. Poznyak, A.V., Sukhorukov, V.N., Eremin, I.I., Nadelyaeva, I.I., Orekhov, A.N. (2023). Diagnostics of atherosclerosis: Overview of the existing methods. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 1134097.
92. Hartley, A., Haskard, D., Khamis, R. (2019). Oxidized LDL and anti-oxidized LDL antibodies in atherosclerosis - Novel insights and future directions in diagnosis and therapy. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 29(1), 22–26.
93. Bordeianu, G., Mitu, I., Stanescu, R.S., Ciobanu, C.P., Petrescu-Danila, E., Marculescu, A.D., Dimitriu, D.C. (2022). Circulating Biomarkers for Laboratory Diagnostics of Atherosclerosis-Literature Review. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 12(12), 3141.
94. Jensen, M.D., Ryan, D.H., Apovian, C.M., Ard, J.D., Comuzzie, A.G., Donato, K.A., Hu, F.B., Hubbard, V.S., Jakicic, J.M., Kushner, R.F., Loria, C.M., Millen, B.E., Nonas, C.A., Pi-Sunyer, F.X., Stevens, J., Stevens, V.J., Wadden, T.A., Wolfe, B.M., Yanovski, S.Z., Jordan, H.S., ... Obesity Society (2014). 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*, 129(25 Suppl 2), S102–S138.
95. Eckel, R.H., Jakicic, J.M., Ard, J.D., de Jesus, J.M., Houston Miller, N., Hubbard, V.S., Lee, I.M., Lichtenstein, A.H., Loria, C.M., Millen, B.E., Nonas, C.A., Sacks, F.M., Smith, S.C., Jr, Svetkey,

- L.P., Wadden, T.A., Yanovski, S.Z., Kendall, K.A., Morgan, L.C., Trisolini, M.G., Velasco, G., ... American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (2014). 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*, 129(25 Suppl 2), S76–S99.
96. Jones, J.E., Tang, K.S., Barseghian, A., Wong, N.D. (2023). Evolution of More Aggressive LDL-Cholesterol Targets and Therapies for Cardiovascular Disease Prevention. *Journal of Clinical Medicine*, 12(23), 7432.
 97. Kong, P., Cui, Z.Y., Huang, X.F., Zhang, D.D., Guo, R.J., Han, M. (2022). Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 131.
 98. Cariou, B., Ding, Z., Mehta, J.L. (2016). PCSK9 and atherosclerosis: Beyond LDL-cholesterol lowering. *Atherosclerosis*, 253, 275–277.
 99. Diodato, M., & Chedrawy, E. G. (2014). Coronary artery bypass graft surgery: the past, present, and future of myocardial revascularisation. *Surgery Research and Practice*, 2014:726158.
 100. Ference, B.A., Ginsberg, H.N., Graham, I., Ray, K.K., Packard, C.J., Bruckert, E., Hegele, R.A., Krauss, R.M., Raal, F.J., Schunkert, H., Watts, G.F., Borén, J., Fazio, S., Horton, J.D., Masana, L., Nicholls, S.J., Nordestgaard, B.G., van de Sluis, B., Taskinen, M.R., Tokgözoğlu, L., ... Catapano, A.L. (2017). Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *European Heart Journal*, 38(32), 2459–2472.
 101. Kovacic, S., Bakran, M. (2012). Genetic susceptibility to atherosclerosis. *Stroke Research and Treatment*, 2012:362941.
 102. Seidman, M.A., Mitchell, R.N., Stone, J.R. (2014). Pathophysiology of Atherosclerosis. Willis, M.S., Homeister, J.W., Stone, J.R. (Ed.). *Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease*. 221–37.
 103. Real, J.T., Ascaso, J.F. (2021). Lipid metabolism and classification of hyperlipaemias. Metabolismo lipídico y clasificación de las hiperlipemias. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis*, 33 Suppl 1, 3–9.
 104. Marais, A.D. (2019). Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health and cardiovascular disease. *Pathology*, 51(2):165–176.
 105. Abifadel, M., Boileau, C. (2023). Genetic and molecular architecture of familial hypercholesterolemia. *Journal of Internal Medicine*, 293(2), 144–165.
 106. Wang, D., Farhana, A. (29 Temmuz 2023). *Biochemistry, RNA Structure*. (10.02.2024). StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558999/>
 107. Lekka, E., Hall, J. (2018). Noncoding RNAs in disease. *FEBS Letters*, 592(17), 2884–2900.
 108. Yan, H., Bu, P. (2021). Non-coding RNA in cancer. *Essays in Biochemistry*, 65(4), 625–639.
 109. Poller, W., Dimmeler, S., Heymans, S., Zeller, T., Haas, J., Karakas, M., Leistner, D.M., Jakob, P., Nakagawa, S., Blankenberg, S., Engelhardt, S., Thum, T., Weber, C., Meder, B., Hajjar, R., Landmesser, U. (2018). Non-coding RNAs in cardiovascular diseases: diagnostic and therapeutic perspectives. *European Heart Journal*, 39(29), 2704–2716.
 110. Das, T., Das, T.K., Khodarkovskaya, A., Dash, S. (2021). Non-coding RNAs and their bioengineering applications for neurological diseases. *Bioengineered*, 12(2), 11675–11698.
 111. Majeed Shah, I., Ahmad Dar, M., Ahmad Bhat, K., Ahmad Dar, T., Ahmad, F., Mudassir Ahmad, S. (2022). Long Non-Coding RNAs: Biogenesis, Mechanism of Action and Role in Different Biological and Pathological Processes. İçinde: Tutar, L. (Ed.). *Recent Advances in Noncoding RNAs*, IntechOpen.
 112. Yang, J.X., Rastetter, R.H., Wilhelm, D. (2016). Non-coding RNAs: An Introduction. İçinde: Wilhelm, D., Bernard, P. (Ed.). *Non-coding RNA and the Reproductive System. Advances in Experimental Medicine and Biology*, 886. Springer: Dordrecht.
 113. Jodar, M., Anton, E. (2018). Small RNAs Present in Semen and Their Role in Reproduction. İçinde: Horcajadas, J.A., Gosálvez, J. (Ed.). *Reproductomics*. Elsevier; 109–23.
 114. Hombach, S., Kretz, M. (2016). Non-coding RNAs: Classification, Biology and Functioning. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 937, 3–17.

115. Fernandes, J. C. R., Acuña, S. M., Aoki, J. I., Floeter-Winter, L. M., & Muxel, S. M. (2019). Long Non-Coding RNAs in the Regulation of Gene Expression: Physiology and Disease. *Non-coding RNA*, 5(1), 17.
116. Kopp, F., Mendell, J.T. (2018). Functional Classification and Experimental Dissection of Long Noncoding RNAs. *Cell*, 172(3):393–407.
117. Tamtaji, O.R., Derakhshan, M., Rashidi Noshabad, F.Z., Razaviyan, J., Hadavi, R., Jafarpour, H., Jafari, A., Rajabi, A., Hamblin, M.R., Mahabady, M.K., Taghizadieh, M., Mirzaei, H. (2022). Non-Coding RNAs and Brain Tumors: Insights Into Their Roles in Apoptosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 792185.
118. Mousavi, S.M., Derakhshan, M., Baharlooi, F., Dashti, F., Mirazimi, S.M.A., Mahjoubin-Tehran, M., Hosseindoost, S., Goleij, P., Rahimian, N., Hamblin, M.R., Mirzaei, H. (2021). Non-coding RNAs and glioblastoma: Insight into their roles in metastasis. *Molecular Therapy Oncolytics*, 24, 262–287.
119. Yao, R.W., Wang, Y., Chen, L.L. (2019). Cellular functions of long noncoding RNAs. *Nature Cell Biology*, 21(5), 542–551.
120. Zhou, H., Wang, B., Yang, Y. X., Jia, Q. J., Zhang, A., Qi, Z. W., & Zhang, J. P. (2019). Long Noncoding RNAs in Pathological Cardiac Remodeling: A Review of the Update Literature. *BioMed Research International*, 2019:7159592.
121. GENCODE - Human Release 45. (Erişim Tarihi: 16 Nisan 2024, <https://www.encodegenes.org/human/>)
122. Tao, S., Hou, Y., Diao, L., Hu, Y., Xu, W., Xie, S., Xiao, Z. (2022). Long noncoding RNA study: Genome-wide approaches. *Genes & Diseases*, 10(6), 2491–2510.
123. Chen, L., Qu, H., Guo, M., Zhang, Y., Cui, Y., Yang, Q., Bai, R., Shi, D. (2020). ANRIL and atherosclerosis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 45(2), 240–248.
124. Josefs, T., Boon, R.A. (2020). The Long Non-coding Road to Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 22(10), 55.
125. Wu, B., Zhang, Y., Yu, Y., Zhong, C., Lang, Q., Liang, Z., Lv, C., Xu, F., Tian, Y. (2021). Long Noncoding RNA H19: A Novel Therapeutic Target Emerging in Oncology Via Regulating Oncogenic Signaling Pathways. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 796740.
126. Krackowska, W., Jagodziński, P.P. (2019). The Long Non-Coding RNA Landscape of Atherosclerotic Plaques. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 23(6), 735–749.
127. Carlevaro-Fita, J., Rahim, A., Guigó, R., Vardy, L.A., Johnson, R. (2016). Cytoplasmic long noncoding RNAs are frequently bound to and degraded at ribosomes in human cells. *RNA (New York, N.Y.)*, 22(6), 867–882.
128. Grammatikakis, I., Lal, A. (2022). Significance of lncRNA abundance to function. *Mammalian Genome*, 33(2):271–280.
129. Kim, K.M., Noh, J.H., Abdelmohsen, K., Gorospe, M. (2017). Mitochondrial noncoding RNA transport. *BMB Reports*, 50(4), 164–174.
130. Xing, J., Liu, H., Jiang, W., Wang, L. (2021). LncRNA-Encoded Peptide: Functions and Predicting Methods. *Frontiers in Oncology*, 10, 622294.
131. Yin, X., Jing, Y., & Xu, H. (2019). Mining for missed sORF-encoded peptides. *Expert Review of Proteomics*, 16(3), 257–266.
132. Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2021). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(2), 96–118.
133. Carlevaro-Fita, J., Rahim, A., Guigó, R., Vardy, L.A., & Johnson, R. (2016). Cytoplasmic long noncoding RNAs are frequently bound to and degraded at ribosomes in human cells. *RNA (New York, N.Y.)*, 22(6), 867–882.
134. Herman, A.B., Tsitsipatis, D., Gorospe, M. (2022). Integrated lncRNA function upon genomic and epigenomic regulation. *Molecular Cell*, 82(12), 2252–2266.
135. Bure, I.V., Nemtsova, M.V., Kuznetsova, E.B. (2022). Histone Modifications and Non-Coding RNAs: Mutual Epigenetic Regulation and Role in Pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5801.
136. Wang, C., Wang, L., Ding, Y., Lu, X., Zhang, G., Yang, J., Zheng, H., Wang, H., Jiang, Y., Xu, L. (2017). LncRNA Structural Characteristics in Epigenetic Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), 2659.

- 137.Liu, Y., Ding, W., Yu, W., Zhang, Y., Ao, X., Wang, J. (2021). Long non-coding RNAs: Biogenesis, functions, and clinical significance in gastric cancer. *Molecular Therapy Oncolytics*, 23, 458–476.
- 138.Mattick, J.S., Amaral, P.P., Carninci, P., Carpenter, S., Chang, H.Y., Chen, L.L., Chen, R., Dean, C., Dinger, M.E., Fitzgerald, K.A., Gingeras, T.R., Guttman, M., Hirose, T., Huarte, M., Johnson, R., Kanduri, C., Kapranov, P., Lawrence, J.B., Lee, J.T., Mendell, J.T., ... Wu, M. (2023). Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 24(6), 430–447.
- 139.Bai, H.L., Lu, Z.F., Zhao, J.J., Ma, X., Li, X.H., Xu, H., Wu, S.G., Kang, C.M., Lu, J.B., Xu, Y.J., Xiao, L., Wu, Q., Ye, S., Wang, Q., Zheng, L., Hu, Y. W. (2019). Microarray profiling analysis and validation of novel long noncoding RNAs and mRNAs as potential biomarkers and their functions in atherosclerosis. *Physiological Genomics*, 51(12), 644–656.
- 140.Vaasjo L.O. (2022). LncRNAs and Chromatin Modifications Pattern m6A Methylation at the Untranslated Regions of mRNAs. *Frontiers in Genetics*, 13, 866772.
- 141.Beermann, J., Piccoli, M.T., Viereck, J., Thum, T. (2016). Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. *Physiological Reviews*, 96(4), 1297–1325.
- 142.Monteiro, J.P., Bennett, M., Rodor, J., Caudrillier, A., Ulitsky, I., Baker, A.H. (2019). Endothelial function and dysfunction in the cardiovascular system: the long non-coding road. *Cardiovascular Research*, 115(12), 1692–1704.
- 143.Jarroux, J., Morillon, A., Pinskaya, M. (2017). History, Discovery, and Classification of lncRNAs. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1008, 1–46.
- 144.Wang, H., Guan, Z., He, K., Qian, J., Cao, J., Teng, L. (2017). LncRNA UCA1 in anti-cancer drug resistance. *Oncotarget*, 8(38), 64638–64650.
- 145.Panda, S., Shiras, A., Bapat, S.A. (2018). Long Noncoding RNAs: Insight Into Their Roles in Normal and Cancer Stem Cells. İçinde Chakrabarti, J., Mitra, S (Ed.): *Cancer and Noncoding RNAs*. 409–427.
- 146.Jayasuriya, R., Ganesan, K., Xu, B., Ramkumar, K. M. (2022). Emerging role of long non-coding RNAs in endothelial dysfunction and their molecular mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 145, 112421.
- 147.Faghihi, M. A., Zhang, M., Huang, J., Modarresi, F., Van der Brug, M.P., Nalls, M.A., Cookson, M.R., St-Laurent, G., Wahlestedt, C. (2010). Evidence for natural antisense transcript-mediated inhibition of microRNA function. *Genome Biology*, 11(5), R56.
- 148.Dykes, I.M., Emanueli, C. (2017). Transcriptional and Post-transcriptional Gene Regulation by Long Non-coding RNA. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 15(3), 177–186.
- 149.Cesana, M., Cacchiarelli, D., Legnini, I., Santini, T., Sthandier, O., Chinappi, M., Tramontano, A., & Bozzoni, I. (2011). A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell*, 147(2), 358–369.
- 150.Geisler, S., Coller, J. (2013). RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(11), 699–712.
- 151.Kino, T., Hurt, D.E., Ichijo, T., Nader, N., Chrousos, G.P. (2010). Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Science Signaling*, 3(107), ra8.
- 152.Huang, W., Li, H., Yu, Q., Xiao, W., & Wang, D. O. (2022). LncRNA-mediated DNA methylation: an emerging mechanism in cancer and beyond. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 41(1), 100.
- 153.Zhao, Z., Sun, W., Guo, Z., Zhang, J., Yu, H., Liu, B. (2020). Mechanisms of lncRNA/microRNA interactions in angiogenesis. *Life Sciences*, 254, 116900.
- 154.Heskett, M.B., Spellman, P.T., Thayer, M.J. (2021). Differential Allelic Expression among Long Non-Coding RNAs. *Non-coding RNA*, 7(4), 66.
- 155.Robb, G.B., Carson, A.R., Tai, S.C., Fish, J.E., Singh, S., Yamada, T., Scherer, S.W., Nakabayashi, K., Marsden, P.A. (2004). Post-transcriptional regulation of endothelial nitric-oxide synthase by an overlapping antisense mRNA transcript. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(36), 37982–37996.

156. Fish, J.E., Matouk, C.C., Yeboah, E., Bevan, S.C., Khan, M., Patil, K., Ohh, M., Marsden, P.A. (2007). Hypoxia-inducible expression of a natural cis-antisense transcript inhibits endothelial nitric-oxide synthase. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(21), 15652–15666..
157. Ghafouri-Fard, S., Taheri, M. (2019). UCA1 long non-coding RNA: An update on its roles in malignant behavior of cancers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 120, 109459.
158. UCA1 Gene – GeneCards UCA1 RNA Gene. (Erişim Tarihi: 28 Mart 2024). <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=UCA1>.
159. Liu, Z., Wang, Y., Yuan, S., Wen, F., Liu, J., Zou, L., Zhang, J. (2021). Regulatory role of long non-coding RNA UCA1 in signaling pathways and its clinical applications. *Oncology Letters*, 21(5), 404.
160. Hu, X., Ma, R., Fu, W., Zhang, C., Du, X. (2019). LncRNA UCA1 sponges miR-206 to exacerbate oxidative stress and apoptosis induced by ox-LDL in human macrophages. *Journal of Cellular Physiology*, 234(8), 14154–14160
161. Lu, S., Liang, Q., Huang, Y., Meng, F., Liu, J. (2020). Definition and review on a category of long non-coding RNA: Atherosclerosis-associated circulating lncRNA (ASCLncRNA). *PeerJ*, 8, e10001.
162. APPAT atherosclerotic plaque pathogenesis associated transcript - Gene - NCBI. (Erişim Tarihi: 19 Temmuz 2023). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100506123>
163. APPAT Gene – GeneCards APPAT RNA Gene. (Erişim Tarihi: 28 Mart 2024). <https://www.genecards.org/Cgi-Bin/Carddisp.Pl?Gene=APPAT#snp>.
164. Meng, F., Yan, J., Ma, Q., Jiao, Y., Han, L., Xu, J., Yang, F., Liu, J. (2018). Expression status and clinical significance of lncRNA APPAT in the progression of atherosclerosis. *PeerJ*, 6, e4246.
165. Loughrey, C.M., Young, I.S. (2014). Clinical Biochemistry of the Cardiovascular System. İçinde Marshall, W.J., Lapsley, M., Day, A.P., Ayling, R.M. (Ed.). *Clinical Biochemistry Metabolic and Clinical Aspects*. Elsevier; 737–66.
166. Tetik, S., Tanrıverdi, B. (2016). Aterosklerozun Patofizyolojisi ve Risk Faktörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(24530), 1–9.
167. Wang, J.K., Li, Y., Zhao, X.L., Liu, Y.B., Tan, J., Xing, Y.Y., Adi, D., Wang, Y.T., Fu, Z.Y., Ma, Y.T., Liu, S.M., Liu, Y., Wang, Y., Shi, X.J., Lu, X.Y., Song, B.L., Luo, J. (2022). Ablation of Plasma Prekallikrein Decreases Low-Density Lipoprotein Cholesterol by Stabilizing Low-Density Lipoprotein Receptor and Protects Against Atherosclerosis. *Circulation*, 145(9), 675–687.
168. Aryal, B., Suárez, Y. (2019). Non-coding RNA regulation of endothelial and macrophage functions during atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*, 114, 64–75.
169. Hanson, M. (2005). Endothelial dysfunction and cardiovascular disease: the role of predictive adaptive responses. *Heart*, 91(7):864–866.
170. Pober, J.S., Sessa, W.C. (2007). Evolving functions of endothelial cells in inflammation. Nature reviews. *Immunology*, 7(10), 803–815.
171. Wang, H.H., Garruti, G., Liu, M., Portincasa, P., Wang, D.Q. (2017). Cholesterol and Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis: Recent Advances in Reverse Cholesterol Transport. *Annals of Hepatology*, 16(Suppl. 1: s3-105.), s27–s42.
172. An, J., Zhang, Y., Zhou, H., Zhou, M., Safford, M. M., Muntner, P., Moran, A. E., & Reynolds, K. (2023). Incidence of Atherosclerotic Cardiovascular Disease in Young Adults at Low Short-Term But High Long-Term Risk. *Journal of the American College of Cardiology*, 81(7), 623–632.
173. Schoch, L., Alcover, S., Padró, T., Ben-Aicha, S., Mendieta, G., Badimon, L., Vilahur, G. (2023). Update of HDL in atherosclerotic cardiovascular disease. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis*, 35(6), 297–314.
174. Rosenson, R.S., Brewer, H.B., Jr, Ansell, B.J., Barter, P., Chapman, M.J., Heinecke, J.W., Kontush, A., Tall, A.R., Webb, N.R. (2016). Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease. Nature reviews. *Cardiology*, 13(1), 48–60.
175. Casula, M., Colpani, O., Xie, S., Catapano, A.L., Baragetti, A. (2021). HDL in Atherosclerotic Cardiovascular Disease: In Search of a Role. *Cells*, 10(8), 1869.
176. Kjeldsen, E.W., Thomassen, J.Q., Frikke-Schmidt, R. (2022). HDL cholesterol concentrations and risk of atherosclerotic cardiovascular disease - Insights from randomized clinical trials and human genetics. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1867(1), 159063.

177. Guijarro, C., Cosín-Sales, J. (2021). LDL cholesterol and atherosclerosis: The evidence. *Colesterol LDL y aterosclerosis: evidencias. Clinica e investigacion en arteriosclerosis: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis*, 33 Suppl 1, 25–32.
178. Fernández-Friera, L., Fuster, V., López-Melgar, B., Oliva, B., García-Ruiz, J.M., Mendiguren, J., Bueno, H., Pocock, S., Ibáñez, B., Fernández-Ortiz, A., Sanz, J. (2017). Normal LDL-Cholesterol Levels Are Associated with Subclinical Atherosclerosis in the Absence of Risk Factors. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(24), 2979–2991.
179. Ravnskov, U., de Lormier, M., Diamond, D.M., Hama, R., Hamazaki, T., Hammarhjöld, B., Hynes, N., Kendrick, M., Langsjoen, P.H., Mascitelli, L., McCully, K.S., Okuyama, H., Rosch, P.J., Schersten, T., Sultan, S., Sundberg, R. (2018). LDL-C does not cause cardiovascular disease: a comprehensive review of the current literature. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 11(10), 959–970.
180. Poznyak, A., Grechko, A.V., Poggio, P., Myasoedova, V.A., Alfieri, V., Orekhov, A.N. (2020). The Diabetes Mellitus-Atherosclerosis Connection: The Role of Lipid and Glucose Metabolism and Chronic Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1835.
181. Xu, S., Zhou, B., Zhou, B., Zheng, J., Xu, Q., Wang, B., Fu, M., Meng, Y. (2022). The Level of HbA1c Evaluates the Extent of Coronary Atherosclerosis Lesions and the Prognosis in Diabetes with Acute Coronary Syndrome. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2022, 7796809.
182. Rossello, X., Raposeiras-Roubin, S., Oliva, B., Sánchez-Cabo, F., García-Ruiz, J.M., Caimari, F., Mendiguren, J. M., Lara-Pezzi, E., Bueno, H., Fernández-Friera, L., Fernández-Ortiz, A., Sanz, J., Ibanez, B., Fuster, V. (2021). Glycated Hemoglobin and Subclinical Atherosclerosis in People Without Diabetes. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(22), 2777–2791.
183. Borén, J., Taskinen, M.R., Björnson, E., Packard, C.J. (2022). Metabolism of triglyceride-rich lipoproteins in health and dyslipidaemia. *Nature Reviews Cardiology*, 19(9), 577–592.
184. Nordestgaard, B.G. (2016). Triglyceride-Rich Lipoproteins and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 118(4):547–63.
185. Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., McQueen, M., Budaj, A., Pais, P., Varigos, J., Lisheng, L., INTERHEART Study Investigators (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet (London, England)*, 364(9438), 937–952.
186. Raja, V., Aguiar, C., Alsayed, N., Chibber, Y.S., ElBadawi, H., Ezhov, M., Hermans, M.P., Pandey, R.C., Ray, K.K., Tokgözoğlu, L., Zambon, A., Berrou, J.P., Farnier, M. (2023). Non-HDL-cholesterol in dyslipidemia: Review of the state-of-the-art literature and outlook. *Atherosclerosis*, 383, 117312.
187. Castillo-Núñez, Y., Morales-Villegas, E., Aguilar-Salinas, C.A. (2022). Triglyceride-Rich Lipoproteins: Their Role in Atherosclerosis. *Revista de Investigacion Clinica; Organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion*, 74(2), 061–070.
188. Takahashi S. (2021). Role of VLDL receptor in atherogenesis. *Current Opinion in Lipidology*, 32(4), 219–225.
189. Wu, F., Juonala, M., Jacobs, D.R., Jr, Daniels, S.R., Kähönen, M., Woo, J.G., Sinaiko, A.R., Viikari, J.S.A., Bazzano, L.A., Burns, T.L., Steinberger, J., Urbina, E.M., Venn, A.J., Raitakari, O.T., Dwyer, T., Magnussen, C.G. (2024). Childhood Non-HDL Cholesterol and LDL Cholesterol and Adult Atherosclerotic Cardiovascular Events. *Circulation*, 149(3), 217–226.
190. Masson, W., Epstein, T., Huerín, M., Lobo, M., Molinero, G., Siniawski, D. (2019). Association between non-HDL-C/HDL-C ratio and carotid atherosclerosis in postmenopausal middle-aged women. *Climacteric: The Journal of the International Menopause Society*, 22(5), 518–522.
191. Kosmas, C.E., Rodriguez Polanco, S., Bousvarou, M.D., Papakonstantinou, E.J., Peña Genao, E., Guzman, E., Kostara, C.E. (2023). The Triglyceride/High-Density Lipoprotein Cholesterol (TG/HDL-C) Ratio as a Risk Marker for Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 13(5), 929.
192. Wang, B., Hua, J., Ma, L. (2022). Triglyceride to High-Density Lipoprotein Ratio can predict coronary artery calcification. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 38(3Part-I), 624–631.

193. Chauhan, A., Singhal, A., Goyal, P. (2021). TG/HDL Ratio: A marker for insulin resistance and atherosclerosis in prediabetics or not?. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 10(10), 3700–3705.
194. Wang, K., Shan, S., Zheng, H., Zhao, X., Chen, C., Liu, C. (2018). Non-HDL-cholesterol to HDL-cholesterol ratio is a better predictor of new-onset non-alcoholic fatty liver disease than non-HDL-cholesterol: a cohort study. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 196.
195. Wang, A., Li, Y., Zhou, L., Liu, K., Li, S., Zong, C., Song, B., Gao, Y., Li, Y., Tian, C., Xing, Y., Xu, Y., Wang, L. (2022). Non-HDL-C/HDL-C ratio is associated with carotid plaque stability in general population: A cross-sectional study. *Frontiers in Neurology*, 13, 875134.
196. Tao, L.C., Xu, J.N., Wang, T.T., Hua, F., Li, J.J. (2022). Triglyceride-glucose index as a marker in cardiovascular diseases: landscape and limitations. *Cardiovascular Diabetology*, 21(1), 68.
197. Lopez-Jaramillo, P., Gomez-Arbelaiz, D., Martinez-Bello, D., Abat, M.E.M., Alhabib, K.F., Avezum, Á., Barbarash, O., Chifamba, J., Diaz, M.L., Gulec, S., Ismail, N., Iqbal, R., Kelishadi, R., Khatib, R., Lanas, F., Levitt, N.S., Li, Y., Mohan, V., Mony, P.K., Poirier, P., ... Yusuf, S. (2023). Association of the triglyceride glucose index as a measure of insulin resistance with mortality and cardiovascular disease in populations from five continents (PURE study): a prospective cohort study. *The Lancet Healthy Longevity*, 4(1), e23–e33.
198. Kurajoh, M., Fukumoto, S., Yoshida, S., Akari, S., Murase, T., Nakamura, T., Ishii, H., Yoshida, H., Nagata, Y., Morioka, T., Mori, K., Imanishi, Y., Hirata, K., Emoto, M. (2021). Uric acid shown to contribute to increased oxidative stress level independent of xanthine oxidoreductase activity in MedCity21 health examination registry. *Scientific Reports*, 11(1), 7378.
199. Lim, D.H., Lee, Y., Park, G.M., Choi, S.W., Kim, Y.G., Lee, S.W., Kim, Y.H., Yang, D.H., Kang, J.W., Lim, T.H., Kim, H.K., Choe, J., Hong, S., Kim, Y.G., Lee, C.K., Yoo, B. (2019). Serum uric acid level and subclinical coronary atherosclerosis in asymptomatic individuals: An observational cohort study. *Atherosclerosis*, 288, 112–117.
200. Haybar, H., Sadati, N.S., Purrahman, D., Mahmoudian-Sani, M.R., Saki, N. (2023). lncRNA TUG1 as potential novel biomarker for prognosis of cardiovascular diseases. *Epigenomics*, 15(23), 1273–1290.
201. Li, T., Tu, P., Bi, J., Sun, Y., Yu, D., Wang, J., Zhao, B. (2021). lncRNA Miat knockdown alleviates endothelial cell injury through regulation of miR-214-3p/Caspase-1 signalling during atherogenesis. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 48(9), 1231–1238.
202. Li, F.P., Lin, D.Q., Gao, L.Y. (2018). lncRNA TUG1 promotes proliferation of vascular smooth muscle cell and atherosclerosis through regulating miRNA-21/PTEN axis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(21), 7439–7447.
203. Pan J.X. (2017). lncRNA H19 promotes atherosclerosis by regulating MAPK and NF-κB signaling pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(2), 322–328.
204. Akoumianakis, I., Polkinghorne, M., Antoniadou, C. (2022). Non-canonical WNT signalling in cardiovascular disease: mechanisms and therapeutic implications. *Nature Reviews Cardiology*, 19(12), 783–797.
205. Prashar, Y., Ritu, B.S., Gill, N.S. (2017). Emerging role of various signaling pathways in the pathogenesis and therapeutics of atherosclerosis. *Reviews in Vascular Medicine*, 10–11, 1–12.
206. Yan, Y., Zhang, B., Liu, N., Qi, C., Xiao, Y., Tian, X., Li, T., Liu, B. (2016). Circulating Long Noncoding RNA UCA1 as a Novel Biomarker of Acute Myocardial Infarction. *Biomed Research International*, 2016, 8079372.
207. Glaviano, A., Foo, A.S.C., Lam, H.Y., Yap, K.C.H., Jacot, W., Jones, R.H., Eng, H., Nair, M.G., Makvandi, P., Geoerger, B., Kulke, M.H., Baird, R.D., Prabhu, J.S., Carbone, D., Pecoraro, C., Teh, D.B.L., Sethi, G., Cavalieri, V., Lin, K.H., Javidi-Sharifi, N.R., ... Kumar, A. P. (2023). PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer. *Molecular Cancer*, 22(1), 138.
208. Kim, M.J., Lim, S.G., Cho, D.H., Lee, J.Y., Suk, K., Lee, W.H. (2024). Regulation of inflammatory response by LINC00346 via miR-25-3p-mediated modulation of the PTEN/PI3K/AKT/NF-κB pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 709, 149828.
209. Farazi, M.M., Rostamzadeh, F., Jafarnejad-Farsangi, S., Moazam Jazi, M., Jafari, E., Gharbi, S. (2024). CircPAN3/miR-221/PTEN axis and apoptosis in myocardial Infarction: Quercetin's regulatory effects. *Gene*, 909, 148316.

210. Zhou, Z.X., Ma, X.F., Xiong, W.H., Ren, Z., Jiang, M., Deng, N.H., Zhou, B.B., Liu, H.T., Zhou, K., Hu, H.J., Tang, H.F., Zheng, H., Jiang, Z. S. (2024). TRIM65 promotes vascular smooth muscle cell phenotypic transformation by activating PI3K/Akt/mTOR signaling during atherogenesis. *Atherosclerosis*, 390, 117430.
211. Li, P., Li, H., Li, X., Li, S., Xu, H., Cui, J., Cheng, G., Liu, Y., Xu, X., Xin, Y., Liu, A. (2023). San Jie Tong Mai Fang Protects Against Atherosclerosis Progression by Regulating Macroautophagy through the PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 82(4), 333–343.
212. Shi, G., Zeng, L., Shi, J., Chen, Y. (2023). Trimethylamine N-oxide Promotes Atherosclerosis by Regulating Low-Density Lipoprotein-Induced Autophagy in Vascular Smooth Muscle Cells Through PI3K/AKT/mTOR Pathway. *International Heart Journal*, 64(3), 462–469.
213. Li, F., Peng, J., Lu, Y., Zhou, M., Liang, J., Le, C., Ding, J., Wang, J., Dai, J., Wan, C., Wang, J., Luo, P., Xia, B. (2023). Blockade of CXCR4 promotes macrophage autophagy through the PI3K/AKT/mTOR pathway to alleviate coronary heart disease. *International Journal of Cardiology*, 392, 131303.
214. Wang, Q.S., Zhou, J., Li, X. (2020). LncRNA UCA1 protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation induced apoptosis through inhibiting miR-143/MDM2/p53 axis. *Genomics*, 112(1), 574–580.
215. Wang, C.J., Zhu, C. C., Xu, J., Wang, M., Zhao, W.Y., Liu, Q., Zhao, G., Zhang, Z.Z. (2019). The lncRNA UCA1 promotes proliferation, migration, immune escape and inhibits apoptosis in gastric cancer by sponging anti-tumor miRNAs. *Molecular Cancer*, 18(1), 115.
216. Li, J., Hou, S., Ye, Z., Wang, W., Hu, X., Hang, Q. (2022). Long Non-Coding RNAs in Pancreatic Cancer: Biologic Functions, Mechanisms, and Clinical Significance. *Cancers*, 14(9), 2115.
217. Wang, T., Yuan, J., Feng, N., Li, Y., Lin, Z., Jiang, Z., & Gui, Y. (2014). Hsa-miR-1 downregulates long non-coding RNA urothelial cancer associated 1 in bladder cancer. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 35(10), 10075–10084.
218. Li, Z., Liu, H., Zhong, Q., Wu, J., Tang, Z. (2018). LncRNA UCA1 is necessary for TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition and stemness via acting as a ceRNA for Slug in glioma cells. *FEBS Open Bio*, 8(11), 1855–1865.
219. Chen, J., Hu, Q., Zhang, B.F., Liu, X. P., Yang, S., Jiang, H. (2019). Long noncoding RNA UCA1 inhibits ischaemia/reperfusion injury induced cardiomyocytes apoptosis via suppression of endoplasmic reticulum stress. *Genes & Genomics*, 41(7), 803–810.
220. Yaghoobi, A., Rezaee, M., Behnoush, A.H., Khalaji, A., Mafi, A., Houjaghan, A.K., Masoudkabar, F., Pahlavan, S. (2024). Role of long noncoding RNAs in pathological cardiac remodeling after myocardial infarction: An emerging insight into molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 172, 116248.
221. Sun, L., Zhu, W., Zhao, P., Wang, Q., Fan, B., Zhu, Y., Lu, Y., Chen, Q., Zhang, J., Zhang, F. (2020). Long noncoding RNA UCA1 from hypoxia-conditioned hMSC-derived exosomes: a novel molecular target for cardioprotection through miR-873-5p/XIAP axis. *Cell Death & Disease*, 11(8), 696.
222. Diao, L., Zhang, Q. (2021). Transfer of lncRNA UCA1 by hUCMSCs-derived exosomes protects against hypoxia/reoxygenation injury through impairing miR-143-targeted degradation of Bcl-2. *Aging*, 13(4), 5967–5985.
223. Xuan, W., Yu, H., Zhang, X., Song, D. (2019). Crosstalk between the lncRNA UCA1 and microRNAs in cancer. *FEBS Letters*, 593(15), 1901–1914.
224. Badacz, R., Kleczyński, P., Legutko, J., Żmudka, K., Gacoń, J., Przewłocki, T., Kabłak-Ziembicka, A. (2021). Expression of miR-1-3p, miR-16-5p and miR-122-5p as Possible Risk Factors of Secondary Cardiovascular Events. *Biomedicines*, 9(8), 1055.
225. Gao, J., Yang, S., Wang, K., Zhong, Q., Ma, A., Pan, X. (2019). Plasma miR-126 and miR-143 as Potential Novel Biomarkers for Cerebral Atherosclerosis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases: The Official Journal of National Stroke Association*, 28(1), 38–43.
226. Chen, W., Zhao, W., Hao, M., Wang, Y. (2023). lncRNA UCA1 regulates miR-132/Lrrfip1 axis to promote vascular smooth muscle cell proliferation. *Open medicine (Warsaw, Poland)*, 18(1), 20230738

227. Hussain, M.S., Afzal, O., Gupta, G., Altamimi, A.S.A., Almalki, W.H., Alzarea, S.I., Kazmi, I., Kukreti, N., Gupta, S., Sulakhiya, K., Singh, S.K., Dua, K. (2023). Probing the links: Long non-coding RNAs and NF- κ B signalling in atherosclerosis. *Pathology, Research and Practice*, 249, 154773.
228. Zhang, Z., Li, H., Cui, Z., Zhou, Z., Chen, S., Ma, J., Hou, L., Pan, X., Li, Q. (2019). Long non-coding RNA UCA1 relieves cardiomyocytes H9c2 injury aroused by oxygen-glucose deprivation via declining miR-122. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 3492–3499.
229. Meng, F., Han, L., Liang, Q., Lu, S., Huang, Y., Liu, J. (2023). The Lnc-RNA APPAT Suppresses Human Aortic Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration by Interacting with MiR-647 and FGF5 in Atherosclerosis. *Journal of Endovascular Therapy: an Official Journal of the International Society of Endovascular Specialists*, 30(6), 937–950.
230. Wang, R., Li, N., Zhang, Y., Ran, Y., Pu, J. (2011). Circulating microRNAs are promising novel biomarkers of acute myocardial infarction. *Internal Medicine (Tokyo, Japan)*, 50(17), 1789–1795.
231. He, F., Lv, P., Zhao, X., Wang, X., Ma, X., Meng, W., Meng, X., Dong, S. (2014). Predictive value of circulating miR-328 and miR-134 for acute myocardial infarction. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 394(1-2), 137–144.
232. Wang, W.F., Zhao, N., Li, Y.Q., Luo, M.Y., Xiao, S Q., Yang, W. (2020). LncRNA APPAT regulated miR-328a/Pkp1 signal pathway to participate in breast cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(10), 5493–5503.
233. Miyazaki, K., Yoshizaki, K., Arai, C., Yamada, A., Saito, K., Ishikawa, M., Xue, H., Funada, K., Haruyama, N., Yamada, Y., Fukumoto, S., Takahashi, I. (2016). Plakophilin-1, a Novel Wnt Signaling Regulator, Is Critical for Tooth Development and Ameloblast Differentiation. *PloS One*, 11(3), e0152206.
234. Ren, Y., Jiao, X., Zhang, L. (2018). Expression level of fibroblast growth factor 5 (FGF5) in the peripheral blood of primary hypertension and its clinical significance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(3), 469–473.
235. Xu, C.X., Xu, L., Peng, F.Z., Cai, Y.L., Wang, Y.G. (2019). MiR-647 promotes proliferation and migration of ox-LDL-treated vascular smooth muscle cells through regulating PTEN/PI3K/AKT pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(16), 7110–7119.
236. Chen, S., Sun, L., Zhang, J., Zhang, L., Liu, X. (2022). Oxygenized Low-Density Lipoprotein-Induced ASMC Dysregulation Depends on circ_0000345-Mediated Regulatory Mechanism. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 29(12), 1849–1863.
237. Baragetti, A., Mattavelli, E., Pellegatta, F., Alieva, A.S., Grigore, L., Reutova, O. Shlyakhto, E.V., Catapano, A.L. (2023). Plasma proteomics identify fibroblast growth factor 5 as a biomarker for genetically proven Familial Hypercholesterolemia. *European Heart Journal*, 44(Supplement_2), ehad655.2453.
238. Seo, H.R., Jeong, H.E., Joo, H.J., Choi, S.C., Park, C.Y., Kim, J.H., Choi, J.H., Cui, L.H., Hong, S. J., Chung, S., Lim, D.S. (2016). Intrinsic FGF2 and FGF5 promotes angiogenesis of human aortic endothelial cells in 3D microfluidic angiogenesis system. *Scientific Reports*, 6, 28832.
239. Li, S., Li, S., Li, Q., Zhou, Q., Liao, W., Yu, L., Ouyang, C., Xia, H., Liu, C., Li, M. (2023). Identification of key genes and pathways in atherosclerosis using integrated bioinformatics analysis. *BMC Medical Genomics*, 16(1), 102.
240. Tibaut, M., Caprnda, M., Kubatka, P., Sinkovič, A., Valentova, V., Filipova, S., Gazdikova, K., Gaspar, L., Mozos, I., Egom, E.E., Rodrigo, L., Kruzliak, P., Petrovic, D. (2019). Markers of Atherosclerosis: Part 2 - Genetic and Imaging Markers. *Heart, Lung & Circulation*, 28(5), 678–689.
241. Poznyak, A.V., Grechko, A.V., Wetzker, R., Orekhov, A.N. (2020). In Search for Genes Related to Atherosclerosis and Dyslipidemia Using Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2097.
242. Xu, S., Pelisek, J., Jin, Z.G. (2018). Atherosclerosis Is an Epigenetic Disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 29(11), 739–42.

EKLER

EK-1.Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 02.12.2021-5985



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Tarihi : 26.11.2021
Toplantı Sayısı : 2021/36
Karar Sayısı : 36/2

Kurulumuza değerlendirilmek üzere sunulan, Doç. Dr. Halime Hanım PENÇE'nin sorumlu araştırmacı, Doç. Dr. Mehmet KIZILAY ve Sibel KURAŞ'ın yardımcı araştırmacı olduğu 21/716 kayıt numaralı "*Ateroskleroz Hastalarında UCA1 ve APPAT lncRNA'larının Ekspresyon Düzeylerinin İncelenmesi*" başlıklı proje önerisi kurulumuzun 26.11.2021 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.

Aşlı Gibidir
e-imzalıdır
Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN
Başkan

Prof. Dr. Günseli GÜVEN POLAT
Başkan Yardımcısı

Doç. Dr. Selda RIZALAR
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Erhan ALABAY
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Papatya KELEŞ
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Yasemin AYDIN KARTAL
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Banu BAYRAM
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Semra AÇIKSÖZ
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Eray Metin GÜLER
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Merve KOLCU
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Gamze TEMİZ
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer AKDOĞAN
Etik Kurul Üyesi

EK-2.Bilgilendirilmiş Onam Formu

Değerli katılımcı,

Bu araştırma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi doktora öğrencisi Sibel KURAŞ'ın doktora tezi kapsamında ve Doç. Dr. Halime Hanım PENÇE danışmanlığında yürütülecek olan bilimsel bir çalışmadır.

Araştırmanın içeriği bypass ameliyatı olmasına karar verilmiş olan hastalardan alınan lezyonlu ve sağlıklı dokuyla beraber kan örneklerinde ve sağlıklı bireylerden alınan kan örneklerinde uzun kodlama yapmayan RNA'lardan UCA1 ve APPAT'ın ifade düzeylerinin incelenmesine ilişkin ölçümleri kapsamaktadır. Toplanan veriler sadece bilimsel amaçlarla kullanılacak, kimliğinizi ortaya çıkarabilecek kayıtlar gizli kalacak, elde edilen kişisel bilgiler ve uygulanacak testlere verdiğiniz cevaplar araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi saklı tutulacaktır.

Araştırmanın yaklaşık 60 kişinin katılımıyla yürütülmesi beklenmektedir. Araştırma süreci boyunca sizden beklenen, yönergelere dikkatli bir şekilde uymaktır. Hiçbir sorumluluk altından kalmadan araştırmaya katılmayı reddetme veya araştırmadan çekilme hakkına sahip olacaksınız.

'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.'

Gönüllü Katılımcı

Sibel KURAŞ

İmza

İmza

