

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ŞİŞLİ ETFAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
3. İÇ HASTALIKLAR KLİNİĞİ
ŞEF: Uz.Dr. Fatih BORLU

HİPERLİPİDEMİK HASTALARDA ATORVASTATİN
TEDAVİSİNİN PLAZMA NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İRDELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. B. Tolga KONDUK

İSTANBUL - 2001

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Lipid Metabolizması ve ateroskleroz	4
2.1.1. Lipid Biyokimyası ve Kolesterol Metabolizması	4
2.1.2. Plazma Lipoproteinleri: Genel Yapısı ve Başlıca Sınıfları	9
2.1.3. Şilomikronlar	12
2.1.4. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)	18
2.1.5. Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL)	20
2.1.6. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)	20
2.1.7. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)	22
2.2. Ateroskleroz patogenezi	28
2.2.1. Ateroskleroz da rol oynayan başlıca hücresel mekanizmalar	28
2.2.2. Aterosklerozun Gelişimi	30
2.2.3. Yükselen LDL Düzeyleri ve Ateroskleroza Neden Olan Mekanizmalar	35
2.2.4. Koroner Kalp Hastalığı ve Miyokard Enfarktüsünde Risk Faktörleri	42
2.3. Nitrik Oksit	45

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	53
3.1. Çalışma grubunu oluşturan bireylerin özellikleri	53
3.2. Örneklerin hazırlanması	54
3.3. Kullanılan gereçler	54
3.4. Nitrik oksit analizi	55
3.5. İstatistiksel değerlendirme	58
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	69
6. ÖZET	83
7. SUMMARY	85
8. KAYNAKLAR	87

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren hocalarım Uz. Dr. Fatih BORLU, Uz. Dr. Halis KARSU, Doç. Dr. Yüksel ALTUNTAŐ'a;

Yakın destekleriyle eğitimime katkıda bulunan Baő Asistanlarımız Uz. Dr. Ahmet TAŐTAN'a,

Tezim süresince titiz çalışmaları ile bana her konuda yardımcı olan Dr. Akın AYDEMİR ve Dr. İsmail DEMİR'e,

Eğitimim boyunca hep yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarıma, 3 .Dahiliye servis hemőire ve personeline teőekkör ederim.

Dr. B. Tolga KONDUK

İstanbul - 2001

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner kalp hastalıklarının (KKH) sıklığı ve buna bağlı ölüm oranları batılı toplumların yanı sıra yurdumuzda da yüksektir. Koroner arter mortalitesinde önemli derecede azalma görülmesine karşın günümüzde hem Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) hem de çoğu batı toplumlarında KKH, ölüm nedenlerinin başında yer almaktadır. 1995 yılında ABD'de 500.000 kişinin KKH nedeniyle öldüğü bildirilmektedir. Bu nedenle aterosklerotik sürecin oluşmasını ve gelişmesini önlemek veya önceden oluşmuş lezyonları geriletebilmek toplum sağlığı açısından çok önemli bir konudur. Çalışmalara bakıldığında aterosklerozun günümüzde en fazla araştırılan konuların başında geldiği görülür. Aterosklerozun patogenezi konusunda bilgilerimiz giderek artmasına karşın bu konu henüz yeterince aydınlatılamamıştır (1-6).

Ateroskleroz gelişmesinde serum lipidleri temel bir rol oynamaktadır. Bilindiği gibi plazmadaki temel lipidler kolesterol, trigliserid ve fosfolipidlerdir. Bu lipidler suda çözünmezler ve özel proteinlerle birleşerek oluşturdukları lipoprotein tanecikleri olarak plazmada taşınırlar. Lipoproteinler yoğunluklarına göre beş temel sınıfa ayrılırlar. Bunlar; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL), ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) dir (7).

Serum kolesterolü ateroskleroz gelişiminde anahtar rol oynamaktadır. Lipoprotein tipleri içerisinde LDL'de taşınan kolesterolün (LDL-K) plazma kolesterolünün en aterojenik kısmı olduğuna inanılmaktadır. Gerçekten LDL kolesterol düzeyleri ile KKH arasındaki ilişkinin total kolesterolle olandan daha kuvvetli olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte VLDL

kalıntıları da aterojenik etkiye sahiptir. Buna karşılık HDL'nin KKH'na karşı koruyucu bir rol oynadığı bilinmektedir (2-5).

LDL damarların intima tabakasında hapsedildiğinde, bu molekül endotel altı bölgede bazı değişikliklere uğramaktadır. Son yıllarda LDL ' deki bu değişikliklerin ve özellikle oksidasyonun ateroskleroz patogenezinde en etkili basamak olduğuna inanılmaktadır (8).

Son yıllarda giderek artan sayıda klinik durum bozulmuş endotelyum fonksiyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. Patogenezlerinden endotelyum kaynaklı çeşitli maddelerin sorumlu tutulduğu bu durumlar: hiperkolesterolemi, sistemik hipertansiyon, diyabet, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, östrojen yetersizliği, hiperhomosisteinemi ve yaşlılık süreci olarak sıralanabilirler. Her geçen gün bu listeye yeni bir hastalık eklenmekte ve bu hastalıkların patogenezinde endotelyum kaynaklı çeşitli maddeler sorumlu tutulmaktadır. Bu maddelerin en önemlilerinden birisi nitrik oksit (NO)'dır. NO renal hemodinamikler ve vasküler tonusun önemli bir fizyolojik regülatörüdür (9-11).

Nitrik oksit ilk olarak 1980 yılında (12) endothelium-derived relaxing factor (EDRF) olarak tanımlanan primer endojen bir vazodilatör moleküldür. Asetilkolin endotel hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanır ve bu hücrelerde mevcut olan Ca-calmodulin bağımlı NO sentaz aktiflenir. Bu enzim arginin ve O₂ den sitrullin ve NO oluşumunu katalizler. Meydana gelen NO endotel hücrelerden komşu düz kas hücrelerine geçer ve guanilat siklaz'ın hem grubundaki demire bağlanarak bu enzimi aktive eder. Siklik guanozin monofosfat (cGMP)'daki artış düz kas hücrelerinde vazodilatasyona yol açar (12-15).

HMG-CoA redüktaz inhibitörleri ya da sık kullanılan adlarıyla statinler hiperkolesterolemi tedavisinde son yıllarda kullanılmaya başlanan ve kısa sürede bu tedavide majör ilaç sınıfını oluşturmayı başaran ajanlardır.LDL kolesterol seviyelerini düşürmede en

etkili ilaç grubu oldukları bugün artık tüm dünyada kabul edilmektedir. Klinik yararları yanı sıra; yan etkilerinin az oluşu ve yüksek hasta uyumu göstermeleri ile diğer sınıf kolesterol düşürücülere üstünlük sağlarlar. Son yıllarda statin kullanımıyla KKH mortalitesinde belirgin düşüşler gözlemlenmeye başlanmış ve statinlerin, lipid düşürücü etkilerinin ötesinde etkileri olabileceği savı ortaya atılmıştır. “American Journal of Cardiology” nin editörü William Roberts bu ilaçlar için şu saptamayı yapmıştır: Enfeksiyon hastalıkları açısından penisilin neyse ateroskleroza karşı statinler de odur (16).

Atorvastatin; statin ailesine son yıllarda katılan ve tamamen sentetik olarak sentezlenen yeni bir ilaçtır .Atorvastatin HMG-CoA redüktazı inhibe ederek plazma total ve LDL kolesterol düzeylerini düşürür, karaciğerdeki kolesterol sentezini azaltır ve ayrıca LDL ' nin artmış alımı ve katabolizması için hücre yüzeyindeki hepatik LDL reseptörlerinin sayısını artırır. Böylece atorvastatin, LDL üretimini ve dolayısıyla dolaşımdaki LDL partiküllerinin sayısını azaltır. Atorvastatin dolaşan LDL partiküllerinin kalitesinde yararlı bir değişimle beraber LDL reseptör aktivitesinde çok büyük ve devamlı bir artış sağlar (16, 17).

Bu çalışmada; son yıllarda KKH tedavisinde lipid düşürücü etkileri dışında etkileri olabileceği ileri sürülen statinlerden, atorvastatinin; damar endotel hücre düzeyinde etkili olup olmadığını saptamayı hedefledik. Bu amaçla hiperkolesterolemik hastalarda atorvastatinle 45 günlük tedavi öncesi ve sonrasında; atorvastatinin serum total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol, VLDL kolesterol konsantrasyonlarını üzerine etkilerini belirlemenin yanı sıra, plazma NO düzeylerinin atorvastatin tedavisi ile değişip değişmediğini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lipid Metabolizması ve Ateroskleroz

2.1.1. Lipid Biyokimyası ve Kolesterol Metabolizması:

Lipidler hidrofobik özelliğe sahip olduklarından suda çözünmeyen ya da çok az çözünen organik moleküllerdir. Lipidler, hücrenin bütünlüğünü koruyan ve sitoplazmanın özgül organeller halinde bölümlere ayrılabilmesini sağlayan hücre zarında mevcut oldukları gibi, besin deposu (trigliseridler), adrenal steroid, seks hormonları, safra asitleri yapı taşları (kolesterol) formunda ve hücre içi-dışı haberci moleküller olarak (prostaglandinler, fosfatidilinositol) işlev görmektedirler (7,18).

Lipid Türleri: Yapı ve Fonksiyonları:

A - Yağ asitleri:

Başlıca iki yağ asidi türü vardır: çift bağı olmayan (bütün karbon atomları hidrojen ile tamamlanmıştır) doymuş yağ asitleri ve bir ya da birden fazla çift bağı olan doymamış yağ asitleridir. Monoansature yağ asitlerinde bir tek çift bağı bulunurken, poliansature yağ asitlerinde iki veya daha fazla çift bağı bulunmaktadır (18,19).

Dokulardaki yağ asitleri kanda esterleşmezler fakat kompleks lipidler oluşturmak üzere diğer organik moleküllerle esterleşebilirler .Yağ asitleri albümine bağlı olarak ya da kompleks lipidler halinde lipoproteinler üzerinde taşınırlar. Yağ asitleri kolaylıkla sağlanabilen enerji kaynağıdır ve ayrıca kompleks lipidlerin biyosentezinde kullanılmaktadırlar (7, 18,19).

B- Kompleks Lipidler:

Kompleks lipidler başlıca 3 grupta toplanırlar: Trigliseridler , fosfolipidler ve kolesterol.

Trigliseridler (Triasilgliserol): En çok bulunan kompleks lipidlerdir ve yağ asidinin depolanma biçimi olarak işlev görürler. Trigliseridler yağ dokusu hücrelerinde depo edilir veya lipoprotein partikülü üzerinde taşınırlar. Hidroliz edildiklerinde enerji olarak kullanılmak üzere serbest yağ asitleri ortaya çıkar. Trigliseridler, bir gliserol molekülüne esterleştirilmiş, üç yağ asidi molekülünden oluşmaktadır (7, 18-20).

Fosfolipidler: Fosfolipidlerde gliserolun üç hidroksil grubunun ikisinde esterleştirilmiş yağ asitleri bulunmaktadır. Üçüncü grup fosfata esterleştirilmiştir (Fosfatidik asit). Memeli dokularında fosfatidik asit serin, kolin ve etanolamin gibi hidrofil molekülleri hidroksil grubuna esterleştirerek sırasıyla fosfatidilserin, fosfatidilkolin, ve fosfatidiletanolamini meydana getirir. Fosfatidilkolin lesitin adıyla da bilinmektedir. Hidrofobik ve hidrofilik moleküllerin fosfolipidlerde bir araya gelmesi bu moleküllerin su-lipid sınırında fonksiyon görebilmelerine olanak sağlayarak; fosfolipidleri membranların ve lipoproteinlerin yüzey tabakalarının ideal bileşimi haline getirir. Bunlar kompleks lipidlerin en fazla hidrofil özelliğe sahip olanlarıdır (7,18-20).

Kolesterol: Kolesterol sekiz karbonlu bir yan zincire sahip dört halkalı bir hidrokarbondur. Organizmada hücre zarlarının ana bileşeni ve steroid hormonlarının yapı taşı olarak kritik bir rol oynar. Ayrıca yine kolesterolün safra taşlarının yapısına girdiğini biliyoruz. Kandaki kolesterolün yaklaşık 2/3 ü esterleşmiş halde bulunur (OH grubunun 3. pozisyonunda esterleştirilmiş bir yağ asidi bulunur) (7,18-20).

Kolesterol Biyosentezi ve LDL Reseptörü Mekanizması:

Kolesterol hem diyetle alınmakta hem de vücutta sentez edilmektedir. Diyetle alınan kolesterolün tamamı hayvansal kaynaklıdır. Bitkiler kolesterol sentezlemez. Bitki zarları nadir görülen genetik hastalıklar dışında, insan sindirim sistemi tarafından emilemeyen sitosterol

içerir. Dolayısıyla hiçbir bitkisel üründe kolesterol bulunmamaktadır. Kolesterol KC, deri, adrenal, beyin ve bağırsaklar gibi çok organın çeşitli hücrelerinde sentez edilmektedir. İnsanlar dahil memelilerin birçoğunda KC toplam kolesterol sentezinin yaklaşık % 10 ile % 20'sini gerçekleştirmektedir (7,18-20).

Kolesterol Biyosentezi:

Kolesterol sentezi asetat ile başlar. Üç asetat molekülü 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG CoA) oluşturacak şekilde dönüşüme uğrar. Daha sonra HMG CoA, HMG CoA redüktaz enzimi tarafından mevalonik asite çevrilir. Bir çok aşamadan geçen mevalonik asit sonunda kolesterole dönüşür. Kolesterol biyosentezini düzenleyen kilit aşamada HMG CoA redüktaz enzimi önemli rol oynar. Hücrelerdeki kolesterol miktarı arttıkça HMG CoA redüktaz üzerinde bir geri tepkisel etki yaratarak HMG CoA redüktazın aktivitesini ve kolesterol biyosentezini azaltır (7,18-20).

Kolesterol vücutta CO₂ ve H₂O'ya parçalanarak elimine edilemeyen nadir bileşiklerden biridir. Kolesterol organizmadan yalnızca KC yoluyla atılabilir. Kolesterol safraya ve dolayısıyla bağırsağa salınabilir ya da safraya giren safra asitlerine çevrilebilir. Bağırsağa atılan kolesterolün yaklaşık % 50'si yeniden emilerek tekrar dolaşıma girer. Kalan % 50'si dışkıyla atılır. Safra kesesindeki safra asitlerinin hemen tamamı (%97) bağırsaklardan geri emilerek KC'e taşınır (enterohepatik sirkülasyon). Yeniden absorbe edilen kolesterol ve safra asitleri KC' deki de novo kolesterol ve safra asidi sentezini düzenlerler. KC'e geri dönen safra asidi miktarında azalma olduğu zaman (safra asidini bağlayıcı ilaç kullanımında) safra asidi sentezi artar (7,18-20).

LDL Reseptör Mekanizması:

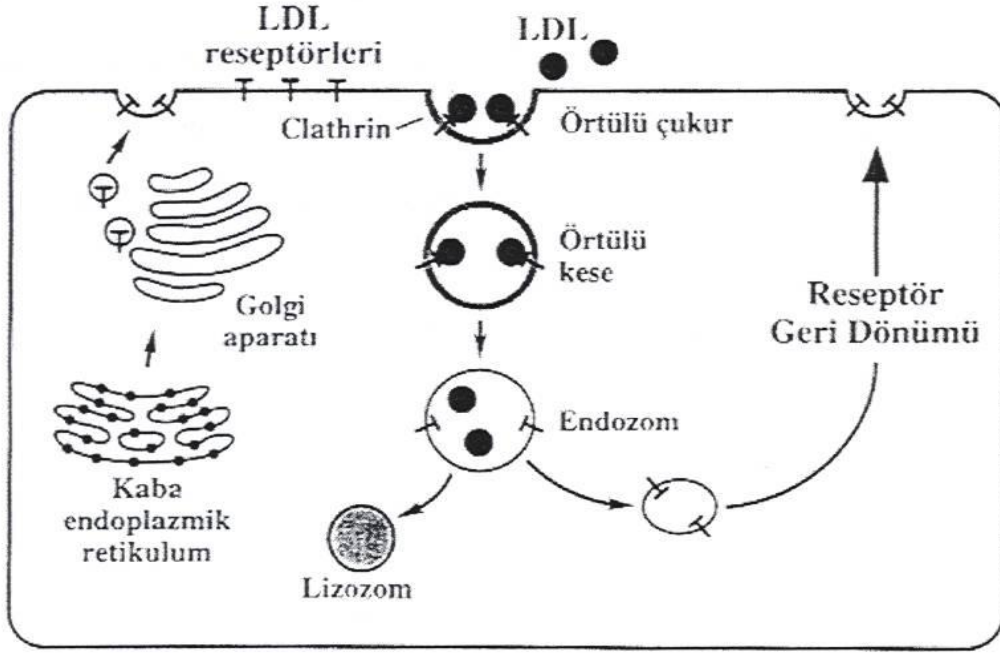
Kandaki kolesterol düzeyleri esas olarak LDL reseptör yolu ile kontrol edilmektedir.

Bu reseptör KC hepatositleri dahil olmak üzere, tüm vücutta bütün hücrelerin yüzeyinde bulunmakta ve kandan LDL-K' ün alımını düzenleyici olarak işlev görmektedir. Bu mekanizmayla hücreler ihtiyaç duydukları kolesterolü, sentez etmeye gerek kalmadan sağlarlar. Bu mekanizmayla ayrıca, KC dolaşımından LDL 'yi ve dolayısıyla kolesterolü uzaklaştırır (7,18-20).

LDL reseptörü lipoproteinlere bağlanır ve onları bulundukları hücrenin içine alır. Lipoproteinler, proteinlerin ve lipidlerin hidrolize edildiği lizozomlara iletilir. Reseptörler tekrar hücre yüzeyine dönerler. Lipoproteinlerin reseptöre bağlanmasına aracılık eden molekül bir proteindir. Özgül olarak LDL reseptörü ile etkileşen iki ayrı protein bulunmaktadır: B100 ve E apoproteinleri (7,18-20).

Reseptörler kolesterol bakımından zengin bir lipoproteine bağlandıktan sonra bu kompleks hücre zarında örtülü çukur (coated pit) adı verilen özelleşmiş bir alana yerleşir. Reseptörler ve proteinler buradan hücre içine alınırlar. Örtü “clathrin” adı verilen özgün bir protein kompleksidir. Reseptörleri, hücre zarının invajinasyon yapabilen, vezikül oluşturabilen ve lipoprotein içeren bir bölgesinde toplar. Hücre içine çekilen ve endozom adı verilen bu veziküller sitoplazma içine hareket ettikçe, endozomların iç ortamındaki asit oranı giderek artar ve bu durum reseptörün ve lipoproteinlerin ayrışmasına neden olur. Daha sonra boş reseptörler yeniden hücre yüzeyine dönerken lipoprotein de lizozomlarda parçalanır (Şekil 1) (7,18-20).

Şekil 1: Lipoprotein reseptör mekanizması:



Hücre yüzeyindeki reseptör sayısı sıkı şekilde kontrol edilir. Hücredeki kolesterol miktarı arttıkça, sentez edilen reseptör sayısında azalma meydana gelir. Öte yandan, hücrenin kolesterol gereksinimi varsa, reseptör sayısı artar ve LDL reseptörlerinin hücre yüzeyindeki yoğunluğu artırılır. Bu mekanizmayla hücre içinde aşırı kolesterol birikimi önlenerek hücrenin gereksinimi kadar kolesterol alması sağlanmış olur (7,18-20).

Diyetteki yağların alınımı ve metabolizması:

Organizmanın kullandığı lipidlerin bir çoğu diyetel kaynaktır. Diyet yağlarının sindirimi midede başlar ve ince barsak proksimalinde devam eder. Trigliseridler serbest yağ asitlerine ve daha az miktarlarda mono ve digliseridlere hidrolize edilirler; kolesterol çoğunlukla serbest kolesterol şeklindedir; fosfolipid öncelikle lizolesitine çevrilerek emilir.

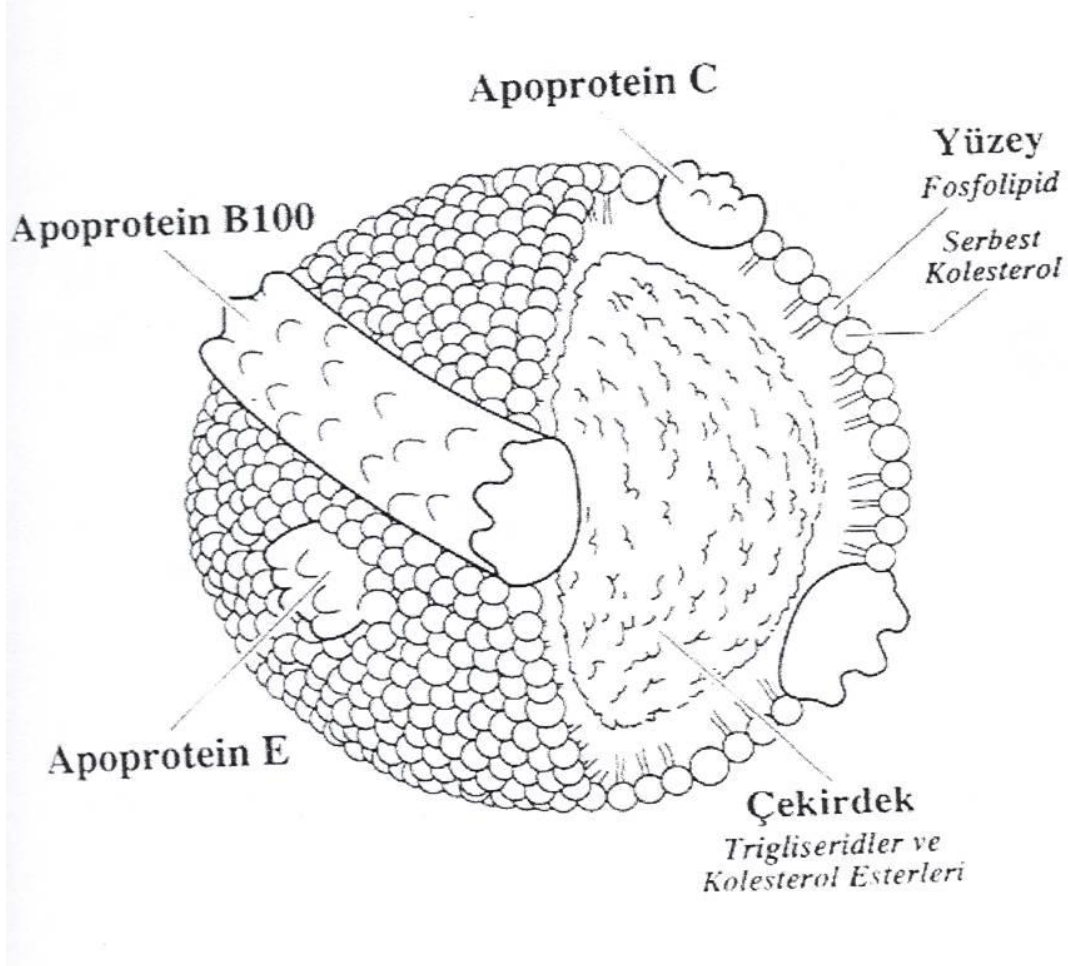
Safra tuzu miçelleri suda çözünmeyen lipidlerin en azından kısmen çözünmesine ve dağılmasına yardımcı olurlar. Bu durum lipidlerin barsak içinde taşınmalarını ve barsak hücreleri tarafından alınımını kolaylaştırır. Safra asitleri bunun yanı sıra trigliseridlerin hidrolizine katılan pankreas kökenli lipazın aktivatörleridirler. Lipidler ilk önce duodenum ve proksimal jejunum enterositleri tarafından alınır vücudun çeşitli hücrelerine taşınması amacıyla intestinal lipoproteinlerin (şilomikronlar) biyosentezinde kullanılırlar. Şilomikronlar mezenterik lenfe taşınırlar ve ductus thoracicus yoluyla genel dolaşıma girerler. Orta uzunlukta zincirlere sahip bulunan yağ asitleri (C 10 ve daha aşağısı) esterleştirilmeden portal vene emilirler ve vücuttan doğrudan doğruya KC yoluyla atılırlar (7,18-20).

2.1.2. Plazma Lipoproteinleri, Genel Yapısı ve Başlıca Sınıfları:

Kompleks lipidler kanda lipoprotein adı verilen suda çözünür makro molekül kompleksleri halinde taşınırlar. Lipoproteinler ,çözünmeyen lipidlerin kanda çözünebilir lipid ve protein kompleksleri halinde taşınması için araç fonksiyonu görürler. Bu lipidler arasında trigliseridler , kolesterol esterleri,serbest kolesterol ve fosfolipidler bulunmaktadır.

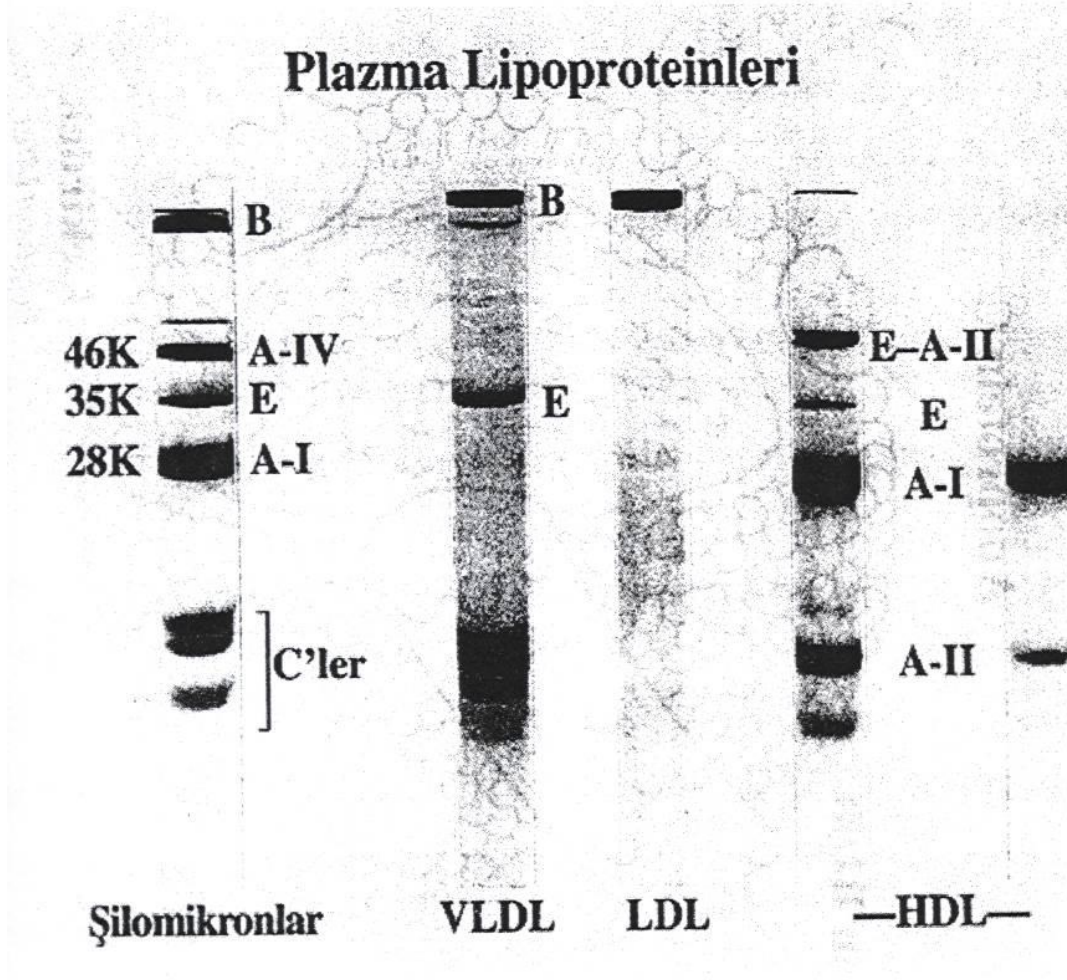
Çeşitli lipoproteinlerle ilişkili, apolipoproteinler harflerle adlandırılır (A,B,C gibi). Lipoproteinler genel yapısı, hidrofobik lipidlerin (trigliseridler ve kolesterol esterleri) bir çoğunu kapsayan bir çekirdek ile protein, serbest kolesterol ve fosfolipidlerden oluşan bir yüzey tabakasından meydana gelen küresel bir partikül şeklindedir (Şekil 2).

Şekil 2 :Lipoproteinlerin genel yapısı (20):



Lipoproteinler yüzeyinde özgül apolipoproteinlerin yer alması çeşitli lipoproteinlerin geleceğini belirler, Çeşitli lipoproteinlerin apolipoprotein yapıları molekül büyüklüklerine göre ayrılabilir ve sodyum deodesil sülfat poliakrilamid jel elektrofezi ile görüntülenebilir (Şekil 3) (20).

Şekil 3: Plazma lipoproteinlerinin poliakrilamid jel elektroforezindeki görünüşleri



Plazma lipoproteinleri yoğunluklarına, elektroforetik devinimlerine ve içerdikleri apolipoproteinlere göre sınıflandırılırlar (7,18-20).

2.1.3. Şilomikronlar

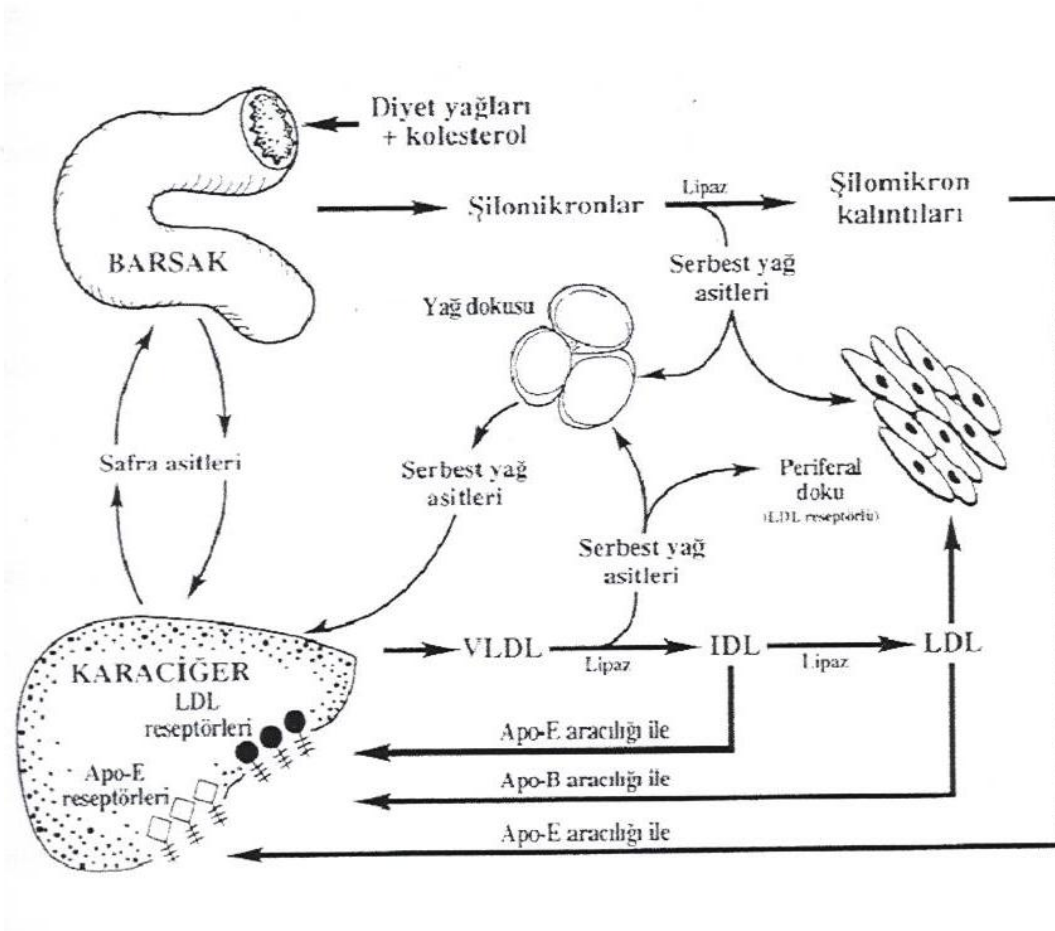
Şilomikronlar plazma lipoproteinlerinin en büyük olanlarıdır (çapı 1000Å) ve plazmanın ultrasantrifüjü ile kolaylıkla ayrılabilirler. Bunlar yaklaşık %98-99 lipid (%85 ile %90 trigliserid) ve %1 ila 2 proteinden oluşmaktadırlar. Şilomikronlar postprandiyal plazmada bulunurlar ve plazmada dolaştıklarından çeşitli apolipoproteinler içerirler (apo-B 48, A-I, A-IV, E ve C' ler). En belirgin apolipoprotein, molekül ağırlığı apo -B 100'ün yaklaşık yarısına eşit (%48) bir apo-B Şekli olan apo B48'dir .Bu apolipoprotein, apo-B'nin barsak ta sentez edilen şeklidir ve barsak epitelı tarafından üretilen insan lipoproteinlerinin bir örneğidir (7,18-20).

Şilomikronlar ince barsak (duodenum ve proksimal jejunum) epitel hücreleri tarafından üretilirler. Diyet yağ ve kolesterolü, safra asidi miçelleri olarak, epitel hücresi zarlarının fırçamsı kenarına iletildiklerinde şilomikronların sentezine başlanır. Şilomikronlar, bazı apolipoproteinlerin son karbonhidrat işlemlerinin yapıldığı Golgi aygıtında birikirler ve barsak hücrelerinin yan sınırında boşluğa verilirler. Şilomikronlar buradan mezenterik lenfe girerler, toraks kanalı lenfine kadar ilerleyerek sonunda genel dolaşıma katılırlar.Yeni sentez edilen şilomikronlarda apo-B48, A-I ve IV (bağırsakta sentez edilen apolipoproteinler) bulunmaktadır. Apo-C' ler ve apo-E ise lenf ve kandaki lipoproteinlerden alınır (öncelikle HDL'den) (7,18-20).

Serbest yağ asitlerinin salgılanmasını katalize eden şilomikronları trigliserid bakımından fakir, bir ölçüde kolesterol açısından zengin şilomikron kalıntıları haline çeviren lipoprotein lipaz, dolaşımda bulunan şilomikronlar üzerine etki eder. Serbest yağ asitleri trigliserid şeklinde saklanarak ya enerji kaynağı olarak okside edilmek veya trigliserid

sentezinde yeniden kullanılmak üzere çeşitli dokular tarafından alınırlar. Şilomikron kalıntıları karaciğer tarafından plazmadan temizlenir (Şekil 4)

Şekil 4: Lipoprotein metabolizması (19)



Apolipoproteinler ve görevleri:

Apo B-48 adıyla anılan apolipoprotein B, şilomikronların yapısal proteinidir. Apolipoprotein B, plazma proteinlerinde iki ayrı şekilde bulunur: Barsak tarafından sentez

edilen gerek şilomikronların gerekse şilomikron kalıntılarının yapı taşı olan apo B-48 ve karaciğer tarafından sentez edilen ve VLDL, IDL ve LDL'nin yapıtaşı olan apo B- 100 Apolipoprotein B-100 molekül ağırlığı 513.000 olan dev bir proteindir ve 4536 amino asitten oluşmaktadır. Bu apolipoprotein karaciğerde sentez edilen VLDL'nin yapısal proteinidir ve ayrıca LDL reseptörü için ligand bağlayıcı görevi görür. Apolipoprotein B- 48'in molekül ağırlığı 264.000 olup, 2152 amino asitten oluşmaktadır (apo-B100 molekülünün % 48'i). Apolipoprotein B 48'de apo-B100' ün LDL reseptörü bağlama alanını içeren karboksil terminal alanı yoktur. Dolayısıyla, apoB-48 sadece şilomikronların yapısal proteini olarak görev alır ve LDL veya kalıntı reseptörünün bağlayıcısı değildir (7,18-20).

Apolipoprotein B-100 ve apo-B-48 tek bir genin ürünleridir ve bu iki önemli protein mRNA düzenlemesinin yapıldığı özgün bir mekanizma ile sentezlenmektedirler. Bu mekanizma bağırsakta apo-B'nin (B48) kısaltılmış şeklinin sentezinden sorumludur. Apolipoprotein B48 şilomikronlar sentezi ve sekresyonu için gerekli bir proteindir ((7,18-20).

Apolipoprotein A-1 barsak ve karaciğer tarafından sentez edilir ve şilomikronlar dahil çeşitli lipoproteinlerin yapı taşıdır. Molekül ağırlığı 28.000'dir. Şilomikronların lipoliz süreci sırasında apo-A-1 bu partiküllerin yüzeyinden ayrılır ve HDL ' ye transfer edilir (7,18-20).

Şilomikronlar ductus thoracicus ve özellikle kana girdikten sonra HDL ' den apo-E ve apo-C leri alırlar. Bu apolipoproteinler çeşitli lipoproteinler arasında kolaylıkla transfer edilebilirler. Buna karşın apolipoprotein B-100 ve apo B-48, lipoprotein sınıfları arasında transfer olmazlar. Apolipoprotein E karaciğerde ve vücudun çeşitli bölgelerinde sentez edilen ve molekül ağırlığı 34.000 olan bir proteindir. Bu apolipoproteinin başlıca işlevleri; LDL reseptörü ve varsayılan şilomikron artığı reseptörü bağlayıcısı olmasıdır. Şilomikronların yüzeyi üzerindeki apolipoprotein E, kalıntıların plazmadan atılması açısından önemlidir. Bir

apo-E kusuru, kalıntıların KC' den atılmasını olayını belirgin şekilde bozar (7,18-20).

C apolipoproteinleri düşük molekül ağırlıklı üç proteinin oluşturduğu bir gruptur. Apolipoprotein C-I, apo-E' nin kalıntı reseptörüne, kalıntı bağlanmasına aracılık etme yeteneğini engelleyerek şilomikron artığı alınımasını engeller. Apolipoprotein C-III kalıntıların reseptöre bağlanmasını ayarlamada buna benzer bir işlev görebilir. Apolipoprotein C-I ise lipoprotein lipazın aktivatörüdür (7,18-20).

Metabolizmaya katılan enzimler:

Lipoprotein Lipaz

Lipoprotein lipaz (LPL) molekül ağırlığı yaklaşık 50.000 olan ve adipoz dokudaki adipositler ve iskelet kasları ile kalp kasındaki miyositler tarafından sentez edilen bir proteindir. Bu protein söz konusu dokular tarafından kullanılacak serbest yağ asitlerinin serbest bırakılması için trigliseridlerin hidrolizinde katalizör görevi yapar. Yağ asitleri adipoz doku tarafından alınarak gliserol halinde yeniden esterleştirilirler ve adipositlerde trigliserid halinde saklanırlar. Kaslarda yer alan bu trigliserid bakımından zengin lipoproteinlerden üretilen yağ asitleri, enerji kaynağı olarak kullanılır. Karaciğerde, yağ asitleri hepatik VLDL'nin meydana getirilmesi için yapılan trigliserid sentezinde kullanılırlar (7,18-20).

Hepatik Lipaz

Hepatik lipaz (HL) (MW = 53.000) bir trigliserid hidrolazı ve fosfolipazıdır. Ancak özgül olarak karaciğer hepatositleri tarafından sentez edilir ve esas olarak karaciğer endotel hücrelerinde yerleşiktir. Hepatik lipaz karaciğerden, adrenalinin ve overlerin kapiler endoteline taşınır ve burada organlar tarafından kullanılmak üzere lipoproteinlerden lipidlerin açığa çıkarılmasında görev alır (7,18-20).

Hepatik lipazın lipoprotein metabolizmasında aşağıda belirtilen görevleri bulun-

maktadır:

- a) Şilomikron kalıntılarının son süreci, ilave trigliseridlerin hidrolize edilmesi ve gereksinim fazlası yüzey fosfolipidlerinin hidroliz edilmesi.
- b) IDL 'nin LDL 'ye çevrildiği son süreç
- c) HDL₂ den trigliseridin ve fosfolipidin alınması yoluyla HDL₂ nin HDL₃'e çevrilmesi (7,18-20).

Metabolizmaya Katılan Reseptörler

Düşük Dansiteli Lipoprotein Reseptörü

LDL reseptörü hepatositler de dahil olmak üzere, vücudun birçok hücresinin yüzeyinde bulunmaktadır. Bu reseptör hem apo- B 100 hem de apo- E içeren lipoproteinleri yani sırasıyla LDL ve şilomikron kalıntılarını bağlayabilmektedir. Apo-B 100 ve apo-E, LDL reseptörünün bağlanma alanı (ligand binding domain) adı verilen özgül bir bölgesine bağlanır. Bu bölgede, apo-B100 ve apo-E ile reaksiyona girmede kritik bir rol oynayan negatif yüklü amino asitlerin (glutamik ve aspartik asitler) bulunduğu 7 kez yinelenen bir bölüm bulunmaktadır. Buradaki reaksiyon iyon bazında olup, LDL reseptörünün negatif yüklü kilit amino asitleri, apo-B 100 ve apo-E nin pozitif yüklü temel amino asitleri (arginin ve lizin) açısından zengin bölgelerine bağlanır (7,18-20).

Ayrıca, kültür yapılan hücrelerde LDL reseptörü, şilomikron artıkları ile yüzeylerinde bulunan apo- E kanalıyla reaksiyona girmekte, kalıntılar bu kültür hücreleri tarafından içeri alınmaktadır (7) .

LDL reseptörü olmayan veya kusurlu olan kişilerde plazmadaki şilomikronların temizlenmesi güçtür. Bu tür hastalarda plazmadaki LDL düzeyinde artış olması ve şilomikronlarda veya şilomikron kalıntılarında belirgin bir artış olmamasıyla karakterize olan

ailesel hiperkolesterolemi adı verilen genetik bir bozukluk bulunmaktadır (7,18-20).

Şilomikron Kalıntısı (Apolipoprotein E) reseptörü

Birkaç yıldan beri şilomikron kalıntısı veya apo-E reseptörü adı verilen ikinci bir reseptörün var olduğu ileri sürülmektedir. Yapısal olarak LDL reseptörüne benzeyen çok büyük bir protein belirlenerek LDL reseptörü ilişkili protein (LRP) adıyla anılan bu proteinin, LDL reseptörü ailesinin bir üyesi olduğu gösterilmiştir (7,18-20).

LRP' nin moleköl ağırlığı yaklaşık 600.000 olup, LDL reseptörü yapısının sayısız kopyalanmasından oluşmaktadır. LRP apo-E içeren lipoproteinleri yüksek bir çekicilikle bağlanmaktadır (ancak LDL 'yi önemli ölçüde bağlamaz). LRP' ye yüksek çekicilikle bağlanmalarından önce, artık lipoproteinlere fazla miktarda apo-E eklenmesi gerektiği gösterilmiştir. Apo-E muhtemelen Disse boşluğunda bağlanmış olduğu hepatositlerden salgılanmaktadır (18-20).

Bu ve diğer gözlemler apo-E'nin salgılama - yakalama adı verilen bir süreç içerisinde işlev gördüğü kavramının oluşmasını sağlamıştır. Hücreler tarafından salgılanan apo-E'nin çevre ortamdaki lipidler veya lipoproteinler ile birleştiği ve lipidi LDP reseptörleri veya LRP'yi içeren hücrelere götürme işlevi gördüğü öngörülmüştür. Karaciğerde LRP ve apo-E, şilomikron kalıntıları tutmak için bu şekilde bir reaksiyona girebilir. LRP, beyin dahil başka dokularda da bulunabilir ve lipidlerin tutulması amacıyla dokularda yerel olarak işlev görebilir (7,18-20).

LRP ile ilgili ilginç bir gözlem daha bulunmaktadır. LRP sadece apo-E içeren lipoproteinlerle değil, aynı zamanda bu konu ile hiç ilgisi bulunmayan bir protein olan α 2-makroglobulin ile de reaksiyona girmektedir. Alfa 2-makroglobulin proteazların plazmadan temizlenmesinde önemli bir rol oynayan geniş spektrumlu bir endopeptidaz inhibitörüdür. α 2-

makroglobulin plazmada LRP'ye bağlanmayan doğal veya inaktif şekilde bulunmaktadır. Ancak, α 2-makroglobulin bir proteaz ile reaksiyona girdiği zaman önemli bir şekil değişikliğine uğrar ve LRP' ye bağlanabilen aktif şekle dönüşür. Daha sonra proteaz α 2-makroglobulin kompleksi karaciğerdeki LRP aracılığıyla plazmadan temizlenir (7,18-20).

Özet olarak, şilomikron kalıntılarının katabolizmasında; yakalanma, ikici lipoliz işlemi ve hem LDL reseptörünün hem de LRP'nin katıldığı, reseptörlerin aracılık ettiği endositoz gibi çeşitli aşamalar ve çeşitli öğelerin bulunduğu anlaşılmaktadır.

2.1.4. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)

VLDL çapı 300 ile 700 Å arasında olan, ultrasantrifüj ile ayrılan partiküllerdir. Bu partiküller %85-90 lipid (%55 trigliserid, %20 kolesterol ve %15 fosfolipid) ve %10-15 proteinden oluşmaktadır. Bunların belirgin apolipoprotein yapıtaşı apo-B' nin hepatik formu olan apo B-100' dür. Buna ek olarak VLDL, apo-E ve apo-C'ler içerir. VLDL karaciğer tarafından sentez edilir ve bunların üretimi hepatositlere daha fazla serbest yağ asidi götürülmesiyle uyarılabilir. VLDL' nin oluşturulmasında kullanılacak trigliserid ve fosfolipid kaba ve düz endoplazmik retikulumda sentez edilir. VLDL kolesterol de novo olarak veya lipoprotein katabolizması sırasında karaciğer tarafından kazanılan kolesterolden (Örnek LDL kolesterolden) yeniden kullanılarak sentezlenebilir. Elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalar VLDL partiküllerinin, Golgi aygıtına girmeden önce ilk kez, kaba endoplazmik retikulum ile düz endoplazmik retikulumun kesişme noktasında ortaya çıktığını göstermiştir. Golgi aygıtında apolipoproteinlerin bazılarının karbonhidrat işlemi yapılır. Golgi sekretuar vezikülleri hepatositlerin fırça kenar yüzeyine geçer ve plazma membranına girerek VLDL partiküllerini Disse boşluğuna bırakır. Partiküller buradan plazmaya girer. Yeni sentez edilmiş

VLDL' nin başlıca protein yapıtaşları apo B-100, apo-E ve küçük miktarlarda apo C'lerdir. Plazma içinde VLDL, öncelikle HDL 'den ek apo-C ve apo-E apolipoproteinlerini edinir (7,18-20).

Lipidlerle proteinlerin nasıl bir araya geldikleri henüz tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte çok kolaylıkla çözünebilir apo B-100' ün, kaba endoplazmik retikulumun (ER) iç yaprağına girebileceği ve düz endoplazmik retikuluma doğru hareket edebileceği sanılmaktadır. Apo B-100, membrandan geçerken membrandan lipid içeren fosforik asit bileşimi edinmeye başlar ve bir protein-fosfolipid kompleksi oluşturur ki bu da trigliseridleri kabul ederek yeni bir VLDL partikülünün çekirdeğini oluşturabilir. Trigliserid sentezi kaba ER dahilinde meydana gelebilir. Önemli bir miktara veya lipid yüküne ulaşıldığı zaman, partikül iç membran yaprakçığından ER'in lümenine bırakılır. Partikül kaba ER' den düz ER bağlantısına geçerken ilave trigliserid ve kolesterol alabilir (7,18-20).

VLDL trigliseridleri, LPL 'nin ve daha az ölçüde HL' nin etkinliği ile hidrolize edilir. VLDL sürekli olarak, kolesterol açısından giderek zenginleştirilen küçük partiküllere çevrilir. VLDL katabolizması ürünleri IDL olarak alınır. IDL apo-B 100 ve apo-E' yi tutar, ancak, apo-C'lerin büyük bir kısmını kaybetmiştir. IDL hepatik lipazın katıldığı son süreçle LDL 'ye çevrilir. LDL plazmada bulunan başlıca kolesterol taşıyıcı lipoproteindir ve sadece apo-B içerir (7,18-20).

VLDL' nin yaklaşık %50'si LDL' ye çevrilir.VLDL' nin geri kalan %50'si VLDL artıkları (küçük VLDL) ve IDL olarak doğrudan doğruya karaciğer tarafından temizlenir. LDL' nin LDL reseptörü tarafından alınmasına apo-B100 aracılık eder (7,18-20).

2.1.5. Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL)

IDL normal koşullarda plazmada çok küçük konsantrasyonlarda bulunmaktadı. Bklk ve kompozisyon bakımından VLDL ile LDL arasında yer almaktadır. Başlıca protein yapı taşları apo-B100 ve apo-E' dir (7,18-20).

IDL, lipazların etkisiyle plazmada meydana gelen VLDL katabolizmasının ürünlerinin temsil eder ve LDL 'nin yapı taşıdır. IDL ya HL tarafından işlenmeye devam edilir ya da LDL reseptörü tarafından plazmadan çıkarılır. IDL genellikle bir tür VLDL artığı olarak görülür ve aterojenik olduğu kabul edilir (7,18-20).

2.1.6. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)

LDL plazmadaki başlıca kolesterol taşıyıcı lipoproteinlerdir. Plazmadaki toplam kolesterolün yaklaşık %70'i LDL' de bulunmaktadır. Çapları yaklaşık $200\text{\AA}$ dır. LDL, yaklaşık %75 lipid (%35 kolesterol ester, %10 serbest kolesterol, %10 trigliserid ve %20 fosfolipid) ve %25 proteinden oluşmaktadır. Eser miktardaki apo-E dışında bu partiküllerde var olan tek protein apo B-100 dr (7,18-20).

LDL, lipazın aracılık ettiği VLDL hidrolizinin u ürünlerini temsil eder. Ayrıca, daha bk VLDL partiküllerinin trigliserid açısından zengin çekirdeği ayrılınca, gereksinim fazlası yüzey yapıtaşlarının HDL' ye transfer edilmesiyle yüzey lipidleri ve proteinleri yeniden şekillendirilir. Bunun sonucunda apo B-100 dışında hemen hiçbir apolipoproteinin bulunmadığı, küçük ve kolesterol bakımından zengin bir partikül (LDL) meydana gelir (7,18-20).

LDL' in yaklaşık %75'i karaciğer parankim hücreleri tarafından alınmaktadır. Diğer birçok doku küçük miktarlarda LDL alır. Bu alım yaklaşık $\frac{2}{3}$ 'sine LDL reseptörü aracılık

eder. Alımın geri kalan bölümü yeterince tanımlanmamış ve reseptörün aracılık etmediği bir süreçle yapılır. LDL aterojen lipoprotein olarak kabul edilmektedir (7,18-20).

Lipoproteinlerin plazmadan temizlenme hızını, reseptör ile olan reaksiyona aracılık eden apolipoprotein ve reseptör sayısı belirler. VLDL ve IDL plazmadan hızlı temizlenir (yarılanma süresi birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişir). Apolipoprotein E, bunların LDL reseptörüne bağlanmalarına aracılık eden proteindir. Her lipoproteinde birden fazla reseptörle veya bir reseptör üzerindeki birçok bölge ile reaksiyona girebilen çok sayıda apo-E molekülü bulunmaktadır. Bu durum bağlanma yetisini artırmaktadır ve dolayısıyla bu partiküllerin, plazmadan daha hızla temizlenmesini sağlar. LDL 'in temizlenmesi işlemi apo-E' ye göre çok daha düşüktür ve dolayısıyla, LDL çok daha yavaş temizlenir (yarılanma süresi 2-3 gün). Apolipoprotein E içeren lipoproteinlerin, LDL reseptörüne karşı istekliliğinin, apo B-100 içeren LDL' ye göre 20 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (7,18-20).

Lipoprotein Kolesterolünün Hücre Metabolizmasındaki Rolü (7,18-20)

Bütün hücrelerin de novo kolesterol sentez etme yeteneği vardır. Ancak, LDL kolesterolü hücreler için ön sırayı alan kolesterol kaynağıdır.

Karaciğer tarafından alınan kolesterolü aşağıda belirtilen sonuçlardan biri beklemektedir:

1. Membran biyosentezinde kullanılmak,
2. VLDL biyosentezinde kullanılmak,
3. Safradan kolesterol olarak atılması,
4. Safra asitlerine çevrilerek safra ile atılmak.

Adrenal, Over ve Testis: Kolesterol, bu organlarda steroid hormonu üretiminin yapı taşı olarak kullanılır .

Diğer Periferik Dokular: Kolesterol hücre onarımı ve proliferasyonu için ve membran biyosentezinde kullanılır.

Kandaki LDL Düzeylerini Etkileyen Faktörler

Plazma LDL düzeyleri iki ana mekanizma ile yükseltilebilir:

1. VLDL biyosentezinin arttırılmasıyla
 - Serbest yağ asitlerinin karaciğere girişinin artması
 - Diyetle daha fazla yağ alınımı ve karaciğere girmesi
2. LDL katabolizmasının düşürülmesi ile
 - Hepatik ve ekstra hepatic dokularda ortaya çıkan LDL reseptörü sayısının azalması (Hücreler, metabolizma gereksinimi için yeterli miktarda kolesterole sahip oldukları zaman LDL reseptör üretimini azaltır.)
 - LDL reseptörleri ile normal reaksiyona giremeyen kusurlu apo B-100.

2.1.7. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)

HDL küçük boyutlu bir partikül olup, çapı 70-120 Å⁰ dır. HDL, bir ölçüde kendi içinde HDL₂ ve HDL₃ gruplarına ayrılmıştır. Yaklaşık %50 lipid (%25 fosfolipid, %15 kolesterol ester, %5 serbest kolesterol ve %5 trigliserid) ve %50 protein içerir HDL 'in başlıca apolipoproteinleri apo-AI (%65) apo-A-II (%25) ve daha küçük miktarlarda apo-C ve apo E' dir. Plazmadaki apo-E'nin yaklaşık %50'si HDL₁ fraksiyonunda bulunmaktadır. HDL' nin diğer sınıflarında apo-E yoktur. Dolayısıyla LDL reseptörü ile birleşmezler.HDL bir apo-E ve apo-C deposu olarak işlev görür. HDL 'nin sadece apo-AI veya apo-A-II içeren çeşitli alt sınıfları da bulunmaktadır (7,18-20).

HDL sentezine ait başlıca üç kaynak bulunmaktadır:

1. Karaciğer, olgunlaşmamış "HDL" adı verilen bir apo-AI fosfolipid diski salgılar.
2. Bağırsaklar da küçük bir apo-AI "HDL " partikülünü doğrudan sentez edebilir.
3. “HDL” şilomikronlardan ve VLDL'den gelen yüzey maddesinden türetilir.

Şilomikronlar ve VLDL, LPL tarafından etkilenecek, trigliseridden zengin çekirdeği hidrolize olur. Bu şekilde ortaya çıkan fosfolipid ve serbest kolesterolden oluşan yüzey maddesi apo A-I ile birlikte küçük HDL diskini şekillendirir (7,18-20).

“HDL” diskleri hücrelerden ve diğer lipoproteinlerden lipid ve özellikle serbest, kolesterol toparlar. Bu durum serbest kolesterol bakımından zenginleşmiş apo-AI fosfolipid disklerini meydana getirir. Lesitin: kolesterol açıltransferaz enzimi (LCAT), kolesterolü esterleştirir. Sonuçta HDL 'nin çekirdeğini oluşturmaya başlayan kolesterol esterleri meydana gelir. Daha fazla kolesterol esterleştirildikçe, disk, HDL₃ adı verilen küçük bir partikül haline dönüştürülür (küçük olgun HDL). HDL₃ molekülü serbest kolesterol alıcısı olarak işlev görür. Alınan ve esterleştirilen serbest kolesterol miktarı arttıkça, partikülün boyutu büyür ve HDL₂ meydana gelir (7,18-20).

HDL, özellikle HDL₃ ve olgun HDL 'nin öncüleri, hücrelerden kolesterolü değişik iki mekanizma ile edinir:

- A) Hücrelerden fiziko-kimyasal geçiş : HDL fazla miktarda kolesterol içeren hücrelerle yakın ilişkiye girer ve hücre yüzeyinden serbest kolesterolü alır.Serbest kolesterol hücreden HDL partikülüne fizikokimyasal yoğunluk farklılığı nedeniyle geçer (fazla miktarda kolesterol içeren hücrelerin zarlarındaki yüksek konsantrasyondan, HDL yüzeyine).
- B) HDL reseptörü vasıtasıyla: HDL partikülleri hücre zarları üzerindeki bölgelere

bağlanabilir. HDL, özellik taşımayan bir lipid yamasına (patch) ve hatta bir karbonhidrat örtüsüne bağlanabilir. Bu bağlanma HDL'nin tutulmasına ve parçalanmasına yol açmaz. Olasılıkla HDL tarafından serbest kolesterol edinimini kolaylaştırır .

Lesitin Kolesterol Asiltransferaz (LCAT)

Lesitin kolesterol asiltransferaz (LCAT) (Mw=47.000) öncelikle karaciğer tarafından sentez edilir. Plazmada küçük HDL ile ilgilidir. Apolipoprotein A-I, LCAT'ı aktive eden bir kofaktördür. Apolipoprotein C-I ve apo A-IV'de LCAT'i aktive edebilir. İnsanlarda LCAT, çeşitli plazma lipoproteinlerinde bulunan kolesterol esterlerinin büyük bir kısmının üretiminden sorumludur (7,18-20).

Lesitin kolesterol asiltransferaz'ın iki değişik enzim etkinliği bulunmaktadır:

1) Lesitin ayrışması (fosfolipaz aktivitesi): Lesitin iki numaralı pozisyonunda bulunan ve genellikle linoleik asit (C 18:2) olan yağ asidinin ester bağı hidrolize edilir. Elde edilen ürün lizolesitin ve yağ asitidir. Yağ asiti, LCAT molekülündeki 181 no' lu amino asit olan serine bağlanır.

2) Transesterifikasyon (transasilaz aktivitesi): LCAT' a bağlanmış olan yağ asidi kolesterolünün 3. (3-hidroksil) pozisyonuna taşınır ve kolesterol esteri oluşturur. Kolesterol esteri lipoprotein partikülünün çekirdeğine girer (7,18-20).

Plazmalarında bu enzimin çok düşük düzeylerde olduğu veya hiçbir aktivitesi olmadığı görülen hastaların incelenmesiyle LCAT' nin lipoprotein metabolizmasındaki normal işlevi hakkında çok şey öğrenilmiştir. Bu bozukluğa LCAT veya apo-AI'in primer yapısını etkileyen mutasyonlar neden olabilir. Lesitin kolesterol asiltransferaz eksikliği, kolesterol ester düzeylerinin düşük olması, HDL düzeylerinin düşük olması, korneada serbest kolesterol

birikimine bağı kornea kesifleşmesi gibi hafif semptomlardan, böbrek yetmezliğı gibi ağır hastalıklara varabilen klinik tablolarla karakterize bir dizi olaya neden olabilir (7,18-20).

Yüksek Dansiteli Lipoproteinlerin Katıldığı Metabolizma Yolları

Yüksek dansiteli lipoproteinler, lipidlerin, lipoproteinler ve hücreler arasında yeniden dağıtılmasında işlem görmektedir. Bu proteinler ters kolesterol taşınması adı verilen bir sürece katılırlar. HDL kolesterolü hücrelerden alarak; ya atılmak üzere karaciğere, yada kolesterole gereksinim duyan diğ er hücrelere taşırlar (7,18-20).

Daha önce anlatıldığı gibi, HDL₃ önce HDL₂' ye ve daha sonra HDL₁' e çevrilir. HDL₁ ile ilişkili olan apolipoprotein E, HDL'nin bu alt sınıfını LDL reseptörlerini içeren hücrelere hedefler. Bu hücreler, onarım, proliferasyon vs. amacıyla yapılacak membran biyosentezi için kolesterole gereksinim duyarlar. Bu şekilde kolesterolün fazlası kolesterol gereksinimi olan hücrelere götürülerek kolesterol dağıtımı yeniden düzenlenir. Bu yolla kolesterol atılmak amacıyla doğrudan doğruya karaciğere de gönderilebilir (7,18-20).

Kolesterol dağıtımının yeniden düzenlendiğı bir başka yolda kolesterol ester transferaz proteinin (CETP) etkinliğı söz konusudur. CETP tarafından kolesterol esteri, HDL₂ halinden VLDL/IDL ve artıkları haline dönüştürülür. Bu şekilde kolesterol, VLDL ve şilomikron kalıntıları yoluyla karaciğere dolaylı olarak ulaştırılır. Kolesterol esterinin VLDL/IDL' ye geçmesi karşılığında, CETP, trigliseridin HDL₂ ye taşınmasını sağlayarak HDL₂ yi trigliserid bakımından zenginleştirir. CETP yolu, insanlarda ve diğ er primatlarda kolesterol esterlerin HDL' den karaciğere taşınması ve iletimin başlıca yoludur (7,18-20).

HDL₂, Hepatik Lipaz, tarafından yeniden şekillendirilebilir. HL, HDL₂'nin trigliseridlerini ve bazı fosfolipidlerini hidrolize ederek bu partikülleri HDL₃ haline dönüştürür. HDL₃ iyi bir kolesterol alıcısı olarak görev alacak partiküller halinde yenilenir

(7,18-20).

HL karaciğerde HDL katabolizması ve yeniden şekillendirme etkinliklerine katılabilir. Fosfolipidin partikülden hidrolize edilmesi, kolesterolün partikülden hücrelere geçişini kolaylaştıran bir kimyasal gradyan oluşturabilir. Bu durum HDL₂'yi HDL₃'e çevirebilir ve bir olasılıkla HDL₃'ün bir fraksiyonu plazmaya geri döner. Sonuçta, değişiklik geçirmemiş olan HDL hepatositler tarafından alınabilir ve ayrıştırılabilir (7,18-20).

Toplam HDL 'in küçük bir fraksiyonunu temsil etmekle birlikte apo-E içeren HDL doğrudan LDL reseptörleri tarafından alınabilir ve LDL mekanizması yoluyla parçalanabilir (7,18-20).

Kolesterol ester transfer proteini, kolesterol esterinin, HDL' den, trigliserid bakımından zengin, düşük dansiteli lipoproteinlere (öncelikle VLDL, IDL ve artıkları) geçişini kolaylaştırır. CETP aynı zamanda trigliseridleri HDL 'ye geçirir. CETP lipid metabolizmasında önemli bir rol oynar ve CETP etkinliğinin, ateroskleroz gelişimine karşı uygunluğu veya direnci etkileyebileceğini düşündüren çok ilginç tür farklılıkları bulunmaktadır (7,18-20).

Örneğin, insanların, maymunların ve tavşanların plazmalarında önemli miktarda CETP etkinliği vardır. Bunun sonucu olarak bunlar yalnızca düşük düzeylerde apo-E içeren HDL oluşturur ve dolayısıyla HDL kolesterol esterlerinin büyük kısmını düşük dansiteli lipoproteinlere vererek elden çıkarır. Sonuçta kolesterol esterlerin büyük bölümü plazmayı LDL yoluyla terk eder. Bu türler ateroskleroza karşı duyarlıdır ve daha yüksek düzeylerde LDL içirme eğilimi gösterirler. Diğer yandan sıçanlarda, farelerde ve köpeklerde CETP etkinliği yoktur. Bunlar apo-E içeren HDL (HDL₁) oluştururlar ve kolesterolü, apo-E'nin aracılık ettiği yol ile doğrudan karaciğere götürebilirler. Bu hayvanlarda LDL düzeyleri çok

düşüktür ve ateroskleroz gelişimine karşı dirençlidirler (7,18-20).

Anti-aterojen Proteinler Olarak Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)

Yapılan çeşitli araştırmalar HDL kolesterol düzeylerinin yüksek olmasının, koroner kalp hastalığı görülme olasılığının azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Tersine HDL kolesterol düzeylerinin düşük olması koroner kalp hastalığı görülme olasılığının yüksek olmasıyla ilişkilidir. HDL 'nin bu koruma mekanizmasındaki rolü ters yönde kolesterol taşınması ve bunun sonucu olarak kolesterolün arter duvarından alınarak yeniden dağıtılmasıyla ilgili olabilir. Ayrıca, KKH riskinin artması ile ilişkili olan düşük HDL düzeyi yalnızca, aterogenez üzerinde doğrudan etkisi olan bir başka metabolik olayın göstergesi de olabilir. Örneğin, HDL düzeyleri VLDL ve trigliserid düzeyleri ile ters orantılıdır (VLDL yükseldikçe, HDL düşer). Bir risk faktörü olarak, düşük HDL, trigliserid yönünden zengin olan belirgin aterojenik özelliğe sahip lipoproteinlerin belirli bir özel alt sınıfındaki değişikliğin işareti olabilir. Bir başka açıdan, arter duvarını etkileyen ve ateroskleroza duyarlı hale getiren bir sitokin de plazmadaki HDL'nin azalmasında neden olabilir. Bu durumda düşük HDL, aterosklerozun işareti olabilirse de ateroskerozu başlatan ana faktör değildir (7,18-20).

HDL kolesterol düzeyinin düşük olması, bu lipoproteinin plazma konsantrasyonunun 35 mg/dl'den az olduğu anlamına gelir. HDL düzeylerini etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda sigara içenlerde HDL düzeyinin düşük olduğu gösterilmiştir. Egzersiz, HDL 'yi yükseltir fakat bu aerobik belli etkiyi sağlayacak bir sürede olmalıdır. Orta derece alkol alımı (günde 1-2 kadeh) HDL' yi yükseltir gibi görünmektedir. Ayrıca kolesterol düşüren bazı ilaçlar da HDL' yi yükseltir (7,18-20).

2.2. Ateroskleroz patogenezi

Ateroskleroz başlı başına bir hastalık olmayıp, miyokard enfarktüsü, serebral enfarktüs, kangren ve ekstremitelerde fonksiyon kaybı gibi hastalıkların patogenezinde temel rol oynayan bir süreçtir (21). Bu süreç uzun yıllar boyunca klinik olarak sessiz bir gidiş gösterebileceği gibi dakikalar içerisinde ağır klinik tablolara da neden olabilir. Aterosklerozun gelişimi çok sayıda etkenin rol oynadığı kompleks bir olgudur. Arter duvarı endotelinin hasarına yanıt olarak ortaya çıkan enflamatuvar-fibroproliferatif değişiklikler aterosklerozun oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. Bu görüşe göre endotel hasarı trombositlerin ve ilişkili diğer faktörlerin uyarılmasına yol açar. Fokal düz kas hücre proliferasyonu ve lipid depolanması sonucu aterosklerotik plak oluşur (21-23).

Son yıllarda hiperlipidemi ateroskleroz gelişimindeki önemi daha iyi anlaşılmıştır (7). Özellikle yüksek plazma LDL-K düzeyleri LDL' nin intimaya in filtr olmasına neden olur. Burada okside olan LDL; (endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofajlar bu oksidasyona yardımcı olurlar) monosit kemotaksisine ve köpük hücrelerin oluşumuna yol açar (lipid-infiltrasyon hipotezi) (7,24).

2.2.1. Aterosklerozda rol oynayan başlıca hücresel mekanizmalar

Endotel hücreleri: Damarın endotel tabakası dolaşan kanın çevreden ayırımını sağlayan anatomik engel olma ötesinde metabolik olarak aktif olan bir sistemdir. Endotel doku vasküler tonusu regüle ederek, damar duvarının hücre bileşenlerine madde transportunu sağlayarak, damarları kanda dolaşan hücrelerden ve potansiyel olarak zararlı olan çeşitli maddelerden koruyarak ve lokal hasara karşı enflamatuvar, hemostatik ve tamir edici

mekanizmaları kontrol ederek vasküler homeostazın devamını sağlar (23 ,25-35).

Son yıllarda giderek artan sayıda klinik durum bozulmuş endotel fonksiyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. Patogenezlerinden endotel kaynaklı çeşitli maddelerin sorumlu tutulduğu bu durumlar: hiperkolesterolemi, sistemik hipertansiyon, diyabet, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, östrojen yetersizliği, hiperhomosisteinemi ve yaşlılık süreci olarak sıralanabilirler. Her geçen gün bu listeye yeni bir hastalık eklenmekte ve bu hastalıkların patogenezinde endotel kaynaklı çeşitli maddeler sorumlu tutulmaktadır.

Endotel hücreleri bütün arterlerin iç yüzeyini kaplayan sıkı bir tabaka oluşturur. Endotel, kan ürünlerinin (lipoproteinler dahil) arter duvarına girişini kontrol eder ve trombozu önler (yüzeyi antitrombotiktir). Ayrıca, endotel hücreleri, arter duvarındaki diğer hücreleri etkileyen çeşitli büyüme faktörlerini ve sitokinleri salgılar. Endotel hücrelerinin fonksiyonlarını şöyle sıralayabiliriz (23 ,25-35):

- 1) Plazmada çeşitli maddelerin geçişini ve “solute” ların değişimini sağlayan geçirgen bir bariyer olarak fonksiyon görürler.
- 2) Prostaglandin (PGI_2), heparin sülfat ve ecto-ADPase gibi moleküller sentezleyerek trombositler için nontrombojenik bir yüzey oluştururlar.
- 3) Nitrik oksit (NO), endothelin, PGI_2 ve angiotensin II gibi moleküllerin oluşumunu sağlayarak damar tonusunun devamına olanak sağlarlar.
- 4) Bağ dokusu matrisinin oluşumu ve devamını sağlarlar.
- 5) Dolaşan lökositlerin adezyonunu önleyen bir yüzey oluştururlar .
- 6) Arter duvarından geçişleri sırasında lipoproteinleri modifiye ederler.

Hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabet, sigara kullanımı ve diğer eşlik eden risk faktörleri endotel hücrelerin homeostatik fonksiyonlarını bozarak ateroskleroz gelişimine yol

açabilirler (23 ,25-35).

Düz kas hücreleri: Bunlar arter duvarının kontraktıl hücreleridir ve duvarın asıl kitlesini oluşturur. Bunlar, hücreleri çevreleyen matriksi üretirler. Kolesterolü biriktirerek köpük hücreleri haline gelirler (ateroskleroza özgü lipid yüklü hücreler). Bu hücreler ayrıca büyüme faktörlerini ve sitokinleri üretebilirler (23 ,25-35).

Makrofajlar: Monositler arter duvarına kan dolaşımından girer ve makrofajlara dönüşürler. Aterosklerozun hemen tüm aşamalarında yer alan, temel hücresel enflamatuvar araçlardır. Lipoproteinleri modifiye ederek ve çeşitli vazoaktif maddelerin (kemotaktik, büyümeyi inhibe eden ya da uyaran moleküller ve litik enzimler) oluşumunu sağlayarak inflamasyonda ve aterogeneizde kritik rol oynarlar. Makrofajlar kolesterolü biriktiren başlıca hücre tipidir (aterosklerotik köpük hücrelerinin ana kaynağı). Makrofajlar kendi proliferasyonunu uyarma özelliğine sahiptirler (23 ,25-35).

T Lenfositleri: Lenfositler de arter duvarına girerler ve düz kas hücre gelişimini ve makrofaj aktivitesini düzenleyen bir dizi faktör üretebilirler. Atherosklerotik lezyonlarda makrofajlarla birlikte fazla miktarda T lenfositlerinin görülmesi aterogenezin gerek enflamatuvar ve gerekse immun yanıt olarak yorumlanması gerektiğini düşündürmektedir.

Matriks: Matriks, arter duvarı hücrelerine destek olan temel maddedir. Kollajen, elastin ve proteoglikanlardan oluşur. Aterosklerozun başlamasına neden olan olaylardan biri de kolesterol açısından zengin olan lipoproteinlerin matriksin çeşitli öğelerine bağlanması olabilir (23 ,25-35).

2.2.2. Aterosklerozun Gelişimi (25-30)

Aterosklerozun gelişimini ve rol oynayan mekanizmaları açıklamadan önce normal bir arterin yapısını incelemek damar duvarında oluşan patolojik olayları anlamamızda yardımcı

olacaktır.

Arter duvarında başlıca üç morfolojik bölge bulunmaktadır:

İntima; Endotel hücrelerinden oluşan kesintisiz bir tabaka ile endotel hücrelerinin hemen altında (subintimal boşluk) yer alan, matriks açısından zengin, dar bir bölgeden meydana gelmektedir. Bu bölge, arter duvarında aterosklerotik lezyonların geliştiği bölgedir.

Media; Arter duvarının en geniş bölgesidir ve düz kas hücrelerinden oluşur. İntima ve media “iç elastik membran” adı verilen kesintili bir elastin bant ile birbirlerinden ayrılır.

Adventisya; Damarların dış yüzeyini çevreleyen gevşek bir bağ dokusundan oluşmaktadır. Adventisya, arter duvarını besleyen küçük kan damarları (vasa vasorum) içerir.

Aterosklerozun evreleri:

Aterosklerozun ana kaynağını oluşturan damar duvarında yağ birikimi sonucu ortaya çıkan lezyonlar birçok insanın ana arterlerinde yaygın olarak bulunur ve yaşam boyunca bir görünür bir kaybolurlar. Ancak yağ birikintilerinin aterosklerozun öncül belirleyicileri olduğuna ve bazı yağ birikintilerinin daha karmaşık lezyonlar geliştirdiklerine inanılmaktadır. Kabaca yağ birikintileri arterlerin iç yüzünde görülen düz, sarımsı oluşumlardır. Bu yağ birikintilerinin gelişimindeki ilk aşamalardan biri, kan monositlerinin endotel hücrelerine yapışması ve monositlerin hücrelerin arasından intimaya göç etmeleridir. Monositler arter duvarı içinde makrofajlara dönüşürler. İntima içindeki makrofajlar lipid (özellikle kolesterol) biriktirerek köpük hücreleri halini alırlar (1-8,21,26-35).

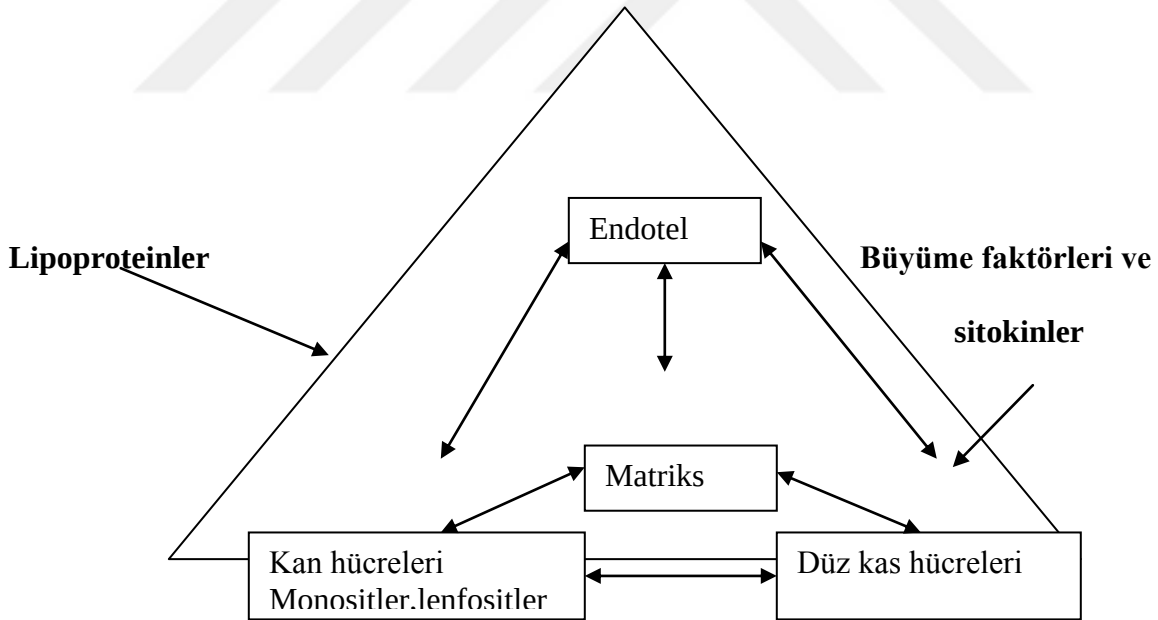
Ateroskleroz gelişiminin ilk evreleri kolesterol ile beslenen hayvanlarda, yüksek düzeyde yağ ve yüksek düzeyde kolesterol içeren diyetle beslenmeye başladıktan sonraki birkaç gün içerisinde gözlenebilir (7).

Monositlerin yerel birikiminden sorumlu tüm nedenler henüz tam olarak

anlaşılammamakla birlikte, arter duvarına lipid veya lipoprotein birikiminin bu olayı başlatan etkenlerden biri olduğu sanılmaktadır (23) .

Proliferatif lezyon: Bu devrede daha fazla sayıda lipid dolu makrofaj birikir. Düz kas hücreleri mediadan intimaya göç eder ve proliferere olmaya başlarlar. Düz kas hücreleri matriks maddesi salgılar ve hücre içinde lipid biriktirebilirler. Endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofajlardan bazı regülatör etkenlerin serbest bırakılması ile çeşitli hücresel elementler arasında dinamik bir etkileşim olduğu sanılmaktadır (Şekil 5).

Şekil 5: Damar duvarı ögeleri ve diğer faktörlerin etkileşimleri (7)



Aterom (Kompleks Lezyon): LDL-K gerek makrofajlarda gerekse düz kas hücrelerinde ve ekstraselüler matrikste birikmeye devam eder. İntraselüler lipidlerin hücreler üzerinde toksik etki gösterdiği ve hücre ölümüne (nekroz) yol açtığı düşünülmektedir. Bunun sonucu olarak hücre parçalanır ve lipidler açığa çıkar. Bu hücre artıklarını ortadan kaldırmak için lezyona daha fazla makrofaj girer ve bunun sonucunda daha çok sayıda lipid-yüklü köpük hücresi oluşur. Hücre ölümü ve onarımı şeklinde meydana gelen bir kısır döngü gelişir (Şekil 6) (1-8,21,26-35).

Şekil 6: LDL ve aterotrombojenez (7)



Endotel hücrelerinin kaybı ve hücre yıkıntılarının kan dolaşımına açık duruma gelmesi nedeniyle bu tehlikeli kompleks lezyon ülserleşebilir. Bu da bu bölgeye trombositlerin yapışmasına, fibrin birikimine ve trombus oluşumuna yol açar. Trombus arteri ciddi şekilde tıkalayabilir. Bir koroner arter trombozu ve / veya embolisi kan akımını ani olarak engelleyerek

akut miyokard enfarktüsü gelişimi ile sonuçlanabilir (1-8,21,26-35)

Geçmiş yıllarda aterosklerozun arter duvarının zedelenmesine yanıt olarak ortaya çıktığı ileri sürülmüştür. İlk olarak arter duvarının çeşitli bölgelerinde meydana gelen endotel hücreleri kayıplarının kolesterolden zengin lipoproteinlerin içeri girmesine ve trombositlerin arter duvarının savunmasız kalmış temel maddesine yapışmalarına olanak verdiği düşünülmüştü. Trombositlerin, düz kas hücrelerinin göçünü ve proliferasyonunu stimüle eden büyüme faktörünü (PDGF) açığa çıkardıkları varsayılmıştı. Ancak, birçok aterosklerotik lezyonun başlangıcında endotel hücrelerinde büyük bir zedelenme (hücre kaybı) olmadığı kabul edilmektedir. Bu gerçek, zedelenmeye yanıt varsayımının geçerliliğini etkilemez. Bu "yıkım" moleküler düzeyde meydana gelebilir ve çeşitli arter duvarı hücrelerinden uyarı gönderilmesini içerir. Aslında PDGF' nin endotel hücreleri, makrofajlar ve hatta düz kas hücreleri tarafından da sentez edildiği ve salgılandığı bilinmektedir. Gerek trombosit kökenli olanlar, gerekse diğer büyüme faktörleri yalnız düz kas hücrelerinin göçü, proliferasyonu ve sentez aktivitesi değil; aynı zamanda monositlerin yapışması, göçü, ve arter duvarındaki farklılaşmasını da etkilemek üzere aterosklerozun patogeneğinde önemli rol oynarlar. Trombosit kökenli büyüme faktörünün çeşitli hücreler tarafından LDL reseptörünün ortaya çıkışını ayarladığı gösterilmiştir. Bu durum, bu hücrelerin kolesterolü yönetme şeklini önemli ölçüde değiştirebilir. Ancak kısa bir süre önce açıklanabilmiş olan karışık uyarı gönderme olaylarında çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin yer almaktadır (1-8,21,26-35).

Bugün artık ateroskleroz gelişim sürecinde yüksek LDL düzeylerinin önemi iyice anlaşılmıştır. Tartışma konusu olan şey ise LDL düzeylerinde ki artışın hangi mekanizma ya da mekanizmalarla bu süreci başlattığıdır.

2.2.3.Yükselen LDL Düzeyleri ve Ateroskleroza Neden Olan Mekanizmalar

Elde edilen çeşitli kanıtlar plazmadaki yüksek LDL düzeylerinin ateroskleroz görülme oranı artışı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, apo-B ve LDL aterosklerotik lezyonlarda yer alırlar. LDL' nin köpük hücre oluşumuna neden olduğu mekanizma henüz aydınlatılmaya başlanmıştır. Köpük hücreler esas olarak makrofajlardan ve daha küçük bir oranda düz kas hücrelerinden türemektedirler. Ancak, bu hücreler normal plazma LDL' si ile inkübe edildiklerinde aşırı miktarda kolesterol ile yüklenemezler. Diğer yandan, LDL' nin modifikasyonu makrofajlarda belirgin bir kolesterol birikimi ile sonuçlanabilir. Bu durum, *LDL modifikasyonu- makrofaj birikimi hipotezinin* ortaya atılmasına neden olmuştur. Bu hipoteze göre LDL, alıma ve kolesterol birikimine aracılık eden özgün reseptörler tarafından tanınacak şekilde değişebilir. LDL arter dokusuna girmiş olduğundan, bu değişiklik büyük bir olasılıkla arter duvarında meydana gelmektedir (6-8,30-37).

Düşük dansiteli lipoproteinler laboratuvarında *asetilasyon, asetoasetilasyon ve malondi-aldehit* gibi çeşitli kimyasal işlemlerle değiştirilebilmektedir. Bu reaksiyonlar LDL' nin makrofajlar tarafından tutulmasına ve kolesterol ester birikmesine yol açarlar. Bu değişiklikler apo-B üzerindeki lizin kalıntıları ile bir kovalent bağ oluşturur ve pozitif yüklü lizini nötr yüklü lizine çevirir. Bu tür değişiklikler LDL' nin LDL reseptörü ile reaksiyona girmesini önler, ancak, bunların asetil LDL reseptörü (avcı reseptörler) tarafından tutulmalarını stimüle eder (6-8,30-37).

LDL' nin laboratuvarında yaratılan çeşitli kimyasal türevleri modifiye LDL' nin in vivo olarak bulunabilecek prototiplerini temsil edebilir. Ayrıca, oksidasyon ile değiştirilen LDL'

nin makrofajlar tarafından tutulduğu ve kolesterol birikmesine neden olduğu gösterilmiştir. Okside olmuş LDL' nin tutulmasına asetil LDL reseptörü en azından kısmen aracılık eder. Buna ek olarak, tanımlanmamış başka reseptörler de bu olaya katılıyor olabilirler (6-8,30-37).

Asetil LDL (Avcı) Reseptörü (6-8,30-37)

Avcı reseptör makrofajlarda yer alır. Ayrıca bazı türlerde karaciğer endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından salgılanır. Birbirinin aynı üç alt ünitelerden oluşan ve molekül ağırlığı 220.000 Dalton olan bir trimerdir.

Asetil LDL reseptörünün Tip I ve Tip II adıyla anılan iki belirgin şekli tanımlanmıştır. Tip II, sistein'den zengin tekrarların eksik olması dışında Tip I ile aynıdır.

Aydınlatılması gereken ilginç bir soru, asetil LDL reseptörünün inhibe edilmesinin yararlı mı yoksa zararlı mı olacağıdır. Asetil LDL reseptörü aktivitesinin stimüle edilmesi, hızlanmış aterosklerozun ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir. Bu da aterogenezi şiddetlendiren bir hücre zarı oksidasyonu ve nekrozu oluşmasına neden olabilir.

Oksitlenmiş LDL (6-8,30-37)

Potansiyel fizyolojik önemi olan kimyasal modifikasyon, oksidasyondur. Bu tür kimyasal modifikasyonun LDL' nin aterojen lipoproteinlere dönüştürülmesinden sorumlu olan stimulan olabileceğini düşündüren kanıtlar ortaya çıkmaya başlamıştır.

Halen LDL' nin iki oksitlenmiş şeklinin var olduğu anlaşılmaktadır:

- (a) *Az modifiye LDL* – Burada apo-B' de önemli bir değişiklik olmadan lipidler okside edilmiştir. *Az modifiye LDL* , hala LDL reseptörü ile reaksiyona girebilmekte ve asetil LDL reseptörü tarafından önemli bir ölçüde alınmaktadır. Ancak, *Az modifiye LDL* arter duvarı hücreleri üzerinde anormal başka etkiler gösterebilir.

(b) *Çok modifiye LDL* – LDL’ nin asetil LDL reseptörü (LDL reseptörü değil) tarafından tanınacağı ve makrofajlarda lipid birikmesine neden olacağı şekilde geniş çapta değişime uğramasıdır.

Oksidasyon Mekanizması (36,37)

LDL, arter duvarının başlıca üç hücre tipi olan endotel hücreleri, düz kas hücreleri veya makrofajlar ile inkübe edildiğinde okside olabilir. Ayrıca LDL laboratuvarında Cu^{++} gibi ağır metallerle inkübe edilerek de oksidlenebilir. İnkübasyon süresi arttıkça LDL büyük oranda değişime uğrayabilir ve makrofajlar tarafından tutulan lipoproteinlere çevrilebilir. Bu hücreler, yağ asitlerinin oksijenasyonunu katalize eden enzim olan lipoksijenazların salgılanmasıyla, oksidasyona neden olabilirler. Özellikle, LDL’ nin poliansatüre yağ asitleri, oksidasyona karşı çok duyarlıdır. Bu şekilde, ketonlar, aldehitler ve alkollerle içeren yağ asidi türevleri oluşur. Bu türevler son derece reaktiftir ve lizin kalıntıları ile kovalent reaksiyona girerek LDL’ nin apo-B’ sini asetil LDL reseptörü tarafından bir modifiye protein haline çevirirler.

Makrofajlardan meydana gelen 15-lipoksijenaz’ ın LDL’ nin in vivo oksidasyonuna aracılık ettiği varsayılmaktadır. 15-lipoksijenaz’a ait mRNA, asetil LDL reseptörünü aterosklerotik plakların makrofaj yönünden zengin lezyonlarına lokalize etmiştir.

Okside LDL’ nin (ve β -VLDL Kalıntılarının) Aterogenezdeki Rolü (36,37)

Varsayılan aterogenez aşamaları aşağıda sıralanmıştır:

- (1) *Lipoprotein taşınması:* LDL ve β -VLDL ile diğer aterojen lipoproteinler arter duvarına girerler. Plazmada yüksek düzeyde bulunan aterojen lipoproteinler artere girmeye hazır olan konsantrasyonu potansiyel olarak arttırırlar.
- (2) *Lipoprotein birikimi:* LDL arter duvarı bağ dokusu veya proteoglikanlar ile reaksiyona girebilir. Aynı durum β -VLDL için de geçerlidir. Bu olay kolesterol yüzünden zengin lipoproteinlerin lokal konsantrasyonunu arttırabilir.
- (3) *Lipoprotein modifikasyonu:* LDL' nin avcı reseptör kanalıyla makrofajlar tarafından tanınabilmesi için değişimi gereklidir. β -VLDL'nin değişime uğraması gerekmez. Modifiye edilmemiş β -VLDL makrofajlarda kolesterol birikimini stimüle eder. Ancak, bu lezyonda β -VLDL okside edildiği takdirde, β -VLDL' nin tutulması iki yolla olabilir. LDL reseptörleri ve modifiye lipoproteinlere ait reseptörler aracılığı ile. Kimyasal olarak değiştirilmiş (oksidlenmiş) β -VLDL' nin avcı reseptör tarafından tanındığı gösterilmiştir.
- (4) *Monositlerin endotel hücrelerinde tutunması:* Az modifiye LDL veya β -VLDL monosit tutunması için bir uyarıcı olabilir. Alternatif olarak, bunlar endotel hücrelerinden sitokin salgılanmasını arttırabilirler. Monosit kemotaktik proteinin (MCP-1) az modifiye LDL uyarısı ile endotel hücrelerinden salgılandığı gösterilmiştir. Endotel hücrelerinin yüzeyinde monosit kümelenmesine aracılık eden bir reseptörün var olduğu sanılmaktadır. Bu reseptör için en uygun adaylar arasında VCAM1 ve ICAM1 bulunmaktadır.
- (5) *Monosit göçü:* Az modifiye LDL monositlerle ilgili bir kemotaksi etkenidir ya da kemotaksi özelliğine sahip MCP-1' in salgılanmasına neden olabilir. Ayrıca, lizolesitinin üretiminin monosit göçü için bir stimulan olabileceği ileri sürülmüş-tür.

(6) *Monosit farklılaşması:* Az modifiye LDL, endotel hücrelerinden monosit koloni stimülasyon etkeninin (M-CSF) salgılanmasına neden olur. Bu da, makrofajları etkin kılan bir faktördür.

(7) *Köpük hücre oluşumu:* Az modifiye LDL arter duvarına giren makrofajlar tarafından tekrar modifiye edilir. *Çok modifiye LDL*, asetil LDL reseptörü (avcı reseptör) tarafından tanınır ve bu hücreler tarafından tutulur. Daha önce açıklandığı gibi, β -VLDL, LDL reseptörü kanalıyla makrofajlar tarafından da tutulur ve kolesterol birikmesine neden olur. Avcı reseptörlerin tavşanların düz kas hücrelerinin yüzeyinde bulunduğu, insan düz kas hücrelerinde bulunmadığı gösterilmiştir. Ancak, ateroskleroz lezyonu içinde düz kas hücrelerinin bu reseptörü açığa çıkarmaya zorlanması olasıdır. Bu olay değişmiş lipoproteinlerin bu hücreler tarafından tutulmasını açıklamaktadır.

(8) *Modifiye LDL ve sitotoksitesite arasında bağlantı:* Lipid fraksiyonu içindeki değişmiş LDL' nin sitotoksitesitesi aktif bir kolesterol türevi ve/veya lizolesitin olabilir. HDL' nin, hücreleri bir sitotoksik lipid fraksiyonundan koruduğuna dikkat edilmelidir. Ayrıca, HDL, LDL' nin endotel hücreleri, makrofajlar ve düz kas hücreleri tarafından okside edilmesini önler. Dolayısıyla, HDL' nin koruyucu yararlarının bir bölümü HDL' nin antioksidan özelliklerine bağlı olabilir.

Oksitlenmiş Lipoproteinlerin , Proliferatif Lezyon Stimülasyonundaki Varsayımsal Rolü

Çeşitli modifiye yağ asidi türevlerinin (alkoller ve aldehitler) ve sterol türevlerinin lipidlerin oksidasyonu sırasında oluştuğu gösterilmiştir. Bu türevlerin oksitlenmiş lipoproteinlerin içinde kaldığı ve makrofajlar tarafından lipoprotein partikülleri ile birlikte alındığı ileri sürülmüştür. Bunlar lezyon içindeki ve dolayındaki diğer hücrelerin gelişimini ve sentez

edilmelerini ayarlayan sitokinlerin salgılanması amacıyla makrofajları doğrudan stimüle edebilirler.Örneğin, oksitlenmiş lipidlerin (linoleik asit türevleri) makrofajların IL-1 β mRNA' sının hiperkolesterolemik maymunların aterosklerotik lezyonlarında belirgin şekilde yükseldiği gösterilmiştir (normal arteriyel bölümlerde hiç IL-1 mRNA yoktur). L-1 β düz kas hücrelerinin, trombositlerden türeyen büyüme faktörü (PDGF) açığa çıkarılmasına ve PDGF reseptörlerini salgılamasına neden olur. Bu olay, proliferatif ateroskleroz lezyonunun bir parçası olarak, düz kas hücresinin proliferasyonunun stimüle edilmesiyle sonuçlanabilir (36,37).

Oksitlenmiş LDL' nin In Vivo Olarak Var Olduğu Kavramını Destekleyen Kanıtlar(36,37)

(a) Türetilen (kimyasal olarak modifiye edilen) proteinlere ait antikorlar, tavşanın ateroskleroz lezyonundaki maddeler ve lezyonlardan izole edilen LDL benzer partiküller ile reaksiyona girerler. Buna ek olarak, plazmada oksitlenmiş LDL varlığını tanıyan otoantikorlar vardır ve bu durum antijenin (modifiye protein) doğal olarak varlığını düşündürür.

(b) Hiperkolesterolemik hayvanlara uygulanan antioksidan tedavi ateroskleroza geciktirir. İki ayrı araştırma grubu WHHL tavşanlarındaki aterosklerozun antioksidan tedavisi ile azaldığını göstermiştir. Bu araştırmalarda probukol ve lovastatin gibi plazma kolesterol düzeylerini sadece az miktarda düşüren hipolipidemik ajanlar kullanılmıştır. Buna ek olarak, probukol LDL partikülünün çekirdeğine kadar giren eşsiz bir antioksidandır. Her iki gruptaki tavşanların plazma kolesterol düzeyleri karşılaştırılmıştır. Kolesterol düzeyleri her iki grupta da yaklaşık 500-600 mg/dl' dir. Dolayısıyla, bu tavşanlar hala açıkça hiperlipidemik durumdadır. Ancak, 6 hafta sonra tavşanların aortları incelendiğinde, probukol grubunda

aterosklerozun çok az olduğu görülmüştür. Probucol grubunda aorta yüzeyinin yaklaşık %30' u ateroskleroz gösterirken, lavostatin grubunda bu oran %80 olmuştur. Probucolün antioksidan etkisinin LDL' nin oksitlenme potansiyelini azalttığı ve dolayısıyla aterosklerozu düşürdüğü sonucuna varılmıştır.

(c) LDL yağ asitlerinin oksitlenme potansiyelinde azalma, aterogenezi geciktirir. Bu araştırmada, tavşanların bir bölümü oksidasyona karşı son derece hassas olan poliansatüre yağ asitleri (linoleik asit) ile beslenirken ikinci grup, LDL' yi oksidasyona dirençli oleik asit yönünden zenginleştirilmek için, monoansatüre yağ asitleri içeren diyetlerle beslenmiştir.Üç grup tavşan, tavşan yemi, ay çiçek yağından zengin diyet ve oleik asit yönünden zengin bir ay çiçek yağı değişkesi ile beslenmiştir.Poliansatüre yağ asitleri (C18:2) yönünden zengin olan LDL partiküllerinde oksidasyon atağına erişebilen daha fazla sayıda çift bağ bulunmaktadır. Monoansatüre yağ asitleri oksidasyona dirençlidir. Kontrol grubundan ve ay çiçek yağı ile beslenen tavşanlardan gelen LDL makrofajlar tarafından çok daha kolaylıkla alınır. Bu durum polansatüre yağ bakımından zengin olan diyetlerin daha aterojenik olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, uzun yıllar boyunca koroner kalp hastalığını azaltması ve LDL düzeylerini düşürmesi bakımından bu tür diyetlerin yararlı olduğu öğütlenmiştir. LDL oksidasyona karşı daha hassas olabilirse de koruyucu etki doğrudan doğruya LDL düzeyinin düşük olması ile ilgili olabilir. Bunun net etkisi ateroskleroz riskinin azalmasıdır.

(d) Gerek doymuş gerekse çoklu doymamış yağ yerine tekli doymamış yağ asidinin (oleik asit; C18:1) yer aldığı diyetler daha da yararlı olabilir. Birçok insan tarafından yüksek düzeyde tekli doymamış yağ içeren diyetler tüketilmektedir. Bu tür diyetlerin tüketimi güvenlidir.

Oksidize olmuş LDL endotele bağımlı vazodilatasyonu bozar, insan endotel hücrelerinde bir CPP32 benzeri proteinin (bir tür proteaz) aktivasyonu yoluyla insan endotel

hücrelerinde apoptozis başlatır ve enflamatuvar bir yanıt ortaya çıkarır. Okside LDL vasküler düz kas hücrelerinin angiotensin N uyarısına verdikleri fonksiyonel yanıtı da modifiye eder (1-8,21,36,37).

Okside LDL 'nin trombositlerdeki nitrik oksit sentez (NO sentez) aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmektedir. Bunun sonucunda fibrinojen trombositlere daha fazla bağlanır ve trombus formasyonu hızlanır (38,39).

Ayrıca LDL plazma ve kan viskozitesindeki artış aracılığı ile de aterotrombojeneze katkıda bulunur; in vitro deneylerde bu artış gösterilmiş, epidemiolojik çalışmalarda ise artışı destekleyen sonuçlar elde edilmiştir (40).

2.2.4. Koroner Kalp Hastalığı ve Miyokard Enfarktüsünde Risk Faktörleri

Koroner arter hastalığı Birleşik Devletlerde ve Batı Avrupa' da önemli bir sağlık sorunu olup ölüm nedenlerinin ilk sırasında yer alır. 1989 yılında Birleşik Devletlerde kalp hastalıklarına bağlı yaklaşık 734.000 ölüm meydana gelmiştir (toplam ölümlerin yaklaşık %35'i). Aynı yılda, bütün malign neoplazmalara bağlı ölümler 496.000 dir. Ayrıca, bu hastalık Türkiye'de de önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Buradaki durum da dünyanın sanayileşmiş bir çok ülkesinde görülen durumdan farklı değildir. Türkiye gelişmesini sürdürdükçe ve yaşam düzeyi yükseldikçe, doktorlar bu soruna yeterince eğilip hastalarının yaşam biçimini değiştirmelerine yardımcı olmazlarsa kalp hastalığı ve miyokard enfarktüslerinin artması kaçınılmazdır. Kalp hastalığına neden olan birçok etken hasta tarafından riski azaltacak şekilde değiştirilebilir. Ancak bizim (doktorlar, bilim adamları ve sağlık personeli) onlara yol göstermemiz gerekir. Koroner kalp hastalıklarının bir çoğu

önlenebilir. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve iletişim araçları ile insanların daha yoğun bilinçlendirilmesi sonucunda kalp hastalıkları nedenli ölümlerde son yirmi yıl zarfında önemli ölçüde azalma olduğu belirlenmiş olup 1979 ve 1989 yılları arasında yaş gruplarına göre kalp hastalığından ölüm oranları %22 oranında azalma göstermiştir. Aynı süre içerisinde kanser nedenli ölümlerde ise % 1.7 oranında artış meydana gelmiştir (41-44).

Erken oluşmuş aterosklerozun gelişmesi ile ilişkili olduğu kanıtlanmış çeşitli risk faktörleri bulunmaktadır. Birçok araştırmacı erken koroner arter hastalığının gelişmesi için aterojenik lipoprotein düzeylerinin artması ve belirli bir ölçüde hiperkolesterolemi olması gerektiğine inanmaktadırlar. Ancak, bir bireyde multipl risk faktörlerinin bulunması erken ateroskleroz gelişme şansını büyük ölçüde artırmaktadır ve etkenlerin birlikteliği basit toplam etkiden daha fazladır (41-44).

Erken Kalp Hastalığına Oluşumunda Yüksek Kan Kolesterolü Düzeyleri ile Doymuş Yağ ve Kolesterol Açısından Zengin Diyetlerin Rolü (44)

Kolesterol-Diyet -Kalp Hipotezi, aşağıda basit şekilde açıklanmıştır:

- Kan kolesterol düzeyi yükseldikçe, koroner kalp hastalığı riski de artar,
- Yağ (özellikle doymuş yağ) ve kolesterol açısından zengin diyetler kan kolesterol düzeylerini yükseltir ve lipoproteinlerin kimyasal yapılarını değiştirir,
- Kan kolesterol düzeylerinin düşürülmesi koroner kalp hastalığı riskini azaltır.

Kolesterol-Diyet- Kalp varsayımını destekleyen kanıtlar (45-48)

1. Aterosklerotik lezyonun incelenmesi

İnsanlarda oluşan veya yüksek düzeyde doymuş yağ ve kolesterol içeren diyetlerle

beslenen hayvanlarda deneysel olarak başlatılan aterosklerozun patolojik özellikleri arasında, arter hücreleri içinde ve etrafında kolesterol birikimi ve değişik miktarlarda hücre proliferasyonu ile fibrozis bulunmaktadır. Daha önce belirtildiği gibi biriken kolesterol plazma lipoproteinlerinden gelmektedir. Özgün hücre türleri özellikle makrofajlar ve ikinci derecede olmak üzere, düz kas hücreleri kolesterolü biriktirirler ve köpük hücreleri haline dönüşürler. Kolesterol birikimi aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde kilit rolü oynayan olgudur (1-8,21,30-33,48).

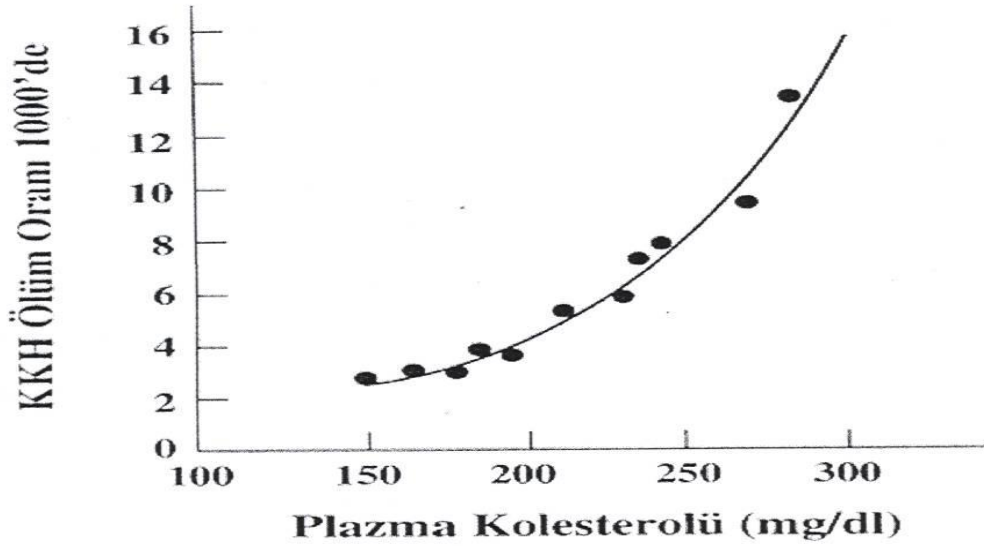
2. Hayvan çalışmaları

Hayvanlar üzerinde yapılan deneyler, diyetteki yağ ve kolesterol ile ateroskleroz ve plazma kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki ile ilgili daha geniş bir fikir sahibi olmamızı sağlamıştır. Ateroskerozu incelemek mümkün olan her hayvan kullanılmış, bu hayvanların hemen hemen hepsi doymuş yağ ve kolesterol açısından zengin diyetlerle beslendiklerinde hiperkolesterolemi gelişmiş ve lipid birikimi ile karakterize olan arter lezyonları oluşmuştur. Deney hayvanlarında hızlandırılmış aterosklerozun gelişmesi için gerekli kilit etken bu hayvanların, hiperkolesteroleminin başlamasına ve aterojenik lipoproteinlerin oluşumuna neden olan yağ ve kolesterol açısından zengin diyetle beslenmeleridir. Diyetle aşın miktarda kolesterol bulunmadığı zaman erken ateroskleroz oluşmaz. Örneğin, maymunlar, günde 500 mg kolesterol ve kalorinin %18 ile 20'sinin doymuş yağ olarak verildiği tipik batı diyetine benzer diyetlerle beslendiklerinde maymunlarda insan aterosklerozuna çok benzeyen lezyonlar gelişmiştir. Ayrıca, ateroskleroz lezyonları meydana geldikten sonra, plazmadaki kolesterol düzeyi düşürüldüğü takdirde, bu hayvan modellerinde lezyonlar gerilemektedir (boyutlan belirgin şekilde küçülmektedir) (49-53).

3. Epidemivoloji araştırmaları

Geçen 40 yıl boyunca yapılan araştırmalar plazmadaki kolesterol konsantrasyonları ile miyokard enfarktüs oluşumu ve koroner ölümler arasında doğrudan ilişki bulunduğunu göstermiştir. Plazma kolesterol konsantrasyonları daha yüksek olan bireylerde miyokard enfarktüsü ve koroner ölüm yüzdesi artmaktadır (44,52) (Şekil 7).

Şekil 7 : Kan kolesterol düzeyi ile koroner ölümler arasındaki ilişki:



Birçok araştırmada, hastalık yüzdesi artışının 200 mg/dl üzerinde bulunan total kolesterol ve 130 mg/dl LDL-K değerlerine eşlik ettiğı gözlenmiştir. Bu oranlar üzerinde bulunan değerler yüksek kabul edilmekte ve bireyi yüksek risk gurubuna sokmaktadır (53).

2.3.NİTRİK OKSİT(NO)

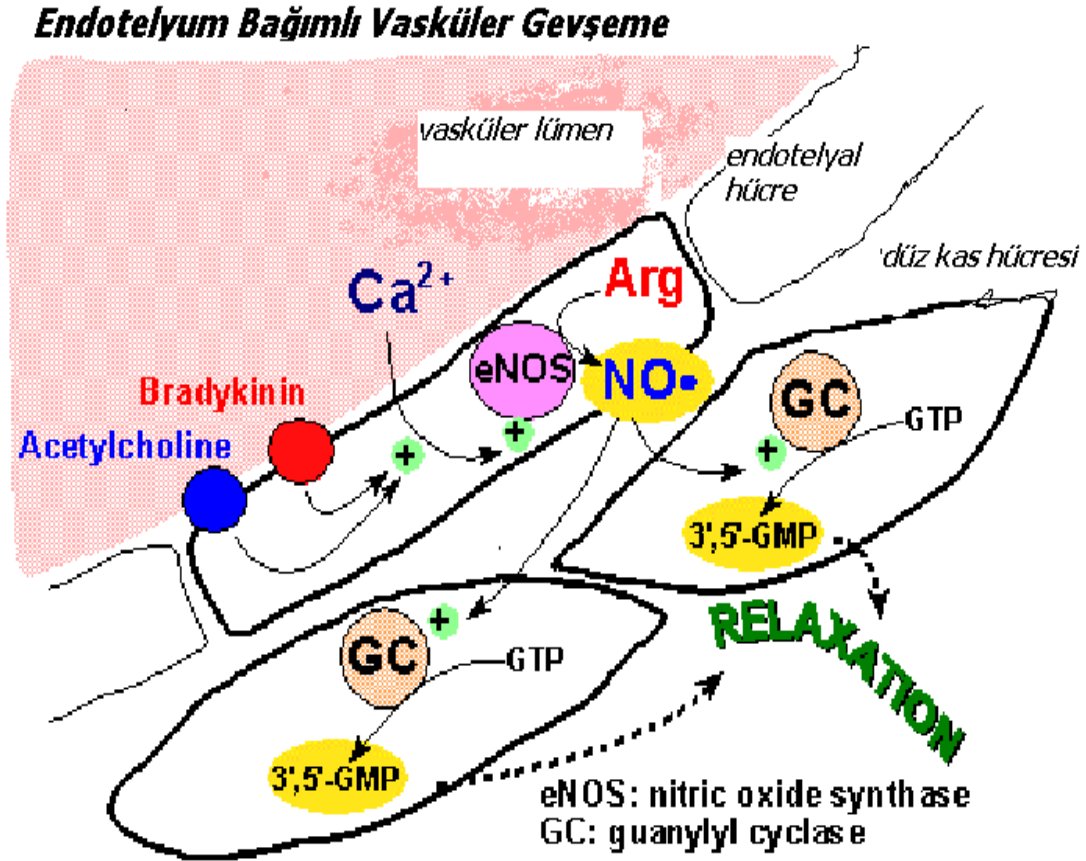
NO endotelyum kaynaklı maddelerden biridir ve özellikle hipertansiyon oluşumunda büyük rol oynar. NO çözünebilen bir gaz olup, yarılanma ömrü 6-30 saattir. Endotelial

hücrelerde Ca-kalmodulin bağımlı bir enzim olan nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arginin aminoasidinden sürekli olarak sentezlenir. Bu hem içeren oksijenaz çeşitli kofaktörler ve O₂ varlığında L-argininin guanido azot atomlarının birinden beş elektron oksidasyonunu katalizler. Furchgott ve Zawadzki tavşan aortasında yaptıkları çalışmada endotelyum çıkarılmadan önce asetilkolin verildiğinde damarın gevşediğini endotelyum çıkarıldıktan sonra bu maddeyle uyarılması halinde ise damarda kasılma olduğunu saptadılar. Asetilkolinle uyarılma sonucu oluşan gevşemeden sorumlu olan maddeye başlangıçta endothelium-derived relaxing factor (EDRF) adı verildi. Ancak daha sonraları bu maddenin NO olduğu anlaşıldı. Bugün asetilkolin, histamin, trombin, serotonin, ADP, bradikinin ve substans P gibi maddelerin endotelden NO salınımını artıracakları bunun yanı sıra bu maddelerden bazılarının (asetilkolin, serotonin, norepinefrin ve histamin) endotel yokluğunda vasküler düz kasları kasabilecekleri gösterilmiştir (12,54-58).

Endotel hücrelerinin asetilkolin, bradikinin ve trombin gibi vazoaaktif agonistlerce uyarılması membran fosfolipazlarını aktive ederek inositol trifosfat (IP₃) oluşumunu artırır. IP₃ endoplazmik retikulum üzerindeki reseptörlerine bağlanarak hücre içi kalsiyum iyon düzeylerini yükseltir. Kalsiyum (Ca⁺² kalmoduline bağlanarak bir grup enzimin yanı sıra NOS'ı da aktive eder (Şekil 8) (12,54-58).

Endotelyum kaynaklı gevşetici faktör olduğu belirlenen NO doğada en yaygın olarak bulunan iki atmosferik gazın bir kombinasyonu olup çok basit bir yapıya sahiptir(12,54-58).

Şekil 8: Endotel kaynaklı vazodilatasyon mekanizmaları



NO'nin fizyolojik kaynağı NO Sentaz (NOS) enzimidir. Enzimin üç önemli izoenzimi de aşağıdaki reaksiyonu kataliz eder:



Bu üç izoenzimin temel özellikleri değişik araştırmacılar tarafından incelenerek izoenzimler isoform I ya da nNOS (noronal), isoform II ya da iNOS (indüklenebilir) ve isoform III ya da eNOS (endotelial) olarak isimlendirilmiştir (12,54-60).

NO salınımı vasküler düz kas cGMP düzeylerini artırarak vazodilatasyona sebep olur ve bu molekül kan basıncı, vasküler tonusun regülasyonu ve hücre iletişimde kritik rollere sahip olan biyolojik ve kimyasal bir mediyatördür. (Şekil 8) (12,54-60). Endotelyal NOS tarafından NO üretimi için gerekli substrat ve kofaktörlerin genellikle optimal miktarlarda dokuda mevcut olduğu kabul edilir. Fizyolojik ortamlarda hem eNOS hem de nNOS aktivasyonu için kalsiyum (Ca) gereklidir. Bu nedenle kalsiyum bu enzimlerin fizyolojik düzenleyicisidir. NO hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu (iCa) 10^{-7} mol/L' nin üzerine yükseldiği zaman nöronal ve endotelyal hücreler tarafından sentezlenir. Hücre yüzeyinde reseptörlerin aktivasyonu ile endotelyal hücrelerde kalsiyum konsantrasyonunda fizyolojik olarak artış söz konusudur. Çoğu fizyolojik olarak meydana gelen agonistler (asetilkolin, bradikinin, endotelin, serotonin vb) endotel hücrelerde bu reseptörleri aktive ederek NO'nun salınımını uyarırlar. (12,54-58).

Transisyon metalleri için güçlü bir ligand olması ve özellikle birçok enzimin hem-demir bileşenine hızla bağlanabilme özellikleri NO'e erken hücre içi haberci kimliği kazandırmaktadır(12,54-58).

NO aynı zamanda santral ve periferik nörotransmitterdir ve nonspesifik immunitede savunma mekanizmalarında etkin rol oynar (54-58).

Arginin analogları tarafından eNOS'un deneysel inhibisyonu periferik arteriyel direnci artırır ve hipertansiyonu indükler. Eklampsi gibi bazı hipertansiyon tiplerinde metillenmiş arginin analoglarının plazma konsantrasyonlarında artış olduğu rapor edilmiştir. Böylece azalmış NO oluşumu ve salınımının hipertansiyonun çeşitli tiplerinin etyolojisinde çok önemli rol oynayabileceği anlaşılmaktadır (54-60).

NO biyolojik sistemlerde çok kısa bir yarılanma ömrüne sahip olup, hızla nitrit ve nitrate metabolize edilir. Bunlar da daha sonra yavaşça idrarla atılırlar. Bu dayanıklı son ürünler in vivo olarak NO sentaz aktivitesinin gösterilmesinde yararlı parametreler olarak değerlendirilirler (54-60).

NO' in organizmada birçok yararlı etkileri olmasının yanı sıra bu molekülün bir serbest radikal olarak hareket edebildiği de bilinmektedir. NO intrinsik glomeruler hücreler tarafından da salgılanır. Bu hücrelerden NO salınımının makrofaj kaynaklı sitokinler tarafından iNOS' un uyarılması sonucu meydana geldiği rapor edilmektedir. Böylece hem eNOS hem de iNOS kaynaklı NO üretimi glomerul içinde NO seviyesinin fizyolojik değerlerin üzerinde olmasına neden olur ve oksidatif hasara yol açabilir. Bu oksidatif hasar yalnız başına NO tarafından oluşturulabileceği gibi NO' in süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşturması ile de ortaya çıkabilir (58-66).

NO' in hem insan kan damarları ile yapılan çalışmalarda hem de hayvan deneylerinde angiotensin II nin konstriktör aktivitesini düzenleyebileceği gösterilmiştir (58-66).

Sepsiste görülen ciddi hipotansiyondan bu hastalıkta aşırı NO oluşumunun sorumlu olduğu bildirilmektedir (58-66).

NO santral sinir sisteminde de önemli bir rol oynar. Knowles ve arkadaşları sıçan ön beyin hücre sitozollerinde argininden enzimatik NO oluşumunu göstermişlerdir. Endotelial NOS ve nNOS endotel dokuda ve periferik sinir sisteminde yeterli miktarlarda mevcuttur. Sinir uçlarında nNOS, NO oluşturarak cGMP üretimini artırır ve vasküler gevşemeye neden olur. Böylece nNOS' un arteryel kan basıncı ve periferik vasküler direncin kontrolünde önemli rol oynadığı açıktır (58-66).

Normal olarak endotel hücrelerde bulunan eNOS kalsiyum bağımlıdır. Travma ve hormonlar dahil bazı uyarılar tarafından olduğu kadar asetilkolin, bradikinin, ve substans P gibi reseptör aracılı agonistler tarafından da aktive edilir. NO etkisini daha düşük hücre içi kalsiyum düzeylerinde, hücre içi cGMP düzeylerini arttırarak gösterir. Bazal olarak üretilmiş NO vasküler tonusun ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli olduğu kadar endotelyuma platelet ve monosit adhezyonu ve platelet agregasyonunun inhibisyonunda da önemlidir. NO aynı zamanda vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyonu ve mitogenezi inhibe eder. NO'nun antiproliferatif ve antiplatelet etkilerinin kaybı uzun süreli hipertansiyonda, vasküler hipertrofi, ateroskleroz, şok ve miyokard infarktı gibi komplikasyonların gelişmesiyle ilişkili olabilir. Üstelik birçok çalışmada, primer ve sekonder hipertansiyonlu hastaların dolaşımlarında asetilkoline karşı endotelyum bağımlı vazodilatör yanıtta bozulma olduğu gösterilmiştir. Asetilkoline paradoksal vazokonstriktör yanıtlar epikardiyal koroner arterlerde artmıştır ve sol ventrikül hipertrofisi gelişen hipertansif hastalarda koroner mikrosirkulasyonda, asetilkoline vazodilatör yanıt bozulmuştur (54-66).

Hipertansif hayvanlar ve insanlarda NO'ya verilen cevabın vazokonstriktör prostaglandinlerin eş zamanlı salınımları ile maskelenebildiği savunulmaktadır. Çünkü asetilkoline karşı dilatör yanıtta gözlenen bozulmalar, siklooksijenaz inhibitörleri ile normale dönüştürülebilmektedir. Hipertansif hastalarda ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda NO'nun sentezi ile ilgili değişimlerinin niteliği üzerindeki tartışmalar sürmektedir. Bununla birlikte son zamanlarda esansiyel hipertansiyonun, esas olarak bu mediatörün yıkılma süreciyle ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Endotelial hücrelerin hasar görmesinin bir sonucu olarak hipertansif hastalarda süperoksit anyonu gibi serbest radikallerin oluşumunda bir artış olabilir. Bu süperoksit radikalleri NO'yu okside ya da deaktive ederek peroksinitrit (ONOO⁻)

oluşturur. Fizyolojik durumlarda organizmada süperoksit radikalleri azdır. Çünkü süperoksit dismutaz (SOD) enzimi bu radikalleri uzaklaştırır. Bunun yanı sıra patolojik durumlarda süperoksit anyon seviyesi oldukça yüksek olabilir ve NO bu enzimle yarışabilir. Bu reaksiyonlar sonucunda peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit oldukça güçlü bir radikaldir ve ağır hücrel hasara sebep olur. Fizyolojik pH'da hızla proton verir ve oldukça reaktif olan peroksinitroz asit meydana gelir. Bundan da sonuçta hidroksil radikalleri oluşur. Hipoksik durumlarda vazokonstriksiyon; hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonu gibi serbest oksijen radikallerindeki artışın bir sonucudur (58-66).

Oksidatif stresin, hipertansiyonu da içeren bazı kardiyovasküler bozuklukların patofizyolojisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Yine de son zamanlarda yapılan çalışmalarda spontan hipertansif sıçanlardan elde edilen izole damarlardan NO salınımının bozulması mevcut SOD miktarıyla orantılı olarak düzelmektedir. Böylece süperoksit gibi oksidatif radikallerin üretimindeki bir artış ya da SOD aktivitesinde ki bir azalma NO yıkımında bir artışa sebep olabilecektir (62-66).

Son yıllarda yapılan klinik gözlemlerde, statinlerin plazma kolesterolünü düşürmesi ötesinde endotel hücre düzeyinde etkili olduğu görüşü ağırlık kazanmaya başlamıştır. Hiperkolesterolemide ve aterosklerozda endotel aracılı vazodilatasyonun bozulduğu bildirilmektedir (67,68). Yapılan bazı çalışmalarda aterosklerozlu hastaların koroner arterlerinde pravastatin ve lovastatin ile gerçekleştirilen kolesterol düşürücü tedavinin endotel fonksiyonunu iyileştirdiği gözlenmiştir (69-70). Simvastatin tedavisi sırasında endotel fonksiyonunda benzer bir iyileşme saptanmamış olmasına karşın bu ilaçla ile gerçekleştirilen LDL-K düşürücü tedavinin periferdeki NO aracılı vasküler gevşemeyi artırdığı rapor edilmektedir (71,72). Statin tedavisi sonucunda koroner kan akışında ve vazodilatatör yanıtta

gerçekleşen iyileşmenin stabil anjina pektorisli hastaların geçici iskemilerini iyileştirdiği (73) ve miyokardiyal perfüzyonu arttırdığı (74,75) belirlenmiştir. Bir çalışmada hafif derecede hipertansiyonu bulunan hastalarda 3 hafta süreli pravastatin tedavisi sonrasında anjiotensin II ve norepinefrine karşı kardiyak reaktivitede azalma saptanmıştır (76).

Bütün bu çalışmalar ve klinik gözlemler, statin tedavisinin, mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsa da endotel disfonksiyonu düzeltebileceğini ve bu ilaçların kullanımları ile gözlenen klinik yararları kolesterol düşürücü etkilerinin ötesinde katkıda bulunabileceğini ortaya koymaktadır.

Statinlerin endotel disfonksiyonu düzenleyici etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılamamış olması ve ayrıca literatürde atorvastatin-endotel fonksiyon ilişkisini araştıran çalışma sayısının çok az olması nedeniyle, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Check-Up kontrollerini yaptırmak üzere başvuran ve bu kontrollerinde hiperkolesterolemik oldukları belirlenen bireylerde, 45 günlük atorvastatin tedavisinin, endotel fonksiyonun en önemli biyokimyasal göstergesi olan plazma NO düzeylerinde bir değişiklik oluşturup oluşturmadığını araştırmak için böyle bir çalışma planlandı.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma grubunu oluşturan bireylerin özellikleri:

Çalışmamız grubunu oluşturan bireyler, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Check-Up merkezine başvurarak yapılan tetkikleri sonucu plazma LDL-K oranı 160 mg/dl' nin üzerinde olan veya plazma LDL-K düzeyi >130 mg/dl ve plazma HDL-K düzeyi <35 mg/dl olan bireyler arasından seçildi. Bu bireylerden, ayrıntılı anamnez alındıktan sonra, fizik muayene, EKG ve rutin biyokimyasal tetkikleri yaptırılarak; bu değerlendirmeler sonucunda herhangi kronik bir hastalığı olan ya da uzun süreli ilaç kullanan bireyler çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

Ayrıntılı değerlendirme sonucunda kronik hastalığı olmayan, en az bir ay süreyle herhangi bir ilaç kullanmayan ve plazma LDL-K oranı 160 mg/dl' nin üzerinde olan veya plazma LDL-K düzeyi >130 mg/dl ve plazma HDL-K düzeyi <35 mg/dl üzerinde olduğu tespit edilen 50 birey çalışma grubunu oluşturdu. Bu bireylerden düzgün ilaç kullanmayan ve kontrollerine zamanında gelmeyen 17'si çalışma kapsamından çıkarıldı.

Çalışma grubuna dahil edilen hastalara 45 gün süreyle 10 mg/gün atorvastatin verilmesi planlandı. Atorvastatin tedavisi önce ve sonrasında araştırılacak parametrelerin analizi için hastalardan sabah aç karnına heparinli tüplere 10 cc kan alındı.

Tüm rutin biyokimyasal tetkikler Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında otoanalizör ile gerçekleştirildi. Total plazma kolesterol ve trigliserid düzeyleri enzimatik kolorimetrik bir yöntem kullanılarak bir Hitachi multianalizör (Monotest Kolesterol, CHOD-PAP) ile belirlendi. CHOD-PAP yöntemi kullanılarak VLDL ve LDL' nin fosfotungustik asit-magnezyum presipitasyonundan sonra HDL-C düzeyleri belirlendi.

3.2. Örneklerin hazırlanması

Çalışmamız grubunu oluşturan bireylerden alınan kan örnekleri araştırma parametresi olan NO analizini gerçekleştirmek üzere; optimum şartlar sağlanarak özel kuryeler ile bir saat içinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

Çalışmamızda kullanılan cam malzemelerin kimyasal temizliği titizlikle yapıldı. Laboratuara buz içinde ulaştırılan kan örnekleri oda ısısında bir süre bekletildikten sonra santrifüj edilerek plazma örnekleri ayrıldı. Plazma örnekleri epandorflara konarak NO analizi yapılana dek -80 °C' de depolandı.

3.3.Kullanılan Gereçler

- Bioxytech Nitric Oxide Non-Enzymatic Assay kiti, colorimetric Non-enzymatic assay for determination of Total Nitrite, Oxis international inc.(Cat No:22111N)
- Shimadzu UV 1201 spektrofotometre
- Böehringer Mannheim 4010 Fotometre
- Thecnicon Biosystem RA 1000 Analyzer
- Janetzi T 5 tip santrifüj
- Soğutmalı Santrifüj (Christ II KS)
- Mikrosantrifüj / Biofuge stratos (Heraeus)
- Deep-Freeze -80°C (Rua Instruments 77515 Faremoutiers)
- Deep-Freeze -20°C (8458 S/N Bio Freezer)
- Vortex (Girdap Elektromag)

- Etüv (Heraeus)
- Elektronik tartı (Shimadzu-Libror AEU-210)
- Otomatik pipetler
- pH metre (pH-meter CG840, SCHOTT)
- Su banyosu (Grant Instruments)

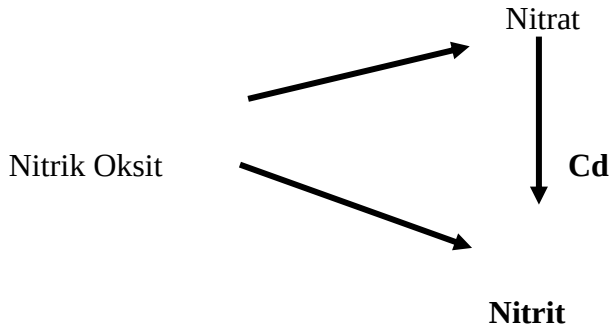
3.4. Nitrik oksit (NO) analizi

Prensip

Biyolojik sıvılarda NO hızla nitrat ve nitrite dönüştüğünden NO düzeyleri NO'nin metabolitleri olan nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) iyonlarının konsantrasyonları saptanarak tayin edilir. (3,54, 155)

Biyolojik sıvılarda nitrit ve nitratın tayinine yönelik çok sayıda ölçüm yöntemi (160, 165) vardır. Nitritin Griess ayırıcı kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçümü oldukça duyarlı bir yöntemdir. (3,54, 155)

Kolorimetrik ölçümlerde kullanılan Griess ayırıcı yalnızca nitriti belirleyebildiğinden NO'nin gerçek konsantrasyonunun tayin edilebilmesi için nitratın nitrite indirgenmesi gerekir. Nitratın nitrite indirgenmesinde kadmiyum granüllerinin kullanılması bu yöntemin hem daha ucuz hem de daha hassas olmasını sağlamıştır. (34,62,84,85, 121)



Asit solüsyonda nitrit nitrous aside (HNO_2) dönüştürülür. HNO_2 daha sonra iki azotunu sülfanilamide vererek sülfanilamid-diazonyum tuzu oluşturur. Sülfanilamid-diazonium tuzu N-Naphthylethylene diamine ile reaksiyona girer ve 540 nm’de ölçülebilen pembe renkli diazo bileşiği oluşturur. (121)

Çözeltiler

- 75 mM ZnSO_4
- Kadmiyum granülleri
- 0.1 M glycine-NaOH tamponu (pH:9.7)
- Sulfanilamide çözeltisi: 5 gr. sulfanilamide tartılıp 3 M HCl’in 500 ml.sinde çözündürülerek hazırlandı.
- N-Naphthylethylene diamine çözeltisi: 50 mg. N-Naphthylethylene diamine 250 ml.distile suda çözündürülerek hazırlandı.
- 55 mM NaOH

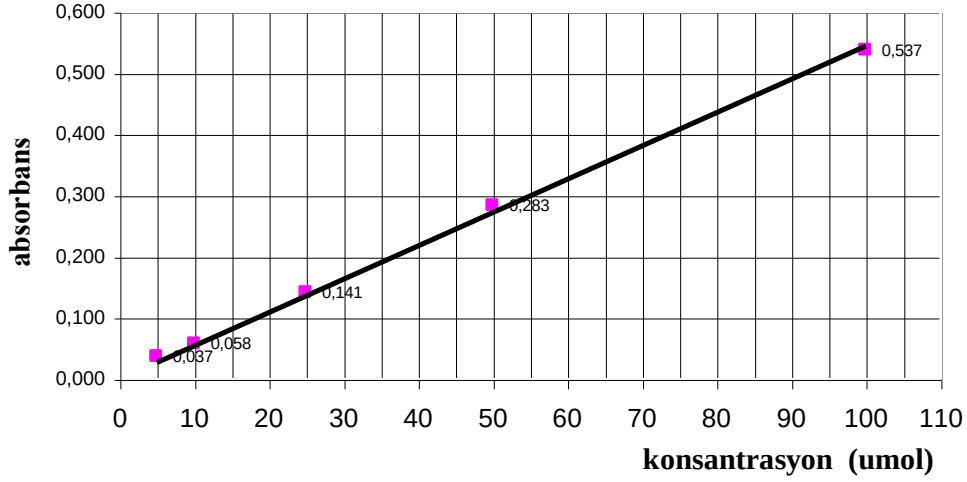
Standart kalibrasyon eğrisinin hazırlanması

20 mM KNO_3 stok çözeltisi 1:100 oranında seyreltilerek 200 μM standart çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden 2,4,8,20 ve 40 kez seyreltme yapılarak sırası ile 100 μM , 50 μM , 25 μM , 10 μM , 5 μM konsantrasyonlarında nitrat içeren çözeltiler hazırlandı.

Hazırlanan bu çözeltilerden 300 μL kullanılarak yöntem uygulandı. Çizilen kalibrasyon eğrisinden nitrit konsantrasyonları hesaplandı. (Grafik 1)

Grafik 1: Standart Nitrat-Nitrit eğrisi

Standart Nitrat-Nitrit Eğrisi



Yöntem

Örnek, kör ve standart olarak işaretlenmiş Eppendorf tüplerine 300 µl serum örnekleri kondu. 250 µl 75mM ZnSO₄ ilave edildi. İyi karıştırıldı. Oda sıcaklığında 1 dak. 10 000 g'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplere 350 µl 55 mM NaOH ilave edildi. Karıştırıldı 10 000 g'de 3 dak. santrifüj edildi. Üstte kalan sıvıdan 750 µl alındı. Buna 250 µl Glisin-NaOH tamponu eklendi. Her tüpe 2-2,5 gr. Kadmiyum granülleri kondu. 10 dk çalkalayıcıda karıştırıldı. Her tüpten 500 µl alındı. Her birine 2 ml Griess ayırıcı ilave edilerek 20 dak. oda ısısında bekletilme sonrasında oluşan renk şiddeti 540 nm.de ölçüldü. (15)

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, elde edilen verilerin dağılım özelliklerine göre ortalamalar arasındaki farkın belirlenmesinde bir parametrik test olan student t testi, değerler arasındaki ilişkinin araştırılmasında ise Pearson korelasyon testi uygulandı. İşlemler pentium II işlemci PC aracılığı ile Statistical Programme for Social Science (SPSS) adlı istatistik programı ile gerçekleştirildi.



4. BULGULAR

Yapılan tetkikleri sonucunda özellikle plazma LDL-K oranı 160 mg/dl' nin üzerinde olan veya plazma LDL-K düzeyi >130 mg/dl ve plazma HDL-K düzeyi <35 mg/dl olan 33 birey çalışma kapsamına alındı. Çalışma grubunu oluşturan bireylerin 16'sı erkek 17'si kadın olup; yaş, boy, ağırlık ve vücut kütle indeksi ortalamaları sırasıyla 52.1 ± 7.9 , 1.65 ± 0.1 , 75.4 ± 10.5 ve 27.9 ± 4.3 olarak belirlendi.

Hastaların atorvastatin ile tedavi önce ve sonrasında belirlenen glikoz, üre, kreatin, ürik asit, SGOT, SGPT ve albümin sonuçları sırasıyla Tablo 1 ve Tablo 2 de, verildi.

Tablo 3 ve 4'de çalışmamız grubunu oluşturan bireylerin tedavi öncesi ve sonrasında saptanan TK, VLDL-K, LDL-K, HDL-K ve trigliserid değerleri gösterildi. Tablo 5 de ise çalışmamızı oluşturan bireylerde atorvastatin ile tedavi önce ve sonrasında belirlenen plazma NO düzeyleri verildi.

Tablo 1: Çalışma grubunu oluşturan bireylerde atorvastatin ile tedavi öncesi belirlenen bazı biyokimyasal parametreler

Sıra	Hasta	Cins	Glikoz (mg/dl)	Üre (mg/dl)	Kreatin mg/dl)	SGOT(U/L)	SGPT (U/L)	Ürik Asit g/dl)	Albümin (g/dl)
1	AY	E	83	33	0,9	24	44	6,5	4,2
2	NA	K	86	37	1,1	40	36	5,2	3,9
3	AÇ	K	78	24	4,2	22	34	4,6	4,0
4	BK	E	109	39	0,9	31	36	5,8	4,4
5	BŞ	E	92	27	0,9	27	32	3,8	4,7
6	FC	K	76	13	1,2	20	20	4,3	4,6
7	FK	E	106	39	0,9	25	28	6,7	2,6
8	GÇ	E	87	19	1,0	13	12	3,3	4,7
9	AY	K	82	30	1,1	20	21	4,0	4,4
10	GT	K	84	45	1,3	18	20	6,2	4,1
11	KK	E	108	24	1,3	35	47	6,0	4,9
12	KY	E	81	19	1,0	22	17	5,6	4,2
13	MK	E	81	24	1,0	25	39	7,0	4,4
14	AT	K	87	18	1,0	16	20	4,1	4,3
15	MK	E	71	19	0,9	23	21	4,2	4,2
16	MU	E	96	24	1,0	37	26	5,1	4,2
17	ME	E	104	34	0,8	18	30	3,8	4,4
18	HK	E	72	25	0,7	22	16	3,4	4,2
19	NK	E	72	24	0,9	27	32	4,7	3,9
20	NP	K	97	24	1,2	22	24	5,1	4,8
21	Rİ	K	91	28	1,1	20	26	3,8	4,2
22	CÇ	E	86	20	0,9	17	22	4,3	4,4
23	HGN	K	95	27	0,9	24	26	5,1	4,1
24	SC	K	96	36	0,9	17	12	3,8	4,5
25	CU	K	105	34	1,0	18	18	5,3	4,3
26	SG	K	102	25	0,8	22	28	5,5	4,2
27	TD	K	122	38	1,1	15	26	5,1	4,8
28	MB	K	93	23	0,9	13	11	4,7	4,3
29	HP	K	109	42	1,2	23	26	7,3	4,1
30	ZK	K	94	37	1,1	20	27	5,0	4,3
31	AŞ	E	99	26	0,9	21	56	3,8	4,2
32	HS	E	84	24	0,9	20	18	3,5	4,0
33	OK	E	95	20	0,7	19	13	4,8	4,5

Tablo 2: Çalışma grubunu oluşturan bireylerde atorvastatin ile tedavi sonrası belirlenen bazı biyokimyasal parametreler

Sıra	Hasta	Cins	Glikoz (mg/dl)	Üre (mg/dl)	Kreatin mg/dl)	SGOT(U/L)	SGPT (U/L)	Ürik Asit (mg/dl)	Albümin (g/dl)
1	AY	E	72	28	0,9	26	36	6.0	4.0
2	NA	K	98	32	1.2	32	36	5,0	4,1
3	AÇ	K	82	26	1.0	28	32	4.8	3.9
4	BK	E	102	30	1.0	28	38	5.6	4.2
5	BŞ	E	86	23	0.9	22	18	4.1	4.4
6	FC	K	90	18	1.0	32	37	4.2	4.3
7	FK	E	102	35	0,9	21	26	6.3	4.7
8	GÇ	E	84	19	0.8	16	20	4.8	4.6
9	AY	K	86	29	0.9	21	25	5.7	4.6
10	GT	K	98	37	1.4	18	17	6.7	4.5
11	KK	E	96	23	1.0	35	28	5.2	4.4
12	KY	E	85	19	0.9	26	34	5.5	4.0
13	MK	E	85	23	1.2	37	57	7.3	4,4
14	AT	K	104	26	0.9	61	28	4.7	3.9
15	MK	E	92	18	0,9	24	27	5.4	4.8
16	MU	E	90	26	1.0	32	30	5.4	4.0
17	ME	E	92	29	0.9	26	30	4.2	4.2
18	HK	E	68	24	0.9	27	24	3.7	3.9
19	NK	E	96	20	1.0	29	24	5.0	4.2
20	NP	K	88	33	1.3	20	31	6.4	4,8
21	Rİ	K	91	33	0.8	19	28	5.5	4.3
22	CÇ	E	96	39	1.3	19	29	5.9	4,4
23	HGN	K	87	30	1.0	24	52	4.7	4.4
24	SC	K	88	35	0.8	17	13	4.6	4.2
25	CU	K	120	26	0.8	25	44	5.2	4.4
26	SG	K	93	27	0.9	21	29	6.4	4,2
27	TD	K	114	20	1,1	32	33	5.5	4.3
28	MB	K	84	30	1.0	19	24	4.5	4.2
29	HP	K	117	40	1,2	27	51	7.9	4.5
30	ZK	K	87	36	0.8	18	26	3.8	4.6
31	AŞ	E	95	18	0,9	21	33	4.7	4,2
32	HS	E	75	28	0,9	40	47	4.8	4.2
33	OK	E	105	23	0,7	19	18	5.4	4.8

Tablo 3: Atorvastatin ile tedavi öncesi, hastaların TK, VLDL-K, LDL-K, HDL-K ve trigliserid değerleri

Sıra	Hasta	Cins	Total Kolesterol (mg/dl)	VLDL-K (mg/dl)	LDL-K (mg/dl)	HDL-K (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)
1	AY	E	264	24	189	51	119
2	NA	K	290	68	184	38	281
3	AÇ	K	264	39	189	36	316
4	BK	E	254	47	165	42	182
5	BŞ	E	278	83	158	34	327
6	FC	K	249	20	183	46	286
7	FK	E	334	177	139	32	493
8	GÇ	E	245	28	157	60	138
9	AY	K	227	37	137	33	183
10	GT	K	268	85	143	34	261
11	KK	E	281	100	133	30	501
12	KY	E	270	37	183	50	216
13	MK	E	263	64	168	35	318
14	AT	K	276	94	147	31	469
15	MK	E	261	55	158	48	197
16	MU	E	246	47	170	49	310
17	ME	E	276	43	185	48	326
18	HK	E	242	37	164	41	260
19	NK	E	278	72	174	42	346
20	NP	K	224	59	131	34	297
21	Rİ	K	229	28	149	32	138
22	CÇ	E	237	23	163	50	126
23	HGN	K	267	35	179	53	177
24	SC	K	322	100	188	34	156
25	CU	K	314	31	237	46	157
26	SG	K	246	41	169	36	207
27	TD	K	326	45	231	49	224
28	MB	K	258	38	157	35	192
29	HP	K	238	58	147	33	232
30	ZK	K	309	25	236	48	126
31	AŞ	E	272	60	175	37	157
32	HS	E	285	24	199	62	168
33	OK	E	230	32	138	33	147

Tablo 4: Atorvastatin ile tedavi sonrası, hastaların TK, VLDL-K, LDL-K, HDL-K ve trigliserid değerleri

Sıra	Hasta	Cins	Total Kolesterol (mg/dl)	VLDL-K (mg/dl)	LDL-K (mg/dl)	HDL-K (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)
1	AY	E	246	19	171	56	114
2	NA	K	270	60	156	54	201
3	AÇ	K	267	59	172	50	287
4	BK	E	238	54	142	33	178
5	BŞ	E	239	62	140	45	287
6	FC	K	249	20	183	48	286
7	FK	E	334	77	139	31	398
8	GÇ	E	245	28	157	48	236
9	AY	K	227	37	137	41	188
10	GT	K	268	85	143	52	161
11	KK	E	281	100	133	34	308
12	KY	E	270	37	183	52	214
13	MK	E	263	64	168	50	288
14	AT	K	276	94	147	53	360
15	MK	E	261	55	158	34	190
16	MU	E	246	47	170	46	290
17	ME	E	276	43	185	66	266
18	HK	E	242	37	164	46	210
19	NK	E	278	72	174	45	286
20	NP	K	224	59	131	45	227
21	Rİ	K	229	28	149	48	108
22	CÇ	E	237	23	163	37	116
23	HGN	K	267	35	179	42	137
24	SC	K	322	100	188	63	126
25	CU	K	314	31	237	41	130
26	SG	K	246	41	169	52	180
27	TD	K	326	45	231	34	184
28	MB	K	258	58	157	52	162
29	HP	K	248	58	157	50	202
30	ZK	K	309	25	236	53	106
31	AŞ	E	272	60	175	44	134
32	HS	E	265	24	199	46	118
33	OK	E	230	32	138	46	124

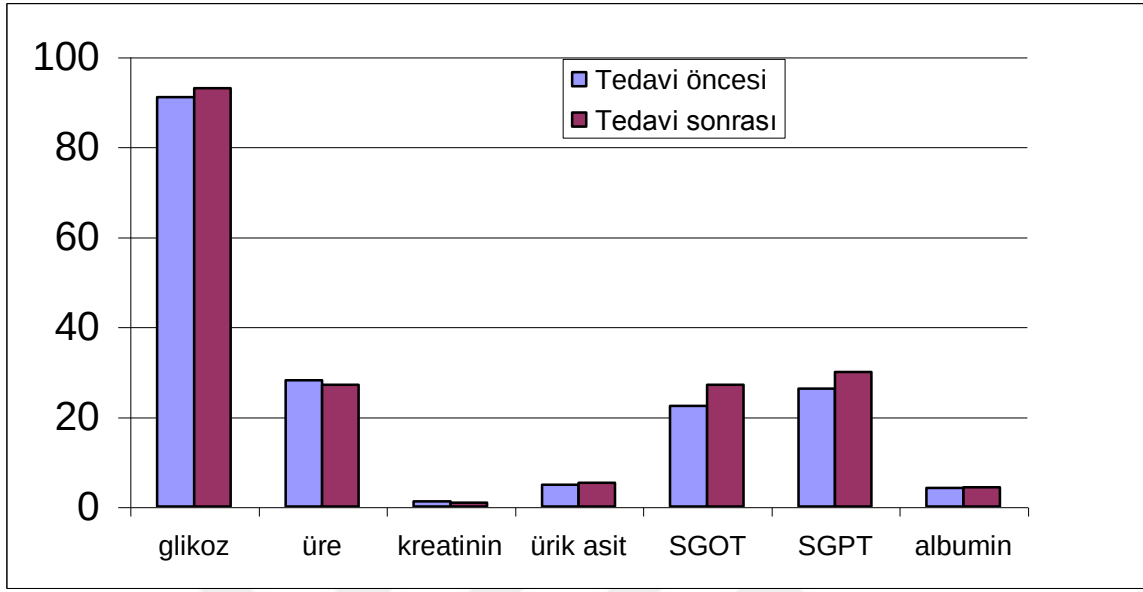
Tablo 5: Atorvastatin ile tedavi önce ve sonrasında bireylerin plazma NO düzeyleri

Sıra	Hasta	Cins	Tedavi öncesi plazma NO düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$)	Tedavi sonrası plazma NO düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$)
1	AY	E	48	76
2	NA	K	52	36
3	AÇ	K	48	86
4	BK	E	48	92
5	BŞ	E	68	48
6	FC	K	48	54
7	FK	E	54	58
8	GÇ	E	66	90
9	AY	K	50	60
10	GT	K	50	56
11	KK	E	22	28
12	KY	E	26	62
13	MK	E	26	64
14	AT	K	24	42
15	MK	E	46	46
16	MU	E	80	98
17	ME	E	38	92
18	HK	E	52	36
19	NK	E	34	46
20	NP	K	32	40
21	Rİ	K	48	46
22	CÇ	E	64	68
23	HGN	K	48	42
24	SC	K	40	100
25	CU	K	40	48
26	SG	K	28	46
27	TD	K	40	62
28	MB	K	46	26
29	HP	K	20	40
30	ZK	K	34	36
31	AŞ	E	34	44
32	HS	E	32	46
33	OK	E	42	48

Çalışmamız kapsamında değerlendirilen önemli bazı biyokimyasal parametrelerin atorvastatin tedavisi ile etkilenmediği saptandı. Çalışma kapsamını oluşturan tüm bireylerde bakılan glikoz, üre, kreatinin, ürik asit , SGOT , SGPT ve albümin düzeyleri tedavi öncesi sırasıyla; 91 ± 3.0 (mg/dl) , 28.0 ± 8.3 (mg/dl), 1.1 ± 0.6 (mg/dl), 4.9 ± 1.1 (mg/dl), 22.4 ± 7.0 (U/L) , 26.2 ± 11.5 (U/L) ve 4.2 ± 0.4 (g/dl), tedavi sonrası ise sırasıyla; 93 ± 3.0 (mg/dl) , 27.1 ± 6.5 (mg/dl), 0.9 ± 0.2 (mg/dl), 5.3 ± 0.9 (mg/dl), 27.1 ± 9.2 (U/L), 29.9 ± 9.7 (U/L), 4.3 ± 0.3 (g/dl) olarak belirlendi. Sonuçlar incelendiğinde tedavi sonrasında glikoz, ürik asit, SGOT , SGPT ve albümin değerlerinin bir miktar arttığı buna karşılık üre ve kreatin değerlerinin bir miktar düştüğü görülebilir. Ancak bu artış ve düşüşlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p>0.05$) (Tablo 6, Grafik 2).

Tablo 6: Atorvastatin ile tedavi öncesi ve sonrası bireylerin bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri

Grup (n=33)	Glikoz (mg/dl)	Üre (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Ürik Asit (mg/dl)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Albumin (g/dl)
Tedavi öncesi	91 ± 3.0	28.0 ± 8.3	1.1 ± 0.6	4.9 ± 1.1	22.4 ± 7.0	26.2 ± 11.5	4.2 ± 0.4
Tedavi Sonrası	93 ± 3.0	27.1 ± 6.5	0.9 ± 0.2	5.3 ± 0.9	27.1 ± 9.2	29.9 ± 9.7	4.3 ± 0.3



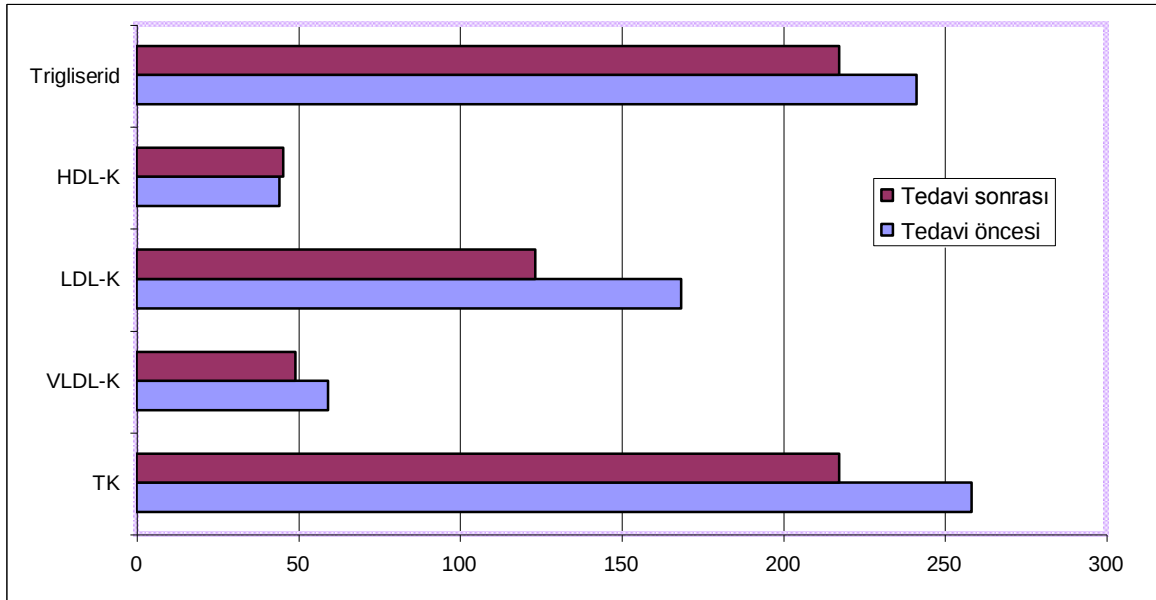
Grafik 2: Atorvastatin ile tedavi öncesi ve sonrası bireylerin bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri

Bireylerin total kolesterol, VLDL-K, LDL-K, HDL-K, ve trigliserid düzeyleri incelendiğinde; tedavi öncesi ve sonrasında bu değerler sırasıyla 258.5 ± 52 (mg/dl) , 59.3 ± 10 (mg/dl), 168.7 ± 29 (mg/dl), 44.4 ± 8.9 (mg/dl), 241.5 ± 19 (mg/dl) ve 217.5 ± 40 (mg/dl), 49.3 ± 6.0 (mg/dl), 123.5 ± 28 (mg/dl), 45.6 ± 12 (mg/dl), 217.4 ± 19 (mg/dl) olarak bulundu. Sonuçlar; atorvastatin ile tedavi sonrasında bireylerin TK, LDL-K, VLDL-K, trigliserid değerlerinde düşme; buna karşılık HDL-K değerlerinde bir artış olduğunu göstermektedir. Bu değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında TK ve LDL-K' daki düşüşün anlamlı olduğu ($p < 0.001$), VLDL-K ve trigliseriddeki düşüşün ve HDL-K' daki artışın ise istatistiki olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0.05$) (Tablo 7, Grafik 3).

Tablo 7: Atorvastatin ile tedavi öncesi ve sonrası bireylerin total kolesterol, VLDL-K, LDL-K, HDL-K, ve trigliserid düzeyleri

Grup (n=33)	Total Kolesterol (mg/dl)	VLDL-K (mg/dl)	LDL-K (mg/dl)	HDL-K (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)
Tedavi öncesi	258.5 $\pm$ 52*	59.3 $\pm$ 10	168.7 $\pm$ 29*	44.4 $\pm$ 8.9	241.5 $\pm$ 19
Tedavi Sonrası	217.5 $\pm$ 40*	49.3 $\pm$ 6.0	123.5 $\pm$ 28*	45.6 $\pm$ 12	217.4 $\pm$ 19

* p<0.001



Grafik 3: Atorvastatin ile tedavi öncesi ve sonrası bireylerin total kolesterol, VLDL-K, LDL-K, HDL-K, ve trigliserid düzeyleri

Tedavi öncesinde plazma NO konsantrasyonu 44.8 $\pm$ 3.1 μ mol/L olarak saptanırken

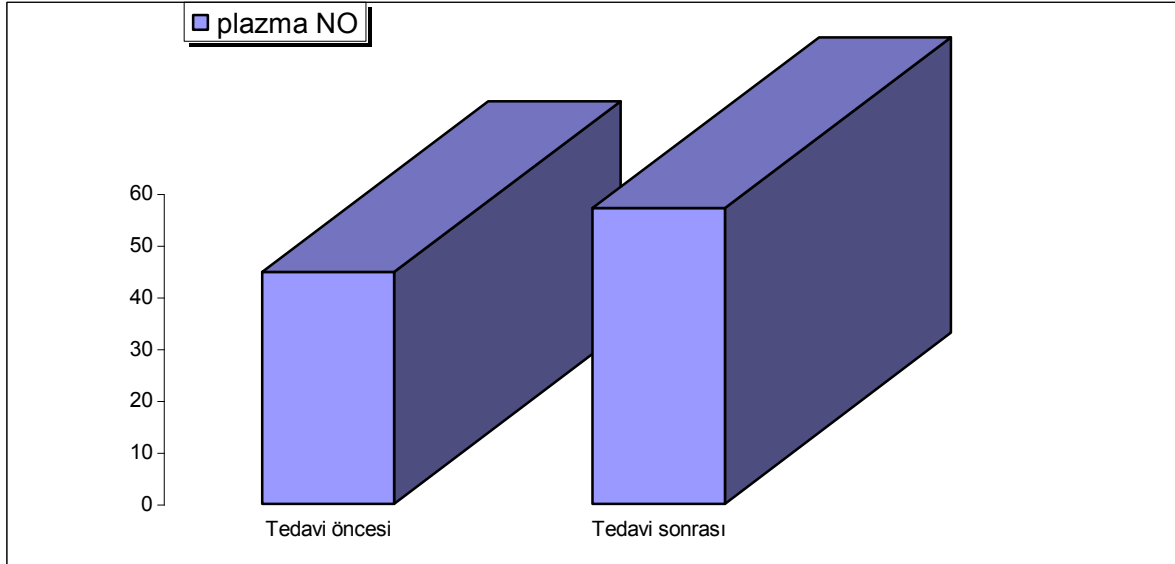
tedavi sonrasında bu değeri $57.1 \pm 3.9 \mu\text{mol/L}$ olarak belirlendi (Tablo 8, Grafik 4).

Atorvastatin ile tedavi sonrasında bireylerin plazma NO konsantrasyonlarında belirlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.02$).

Tablo 8: Atorvastatin ile tedavi öncesi ve sonrasında bireylerin plazma NO düzeyleri

Grup	Parametre	Tedavi öncesi (n=33)	Tedavi sonrası (n=33)
	Plazma NO ($\mu\text{mol/L}$)	$44.8 \pm 3.1^*$	$57.1 \pm 3.9^*$

* $p<0.002$



Grafik 4: Atorvastatin ile tedavi öncesi ve sonrasında bireylerin plazma NO düzeyleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Arter duvarında "ateroskleroz" olarak isimlendirdiği değişiklikleri ilk olarak gözlemleyen Rudolph Virchow, bu değişikliklerin kandaki bir takım maddelerin emilimi ile ortaya çıktığını savunmuştu. Onu izleyen yıllarda aterosklerozun yaşlanmaya bağlı dejeneratif bir süreç olduğu ancak bunların önlenebileceği inancı hakim olmuştur. Aschoff birinci dünya savaşı sırasında KKH' na bağlı ölümlerin azaldığına dikkat çekerek, diyet-kalp hastalığı hipotezini ileri sürmüştür. Bu hipotez gittikçe daha fazla taraftar bulmuş olup yapılan hayvan deneyleri aterosklerozun yüksek kolesterolü diyetle oluşturulabileceğini ortaya çıkarmıştır (7,46,77,78).

Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda KKH'ndan ölümlerin dünya ve hatta Avrupa ülkeleri arasında bile on kat farklı olabileceği dikkatleri çekmiş ve bunun sebepleri araştırılmaya başlanmıştır. 1948 yılında 700 kişi ile başlayan Framingham Kalp Çalışması bugün 5000 kişiyi geçmiş olup, özellikle bu çalışma KKH, inme ve diğer aterosklerotik hastalıkların sebebini aydınlatan önemli veriler sunmuştur. Bu çalışmada ateroskleroz açısından geniş ölçüde araştırılan risk faktörleri; serum kolesterolünde yükselme ve çeşitli kolesterol fraksiyonları düzeylerinde ortaya çıkan anormallikler, sigara, hipertansiyon ve diabetes mellitus olmuştur (79).

Çok sayıda çalışma çeşitli toplumlarda plazma kolesterol düzeylerinin KKH için majör bir risk faktörü olarak belirleyici rolünü ortaya koymuştur. Ek olarak tümü olmasa da kimi çalışmalarda trigliserid düzeylerindeki artış da KKH insidansındaki artış ile ilişkilendirilmiştir. Plazma TK ve LDL-K düzeylerinin risk faktörleri içinde en önemli yere sahip olduğu yönünde giderek artan düzeyde görüş birliği oluşmaya başlanmıştır (79-81).

KKH ile TK ve LDL-K arasındaki güçlü ilişkinin KKH olduğu bilinen hastalarda olduğu gibi KKH olmayan bireylerde de var olduğu rapor edilmektedir (82).Düşük HDL-K ve lipid dışı etkenler; örneğin sigara, hipertansiyon ve diyabet LDL-K' ün etkisini agrave eder. Anjiyografik, birçok klinik ve epidemiolojik çalışmada LDL-K' ün ateroskleroza yol açabileceği ispatlanmıştır. LDL-K' ü azaltmanın kardiyoserebrovasküler olayları azaltıp azaltmayacağı, koroner hastalığı olan-olmayan, çok sayıda hasta içeren, farklı ilaç kullanılarak yapılan çalışmalarda incelenmiş, kolesterol düşürücü tedavi ile özellikle statin cinsi ilaçların kullanılmasıyla koroner olaylarını inme ve bu hastalıklardan kaynaklanan mortalitenin azaltıldığı kanıtlanmıştır. (83-86).

Onat ve arkadaşlarının yaptıkları beş yıl süreli kohort çalışmalarında çeşitli risk faktörleri ile koroner ölümler arasındaki korelasyon araştırılmış ve hipertansiyonun da dahil olduğu risk faktörleri içinde, hem erkek hem de kadınlarda, beş yıl içinde koroner ölümler açısından tahmin edici özellikte olabilecek tek risk faktörünün TK ve LDL-K düzeyleri olduğu saptanmıştır (86).

Framingham Kalp Çalışması'nda (87) düşük HDL-K' ün KKH için majör bir risk faktörü olduğu kanıtlanmıştır. KKH ile HDL-K arasındaki ters ilişkinin, en azından LDL-K ile KKH riski arasındaki pozitif ilişki kadar olduğu anlaşılmıştır. Epidemiolojik kuvvetli ilişkiye karşın, HDL, KKH bağlantısının altındaki mekanizma tam anlaşılamamıştır. Düşük HDL düzeylerinin genellikle insülin rezistansı ile birlikte bulunduğunun saptanması HDL' deki düşüklüğün kuvvetli bir risk faktörü olarak yalnızca direkt aterogenezi uyarmadığını, aynı zamanda diğer risk faktörlerinin bir “marker” ı olduğunu açıklanmaktadır (88).

Hipertrigliseridemi KKH riski taşırsa da, bu birlikteliğin LDL-K için olandan zayıf olduğu bulunmuştur. Bir çok prospektif epidemiolojik çalışma da % 450 mg.' lık değerlerin

KKH riskini öngördüğü ve bu ilişkinin kadın ve gençlerde daha fazla olduğu saptanmıştır. Ancak diğer risk faktörlerinin uyarlanan istatistiki değerlendirmelerde, trigliseridlerin bağımsız etkileri zayıflamakta ve hatta kaybolmaktadır. Bu durumun geniş ölçüde HDL ve VLDL metabolizmasındaki farklılıktan kaynaklandığı rapor edilmektedir. Normalde trigliseridlerin büyük çoğunluğunu VLDL taşır ve bu lipoproteinler çok çabuk metabolize olurlar. VLDL' nin yarı ömrü 1 saatten az, HDL'nin birkaç gündür (89).

Statinlerin yan etkileri çok az olan olağan dışı lipid düşürücü ilaçlar olduğu bildirilmektedir. Bu ilaçlar HMG CoA redüktazın kompetitif inhibitörü olup, KC' deki kolesterol biyosentezini bloke ederler. Sekonder olarak da LDL reseptör oluşumunu artırır. Yine bu ilaçların VLDL kolesterolü düşürdükleri bildirilmektedir. TK' ü %15-45, LDL-K' ü %20-40, TG' i %5-30 düşürürken; HDL-K' ü %5-20 oranında artırdıkları saptanmıştır (7,69,72-74).

Atorvastatin sentetik bir lipid düşürücü ajandır. HMG CoA redüktazı selektif kompetitif olarak inhibe ederek kolesterol biyosentezini engeller. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda atorvastatinin HMG CoA redüktazı inhibe etmesinin yanı sıra bu ilacın, hücre yüzeyinde hepatik LDL reseptörlerini artırdığı ve dolayısıyla LDL ' nin alımını ve katabolizmasını hızlandırdığı bildirilmektedir (7,90,91).

Çalışmamızda 45 günlük atorvastatin tedavisi öncesi ve sonrasında TK değerleri sırasıyla 258.5 ± 52 mg/dl ve 217.5 ± 40 mg/dl (Tablo 7, Grafik 3) olarak saptanmıştır. TK değerlerinde tedavi sonrası % 19 oranında bir düşüş gözlenmiş olup bu düşüş istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Çalışmamızda sonuçları literatür sonuçları ile uyumludur (7,27,92).

Yapılan çalışmalar LDL oksidasyonun; aterosklerotik plak gelişiminin en önemli

belirleyici faktörü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunun yanı sıra HDL oksidasyonun da bu proteinin kolesterol taşıyıcı fonksiyonunu bozarak aterosklerotik sürece katkıda bulunduğu bildirilmektedir (93,94). Statinlerin antlaterosklerotik etkilerinin LDL-K' ü düşürmenin yanı sıra aynı zamanda HDL-K' ü yükselterek ve trigliserid düzeylerini düşürerek gösterdikleri rapor edilmektedir (95).

Çalışmamız sonuçları incelendiğinde atorvastatin tedavisi öncesinde LDL-K değerleri 168.7 ± 29 mg/dl iken tedavi sonrasında 123.5 ± 28 mg/dl olarak saptanmıştır (Tablo 7, Grafik 3). Tedavi sonrası LDL-K düzeylerindeki düşüş % 27 düzeyinde olup istatistiki olarak ileri derecede anlamlıdır ($p < 0,001$). Atorvastatin tedavisi sonucu LDL-K' deki bu anlamlı düşüş diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (7,69,72-74,96).

Statin tedavisinin HDL-K düzeylerini artırdığını bildiren çalışmalara uygun olarak çalışmamızda 45 günlük atorvastatin tedavisi sonrasında bireylerin ortalama HDL-K düzeylerinin arttığı gözlenmekle (tedavi öncesi: 44.4 ± 8.9 mg/dl iken tedavi sonrası 45.6 ± 12 mg/dl) birlikte (Tablo 7, Grafik 3) bu artış istatistiki olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Bu durum çalışmamız grubunu oluşturan bireylerinde HDL kolesterol değerlerinin tedavi öncesinde >35 mg/dl olması ; yani belirlenen HDL düzeylerinin normal değerler içinde olması sonucu olabilir. Çünkü yapılan çalışmalar statinler de dahil lipid düşürücü ilaçların bu etkilerinin; verildikleri doza ve bireylerin lipoprotein konsantrasyonuna bağlı olabileceğini ortaya çıkarmıştır (95,96).

Benzer bir durum çalışmamız sonucunda tedavi sonrasında ortaya çıkan VLDL ve trigliserid değerlerindeki düşme için de söz konusu olabilir. Atorvastatin ile 45 günlük tedavi önce ve sonrasında VLDL değerleri; sırasıyla 59.3 ± 10 ve 49.3 ± 6.0 olarak, trigliserid değerleri ise 241.5 ± 19 ve 217.4 ± 19 olarak belirlenmiştir (Tablo 7, Grafik 3). VLDL ve

trigliserid değerlerinde belirlenen düşme istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte ($p>0,05$) literatür ile uyumludur (7,93, 95-97).

Çalışmamıza dahil edilen tüm bireylerde; hem kronik bir hastalığı elimine etmek hem de atorvastatin tedavisi sonrasında fizyolojik göstergelerin hangi yönde değiştiklerini anlayabilmek için kan glikoz düzeyi, üre, kreatin ve ürik asit düzeyleri, KC fonksiyonunun göstergeleri olan SGOT, SGPT, Gama GT konsantrasyonları, amilaz , fibrinojen, LDH, Ca, Mg, Fe, Na ve K düzeylerine bakılmıştır. Bu sonuçların bir kısmı Tablo 1, Tablo 2 ,Tablo 6 ve Grafik 3’de gösterilmektedir. Bu veriler incelendiğinde glikoz, üre ve kreatinin tedavi sonrasında düştüğünü; buna karşılık ürik asit, SGOT, SGPT, albümin düzeylerinin ise arttığı görülecektir. Bu artış ve düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu tablolarda gösterilemeyen gama GT konsantrasyonları, amilaz, fibrinojen, LDH, Ca, Mg, Fe, Na ve K düzeylerinde de benzer şekilde istatistiki bir değişime rastlanmamıştır. Sonuçlarımız statinlerin yan etkilerinin az olduğu ve organizmanın fizyolojik metabolik yollarında patolojik etki göstermediklerini bildiren literatür sonuçları ile uyumludur (7,93, 95,96).

Damarların intima tabakasında gerçekleştiği düşünülen LDL oksidasyonunun ateroskleroz patogeneğinde çok önemli bir basamak olduğu tüm araştırmacılar tarafından kabul edilmektedir. İntimada antioksidan gücünün zayıf olması, LDL ' nin intimada tutulma süresinin uzaması ve bu süre içinde serumun antioksidan potansiyelinden yoksun kalması oksidasyonu kolaylaştırıcı faktörler olarak tanımlanmaktadır. Endotel altı bölgedeki LDL oksidasyonunda endotel hücrelerinin, düz kas hücrelerinin ve monosit/makrofajların etkili olduğu bulunmuştur (98-99).

Son yıllarda giderek artan sayıda klinik durum bozulmuş endotelyum fonksiyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. Patogenezlerinden endotelyum kaynaklı çeşitli maddelerin sorumlu

tutulduğu bu durumlar: hiperkolesterolemi, sistemik hipertansiyon, diyabet, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, östrojen yetersizliği, hiperhomosisteinemi ve yaşlılık süreci olarak sıralanabilirler. Her geçen gün bu listeye yeni bir hastalık eklenmekte ve bu hastalıkların patogenezinde endotelyum kaynaklı çeşitli maddeler sorumlu tutulmaktadır. Bu maddelerin en önemlilerinden birisi nitrik oksit (NO)'dir. NO renal hemodinamikler ve vasküler tonusun önemli bir fizyolojik regülatörüdür (9-11,100).

Çeşitli çalışmalar hayvan aterosklerotik arterlerinde ve koroner arter hastalığı olan insanlarda asetilkoline, serotonine ya da artmış kan akımına yanıtta bir nitrik oksit sinyal defekti olduğunu ortaya çıkarmıştır (101,102). Bu defekt oldukça erken bir bulgu olup tipik anjinalı ya da anjiyografik olarak damar hasarı olmayan fakat kardiyak risk faktörlerinin bir çoğuna sahip olan hastalarda nitrik oksit sinyal bozukluğuna rastlamak mümkündür (101).

Öte yandan kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığı hipertansiyon, hiperkolesterolemi, sigara içimi ve diyabetli hastalarda görülen mikrovasküler endotel işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir. Son zamanlarda ortaya çıkan bulgular iskemik olgularda bozulmuş endotelyum bağımlı vazodilatasyonun, predominant mekanizma olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalar hiperkolesterolemi olgularında nitrik oksit sinyal bozukluğunun multifaktöryel olduğunu ve bu defekte yine endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör bozukluğu ile prostasiklin biyosentez bozukluklarının eşlik ettiğini göstermektedir. Hiperkolesterolemide çok faktörün etkili olduğu NO sinyal bozukluğunda hem NO sentezindeki azalmanın, hem de NO yıkımında ortaya çıkan artışın eşlik ettiğini gösteren çalışmalar yayınlanmaktadır (103-105).

Harrison ve arkadaşları 1996 yılında yayınladıkları bir çalışmalarında hiperkolesteroleminin, NO inhibisyonuna neden olarak süperoksit anyon oluşumunu artırdığı

ve sonuçta peroksinitrit oluşumunu hızlandırarak hücresel hasara yol açtığını bildirmektedirler (106). Bu çalışmayı destekler bir bulgu da White ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada ortaya çıkmıştır (107). Bu çalışmada araştırmacılar kolesterolle beslenen tavşanların aortalarında ortaya çıkan endotel işlev bozukluğunun SOD, glikozile polietilen ya da lipozom tutucu antioksidanlar verilerek damar duvarında antioksidan kapasitenin artırılması ile kısmen de olsa restore edilebileceğini göstermişlerdir.

Hiperkolesterolemi de nitrik oksit degradasyonunun arttığını bildiren çalışmaların yanı sıra nitrik oksit biyosentezinde bir azalmanın olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu yönde yapılan çalışmalar, NO sentezindeki azalmanın eNOS aktivitesinde düşüş sonucu olup olmadığı yönünde yoğunlaşmıştır. Ancak aksi sonuçlar bildirilse de çoğu çalışmada enzim aktivitesinin azalmadığı, aksine hiperkolesterolemide endotel hücrelerde eNOS aktivitesinde artış ortaya çıktığı rapor edilmektedir (105,108,109). Endotelyal NOS sentezinde artış olmasına karşın hiperkolesterolemide NO sinyalinde defekt ortaya çıkmasının nedenleri; oksidatif hasara uğramış endotel hücrede eNOS ile sentezlenen NO molekülünün yeterince düzgün sentezlenememesi ya da düz kas hücrelerinde bulunan NO reseptörlerinin yine oksidatif hasar sonucu zarara uğramış olması olabilir. Sonuçta NO sentezi artsa bile bu molekül fizyolojik anlamda etkili olamayacak ve süperoksit anyonu ile etkileşerek hızla peroksinitrit radikale dönüşecektir. Oluşan peroksinitrit radikali ise hücresel hasara yol açacaktır (105,108-110).

Tavşanlarda ve insanlarda aterosklerotik plaklarda yapılan fonksiyonel ve histokimyasal çalışmalar iNOS mRNA ve protein ekspresyonunun arttığını göstermektedir. İndüklenebilir NOS, plakta makrofajlar içinde nitrotirosinle (peroksinitrit-modifiye protein) birlikte tespit edilmiştir. Aterosklerotik damarlarda iNOS pozitif, makrofajlardan zengin

lezyonlarda SOD aktivitesinde artış olmasına karşın okside lipoproteinlerin karakteristik bulguları olan malondialdehid-lizin ve hidroksinanonel-lizin kalıntılarına ve peroksinitrit-modifiye proteinlerin karakteristik göstergesi olan nitrotirosine rastlanmış ve sonuçta malondialdehid, hidroksinonenal ve peroksinitritin oksidatif hasarın önemli mediyatörleri oldukları sonucuna varılmıştır (110,111).

Nitrik oksitin antiaterojenik etkilerini; süperoksit anyon oluşturan enzimleri inhibisyona uğratarak, oluşan süperoksit anyonunu inaktive ederek, LDL oksidasyonunu inhibe ederek ve radikal zincir ilerleme reaksiyonlarını önleyip lipid peroksidasyonunu ve dolayısıyla hücresel hasar oluşumunu engelleyerek gösterdiği rapor edilmektedir (105-107,112). Bütün bu etkilerinin yanı sıra NO; NF- κ B benzeri transkripsiyonal regülatörleri, süprese ederek, hücre adezyon moleküllerini ve monosit kemotaktik protein I (MCP-I) ekspresyonunu azaltır ve lökosit kümelenmesine engel olur (105-107). Ayrıca NO'nin, platelet adezyonu, agregasyonu ve T hücre proliferasyonunu önlemesi gibi etkilerinin antiaterojenik etkileri ile ilişkili, olduğu düşünülmektedir (105-107).

Endotelial NOS tarafından sentezlenen NO'nin erken ateroskleroz gelişimini önleyici etkileri olduğu düşünülmektedir. Ancak aterosklerotik plak oluşuktan sonra oksidatif stresin artışına bağlı olarak iNOS ekspresyonu artacak ve iNOS tarafından sentezlenen NO ve peroksinitrit, LDL oksidasyonu ve lipid peroksidasyonunu başlatarak endotel ve düz kas hücrelerinde sitotoksik etkiler sebep olacaktır (105-107,112). İndüklenebilir NOS tarafından aterosklerotik plak ve çevresinde sentezlenen NO'nin düz kas hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği, apoptotik hücre ölümünü indüklediği ve matriks metalloproteinazları aktive ettiği bildirilmektedir (105-107). Buna karşın peroksinitrit doku inhibitör metalloproteinaz-I'i inaktive eder. Bütün bu etkilerin ortak sonucu olarak aterosklerotik plakta fibröz tabakanın

gerilme gücü azalır, nekrotik çekirdek genişler ve aterotrombotik komplikasyonlar ortaya çıkar (105-107,112).

Güçlü bir HMG-CoA redüktaz inhibitörü olan statinler kolesterol biyosentezini etkili olarak düşürürler ve hücrelerde LDL reseptör sayısını artırarak LDL'nin ortamdan temizlenmesini hızlandırırlar. Son klinik çalışmalar statinlerin tüm yararlı etkilerinin bu ilaçların yalnızca kolesterol düşürücü etkilerine bağlanamayacağını göstermektedir (113). İn vivo çalışmalar statinlerin tavşanlarda düz kas hücre migrasyon ve proliferasyonunu plazma kolesterol seviyelerinden bağımsız olarak inhibe ettiğini göstermektedir. Bu inhibisyonun mevalanatın lokal verilmesi ile önlenmesi gözlemlendiğinde, statinlerin etkilerinin büyük bir kısmının arter duvarında mevalonat sentezinin lokal olarak inhibisyonu ile ilişkili olduğu görüşü ortaya atılmıştır (114).

Hayvan denekler kullanılarak yapılan çalışmalarda HMG-CoA inhibisyonunun endotel hücre fonksiyonu üzerinde yararlı etkileri olduğu belirlenmiştir. Lovastatinin kolesterolle beslenen tavşanların aortasında kolesterol birikimini inhibe ettiği ve endotelyum bağımlı gevşemeyi düzelttiği rapor edilmektedir (115). Ancak bu etkisine karşın lovastatin NO'nin biyoyararlılığını restore etmede etkisiz kalmıştır. Daha sonra Boger ve arkadaşları yaptıkları bir başka çalışmada lovastatinin süperoksit oluşumunu uyarıcı etkisi olduğunu ve bu nedenle NO'nin biyoyararlılığını düzeltmediğini ortaya çıkarmışlardır (116). LDL reseptör eksikliği olan genç tavşanlar ile yapılan bir çalışmada simvastatinin arterlerde fonksiyonel kaybı geciktirmekle birlikte aterom plağındaki ilerlemeyi inhibe etmediği rapor edilmektedir (117). Buna karşın pravastatinin lezyon ilerlemesini geciktirdiği ve koroner tıkanmayı önleyebildiği bildirilmektedir(118).

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda statinlerin akut koroner olguların önlenmesinde ve koroner olaylarla ilgili mortalitenin azaltılmasında çok yararlı ilaçlar olduğu üzerinde durulmaya başlanmıştır (113,114).Yapılan çalışmalar sonucunda statinlerin bu etkilerinin yalnızca kolesterol düşürücü etkilere bağlanamayacağı artık kesin olarak anlaşılmıştır. Klinik çalışmalar pravastatin, lovastatin ve lovastatinin bir antioksidan olan probucol ile kombinasyonu ile hazırlanan preparatların hiperkolesterolemi ve koroner arter hastalığında endotel bağımlı koroner gevşemeyi düzelttiği bildirilmektedir (68,70). Simvastatin ile yapılan tedavinin hiperkolesterolemili hastalarda periferel dolaşımda NO düzeyini artırdığı ve NO'e yanıtta düzelmeler sağladığı saptanmıştır (71). Bir başka çalışmada simvastatin ile tedavide bu iyileşmenin bir aylık tedavide görülebildiği rapor edilmektedir (72). Diğer bir çalışmada orta yaşlı erkeklerde uzun süreli kolesterol düşürücü diyet uygulamasında da aynı etkilerin görülebileceği belirtilmektedir(119). Fluvastatin ile yapılan bir çalışmada bu ilacın hiperkolesterolemik hastalarda kan akımının oluşturduğu basınca karşı asetilkolin yanıtını düzelttiği ve nitrik oksit biyoyararlılığını artırdığı bildirilmektedir(120).

Böylece araştırmalar arttıkça statinlerin, hücresel düzeyde yararlı etkilerini kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak ve hücre migrasyon ve proliferasyonunu, inflamatuvar yanıtları, plak stabilitesini, oksidatif stresi, endotelial hücre fonksiyonunu, trombus oluşumunu, platelet fonksiyonunu ve fibrinolitik dengeyi modifiye ederek gösterdiği ortaya çıkmıştır (113-118). Bunun yanı sıra son yıllarda yapılan az sayıda çalışmada statinlerin bu etkilerinin NO sentezi ve NO'in biyoyararlılığını artırarak yaptığı bildirilmektedir. Hernandez-Perera ve arkadaşları statinle tedavi sonrası endotel hücre kültürlerinde eNOS ekspresyonunun lipid düşürücü etkiden bağımsız olarak arttığını bildirmektedirler (121).

Statinlerin NO sentezini ve biyoyararlılığını artırma fonksiyonlarını büyük oranda

organizmanın antioksidan kapasitesini düzelterek yaptıkları rapor edilmektedir. Yaptığımız çok geniş kapsamlı literatür taraması sırasında az sayıda da olsa atorvastatin dışında bazı statin gruplarında; hücresel düzeyde statin etkisi ve bu ilaçların oksidan/antioksidan dengesi üzerindeki değişiklikleri incelemek amacıyla yapılan çalışmalar olduğu belirlendi. Giroux ve ark. tarafından simvastatin ile yapılan bir çalışmada in vitro olarak simvastatinin; makrofajların indüklediği LDL oksidasyonunu önlediği belirlenmiştir (122). Benzer bir çalışma 1997 yılında Hussein ve arkadaşları tarafından fluvastatin kullanılarak yapılmış olup (123), bu çalışmada fluvastatinin; proteinlerin fosfolipid yüzeyine bağlanarak yağ asitlerinin oksidasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Vaughan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada serebral iskemi ve inme olgularında kullanıldığında, statinlerin nöroprotektive etkileri olabileceğini ve bu etkilerini hücrelerdeki antioksidan savunma sistemlerini güçlendirerek yapabileceklerini rapor etmektedirler (124). Chen L ve arkadaşları ise 1997 yılında yaptıkları bir çalışmada lovastatin ve E vitamini verilen hastalarda bu moleküllerin etkilerini kıyaslamışlar ve adı geçen statinin bir antioksidan olan E vitaminine benzer şekilde antioksidan özellikleri olabileceğini saptamışlardır (125).

Bizim yaptığımız bir çalışmada da atorvastatin ile yapılan 45 günlük tedavinin plazma lipid peroksidasyonunu azalttığı ve organizmanın antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiği belirlendi (126).

Statinlerin endotelial fonksiyonları düzeltici etkilerinin büyük bir kısmını NO fonksiyonlarını restore ederek yaptığının anlaşılması üzerine bu konuda yapılan çalışma sayısı son yıllarda giderek artmaya başlamıştır. Yaptığımız geniş çaplı literatür taraması sırasında atorvastatin tedavi ile endotelial NO düzeylerinin hangi ölçüde değiştiğini araştıran çalışmanın oldukça az sayıda olduğunu saptadık. Dobrucki ve arkadaşlarının 2001 yılında

yayınlanan çalışmalarında sığır endotel hücreleri simvastatin, lovastatin, pravastatin ve atorvastatin ile ayrı ayrı maruz bırakıldıklarında bu hücrelerde NO sentezinin hemen hemen tüm ilaçlar ile eşit oranlarda arttığı bildirilmektedir(127). Wasman ve arkadaşları hipertansif sıçanlar ile yaptıkları çalışmalarında 30 günlük atorvastatin tedavisi ile sıçanların arter duvarlarında eNOS ekspresyonunun arttığını ve NO sentezindeki artış ile birlikte atorvastatin tedavisinin serbest radikal oluşumunu azalttığını saptamışlardır (128). Feron ve arkadaşları ise kültür hücreleri ile atorvastatini inkübe ettiklerinde atorvastatinin NO üretimini artırdığını rapor etmektedirler (129).

Atorvastatin ile NO değişiminin araştırılması amacıyla insanlarda yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Literatürde bu alanda yayınlanmış iki çalışma vardır:1999 yılında yayınlanan bir çalışmada atorvastatin ile tedavi edilen hiperlipidemik hastaların intraplatelet eNOS seviyeleri araştırılmış ve bu tedaviyle eNOS düzeylerinin ortalama 1.7 kat arttığı bildirilmiştir (130). Diğer çalışma ise 2000 yılında yayınlanmış olup bu çalışmada 18 hiperkolesterolemik hastada atorvastatin tedavisinin oksidatif stresi azalttığı ve endotel dokuda NO'ye bağlı gevşemeyi restore ettiği bildirilmektedir (131).Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak atorvastatin ile 45 günlük tedavi sonrasında bireylerin plazma NO düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirlendi ($p<0.02$). (Tedavi öncesi ortalama NO konsantrasyonu $44.8 \pm 3.1 \mu\text{mol/L}$, iken tedavi sonrası bu değer $57.1 \pm 3.9 \mu\text{mol/L}$) (Tablo 8, Grafik 4). Çalışmamızda bireylerin NO düzeylerini belirlemede farklı bir yöntem kullanıldı. Araştırmamızda kullanılan yöntemde NO aktivitesinin belirlenmesi, NO'nin daha stabil yıkım ürünleri olan nitrit ve nitratın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.

Biyolojik sıvılarda nitrik oksit konsantrasyonu ve nitrik oksit sentaz aktivitelerine ilişkin direkt ölçüm yöntemleri olmasına karşın bu yöntemler özellikle maliyetlerinin yüksek, uygulamalarının zor ve ayrıca hasta açısından daha travmatize edici olmaları nedeniyle pratik uygulamada fazla ilgi görememektedirler (132). Pratik uygulamada araştırma çalışmalarında organizmada NO düzeyinin tayininde en çok kullanılan yöntemler NO'nın parçalanma ürünleri olan nitrit ve nitrat miktarlarının belirlenmesine yönelik yöntemlerdir. Kolorimetrik prensiple işleyen bu yöntemler Griess ayırıcının örnekteki nitrit konsantrasyonu ile orantılı olarak oluşturduğu pembe-menekşe rengin 540 nm'deki absorbansının ölçülmesi esasına dayanır. Kolorimetrik ölçümlerde kullanılan Griess ayıracı yalnızca nitriti belirleyebildiğinden NO'nın gerçek konsantrasyonunun tayin edilebilebilmesi için nitratin nitrite indirgenmesi gerekir. Örnekteki nitratin nitrite indirgenmesinde piruvat dehidrogenaz ve kofaktör olarak NADPH'nin kullanıldığı enzimatik indirgenmenin yanı sıra kadmiyum granülleriyle indirgenmenin de en az enzimatik indirgenme kadar etkili olduğu bildirilmektedir. Nitratin nitrite indirgenmesinde kadmiyum granüllerinin kullanılması bu yöntemin hem daha ucuz hem de daha hassas olmasını sağlamıştır (133,134).

Çalışmamız grubunu oluşturan bireylerin NO düzeylerini belirlemede kullandığımız yöntem diğer araştırmacılar tarafından henüz kullanılmadığı için bulunan değerleri kıyaslama imkanımız olamadı. Ancak gerek atorvastatin gerekse diğer statinlerle yapılan çalışma sonuçları incelendiğinde çalışmamız bulguları literatürle uyumlu bulunmuştur. Kullandığımız yöntemin ucuz, kolay uygulanabilir ve nontravmatize olması çalışmamızın orijinalliğini daha da artırmaktadır.

Sonuç olarak atorvastatin hiperkolesterolemide ve aterosklerozda bireylerin total kolesterol ve LDL-K düzeylerini anlamlı ölçüde düşürmesinin yanı sıra, endotelial hücre

düzeyinde, NO sentezini uyararak ya da NO yıkımını azaltarak NO'in biyoyararlılığını artırmaktadır. Bu bulguların yapılacak sonraki çalışmalar açısından yararlı olacağına, ülkemizde ve dünyada benzeri çalışma sayısının artması ile, çok önemli bir sağlık problemi olan KKH ve aterosklerozda yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi imkanı doğacağına ve bu hastalıktan ölüm oranlarının önemli ölçüde azalacağına inanmaktayız.



6. ÖZET

Serum TK ve LDL-K düzeylerinin yüksek oluşu ile koroner kalp hastalığı (KKH) arasındaki ilişki bilinen bir gerçektir.

Hiperkolesterolemi tedavisinde statinler yan etkilerinin oldukça az olması ve LDL' yi oldukça etkili bir şekilde düşürmelerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaya başlanan ilaçlar olmuştur .

Son yıllarda tedavide kullanılmaya başlanan atorvastatin; bir statin olup primer hiperkolesterolemi ve mikst dislipidemi tedavisinde seçilecek ilaçlar arasına girmiştir.

Bu çalışmanın amacı lipid düşürücü etkileri dışında etkileri olduğu ortaya çıkarılan statinlerin bu etki mekanizmalarının anlaşılmasına katkıda bulunmak amacıyla atorvastatinle altı haftalık tedavi öncesi ve sonrasında plazma TK, LDL-K, HDL-K, TG, ve NO konsantrasyonlarını değerlendirmektir.

Çalışma kapsamına 33 hiperkolesterolemik hasta dahil edildi.

Tedavi öncesi ve sonrasında plazma TK, LDL-K, HDL-K, TG konsantrasyonları sırasıyla; 259 ± 9 ve 218 ± 7 mg/dl, 169 ± 5 ve 124 ± 7 mg/dl, 44 ± 2 ve 46 ± 2 mg/dl, 242 ± 19 ve 217 ± 19 mg/dl olarak tayin edildi.

Tedavi öncesi ve sonrasında plazma NO düzeyleri sırasıyla $44.8 \pm 3.1 \mu\text{mol/L}$, ve $57.1 \pm 3.9 \mu\text{mol/L}$ olarak belirlendi.

Tedavi sonrasında TK, LDL-K düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü ($p<0,001$), buna karşılık NO konsantrasyonunun anlamlı olarak arttığı ($p<0.02$), tespit edildi. HDL-K ve TG değerlerinde anlamlı bir değişikliğe rastlanmadı ($p>0,05$).

Atorvastatinin; LDL-K' ü düşürerek lipid peroksidasyonunu azalttığı ve endotel hücre düzeyinde NO konsntrasyonunu artırdığı için hiperkolesterolemi ve ateroskleroz tedavisinde etkili bir ilaç olduğu sonucuna varıldı.



7. SUMMARY

It is well recognized that high levels of serum total cholesterol (TC) and LDL cholesterol (LDL-C) are associated with an increased risk of coronary artery disease (CAD).

Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) are the most commonly prescribed agents for the treatment of hypercholesterolemia because of their efficacy in reducing LDL and their excellent tolerability and safety.

Atorvastatin was recently introduced for the treatment of primary hypercholesterolemia and mixed dyslipidemia.

The aim of this research is to evaluate plasma TC, LDL-C, HDL-C, TG, nitric oxide (NO) concentrations before and after the six-week-therapy with atorvastatin.

Thirty-three patients with hypercholesterolemia were included in the scope of the study.

The concentrations for TC, LDL-C, HDL-C, TG were 259 ± 9 vs 218 ± 7 mg/dl, 169 ± 5 vs 124 ± 7 mg/dl, 44 ± 2 vs 46 ± 2 mg/dl, 242 ± 19 vs 217 ± 19 mg/dl before and after the therapy respectively .

NO values were found as $44.8 \pm 3.1 \mu\text{mol/L}$ and $57.1 \pm 3.9 \mu\text{mol/L}$ before and after therapy, respectively.

TC, LDL-C levels were significantly reduced ($p < 0.001$) whereas NO levels were significantly increased ($p < 0.02$) after the therapy. No significant difference was detected for HDL-C and TG values.

It has been concluded that atorvastatin is an effective drug for the treatment of

hypercholesterolemia and thus, atherosclerosis; because it reduces both LDL-C, lipid peroxidation levels and increases nitric oxide concentrations in vascular endothelium.



8. KAYNAKLAR

1. Eagle KA. Update in cardiology. Ann intern Med 2000 Sep 19;133(6):439-446.
2. Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. Free Radic Biol Med 2000 Jun 15;28(12):1815-1826.
3. Batteridge DJ, Morell JM. Lipids and coronary heart disease. Chapman and Hall Medical London, 1988.
4. Miller GJ. Lipoproteins and the haemostatic system in atherothrombotic disorders. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol 1999 Sep;12(3):555- 575
5. Ward MR, Pasterkamp G, Y eung AC, Borst C. Arterial remodeling. Mechanisms and clinical implications. Circulation 2000 Sep 5;102(10):1186-1191.
6. Lee RT. Plaque stabilization: the role of lipid lowering. Int J Cardiol 2000 Jun 30;74 Suppl:SN-5
7. Gotto A, Pownall H (1999). Manuel of lipid disorders.Williams&Wilkins press, Pennsylvania.
8. Caramori PR, Zago AJ. Endothelial dysfunction and coronary artery disease. Arq Bras Cardiol 2000 Aug;75(2):163-182.
9. Forte P, Copland M, Smith LM, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. Lancet 1997 22;349:837-842.
10. Groves P, Kurz S, Just H, Drexler H. Role of endogenous bradykinin in human coronary vasomotor control. Circulation 1995;92:3424-3430.
11. Qiu C, Muchant D, Beierwaltes WH, Racusen L, Baylis C. Evolution of chronic nitric

- oxide inhibition hypertension: relationship to renal function. *Hypertension* 1998 ;31:21-26.
12. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of the endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.
 13. Vallance P. Collier J. Biology and clinical relevance of nitric oxide. *BMJ* 1994; 309: 453-457.
 14. Vallance P. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989; 2: 998-1000.
 15. Shepherd JT, Katusic ZS. Endothelium-derived vasoactive factors: I. Endothelium-dependent relaxation. *Hypertension* 1991 ;18(Suppl):76-85.
 16. Roberts WC. The underused miracle drugs: the statin drugs are to atherosclerosis what penicillin was to infectious disease. *Am J Cardiol* 1996 Aug 1 ;78(3):377-378.
 17. [http/ /www .Pfizer .com](http://www.Pfizer.com). Atorvastatin.
 18. Mayes PA. Lipid Transport, Storage, in Harper's Biochemistry 24.Ed, Prentice-Hall International London, 1996;254-283.
 19. Lehninger LA, Nelson DL, Cox MM. Principles of Biochemistry, 2'd Ed, 1993,240268.
 20. Denis J. Vance M, Vance J. Mechanisms of lipid-body formation. *Trends in Biochemical Sciences*, 1999, 24:3: 109-115.
 21. Ross R Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999 Jan 14; 340(2): 115-26.
 22. Raitakarí OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med* 2000 Jul; 32(5):293-304.
 23. Gerszten RE, Mach F, Sauty A, Rosenzweig A, Luster AD. Chemokines, leukocytes, and atherosclerosis. *J Lab Clin Med* 2000 Aug;136(2):87-92.

24. Simons M, Bonow RO, Chronos NA, Cohen DJ, Giordano FJ, Hammond HK, Laham RJ, Li W, Pike M, Sellke FW, Stegmann TJ, Udelson JE, Rosengart TK. Clinical trials in coronary angiogenesis: issues, problems, consensus: An expert panel summary. *Circulation* 2000 Sep 12;102(11):E73-86.
25. Mombouli N, Vanhoutte PM Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol* 1999 Jan;31(1):61-74.
26. Ruschitzka FT, Noll G, Luscher TF. The endothelium in coronary artery disease. *Cardiology* 1997;88 Suppl3:3-19.
27. Ferrari R, Bachetti T, Agnoletti L, Comini L, Curello S. Endothelial function and dysfunction in heart failure. *Eur Heart J* 1998 Jul; 19 Suppl G: G41- 7 .
28. Drexler H, Homig B. Endothelial dysfunction in human disease. *J Mol Cell Cardiol* 1999 Jan;31(1):51-60.
29. Libby P. Atherosclerosis. in *Harrison's Principles of internal medicine*. 14th ed. McGraw Hill edition, 1998; 1345-1352.
30. Mombouli N. ACE inhibition, endothelial function and coronary artery lesions. Role of kinins and nitric oxide. *Drugs* 1997;54 Suppl5:12-22.
31. Groves P, Kurz S, Just H, Drexler H. Role of endogenous bradykinin in human coronary vasomotor control. *Circulation* 1995;92:3424-3430.
32. Homig B, Drexler H. Endothelial function and bradykinin in humans. *Drugs* 1997;54 (Suppl5):42-47.
33. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byms RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987 ;84:9265-9269.

34. De Artinano AA, Gonzalez VL. Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction. *Pharmacol Res* 1999 ;40:113-124.
35. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997 ;30:325-333.
36. Dimmeler S, Haendeler J, Gaile J, Zeiher AM. Oxidised LDL induces apoptosis of human endothelial cells by activation of CP-32 like proteases: a mechanistic clue to the "response to injury" hypothesis. *Circulation*, 1997;95: 1760-1763.
37. Thomas MJ. Physiological aspects of low-density lipoprotein oxidation. Physiological aspects of low density lipoprotein oxidation. *Curr Opin Lipidol* 2000 Jun;11(3):297-301.
38. Chen LY , Mehta P , Mehta JL. Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets: relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function. *Circulation* 1996 May 1 ;93(9): 1740-1746.
39. Chen LY , Mehta JL. Downregulation of nitric oxide synthase activity in human platelets by nitroglycerin and authentic nitric oxide. *J Investig Med* 1997 Feb;45(2):69-74.
40. Aleksic N, Juneja H, Folsom AR, Ahn C, Boerwinkle E, Chambless LE, Wu KK. Platelet PI(A2) allele and incidence of coronary heart disease : results from the atherosclerosis risk in communities (ANC) study: *Circulation* 2000 Oct 17;102(16):1901-1905.
41. Liao D, Cai J, Rosamond WD, Bames RW, Hutchinson RG, Whitset EA, Rautaharju P , Heiss G. Cardiac autonomic function and incident coronary heart disease: a population-based case-cohort study. The ANC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am J Epidemiol* 1997 Apr 15;145(8):696- 706.
42. Howard BV, Lee ET, Cowan LD, Devereux RB, Galloway JM, Go OT, Howard WJ, Rhoades ER Robbins DC, Sievers ML, Welty TK. Rising tide of cardiovascular disease in

- American Indians. The Strong Heart Study. *Circulation* 1999 May 11 ;99(18):2389-95.
43. Steenland K, Thun M, La1ly C, Heath C Jr. Environmental tobacco smoke and coronary heart disease in the American Cancer Society CPS-II cohort. *Circulation* 1996 Aug 15;94(4):622-628.
 44. Traven ND, Ku1ler LH, Ives DG, Rutan GH, Perper JA Coronary heart disease mortality and sudden death among the 35-44-year age group in Allegheny County, Pennsylvania. *Ann Epidemiol* 1996 Mar;6(2): 130-136.
 45. Bemelmans WJ, Broer J, de Vries JH, Hulshof KF, May JF, Meyboom-De Jong B. Impact of mediterranean diet education versus posted leaflet on dietary habits and serum cholesterol in a high risk population for cardiovascular disease. *Public Health Nutr* 2000 Sep;3(3):273-83.
 46. Yu-Poth S, Etherton TD, Reddy CC, Pearson TA, Reed R Zhao G, Jonnalagadda S, Wan Y , Kris-Etherton PM. Lowering dietary saturated fat and total fat reduces the oxidative susceptibility of LDL in healthy men and women. *J Nutr* 2000 Sep;130(9):2228-37.
 47. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Grodstein F, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC. Trends in the incidence of coronary heart disease and changes in diet and lifestyle in women. : *N Engl J Med* 2000 Aug 24;343(8):530-7.
 48. Sea MM, Fong WP , Huang Y , Chen ZY. Weight cycling-induced alteration in fatty acid metabolism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000 Sep;279(3):R1,145-55.
 49. Mormando RM. Lipid levels. Applying the second National Cholesterol Education Program report to geriatric medicine. *Geriatrics* 2000 Aug;55(8):4853.
 50. Brousseau ME, Kauffman RD, Herderick EE, Demosky SJ Jr, Evans W, Marcovina S, Santamarina-Fojo S, Brewer HB Jr, Hoeg JM. LCAT modulates atherogenic plasma

- lipoproteins and the extent of atherosclerosis only in the presence of normal LDL receptors in transgenic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 Feb;20(2):450-8.
51. Wilson TA, Nicolosi RJ, Lawton CW, Babiak J. Gender differences in response to a hypercholesterolemic diet in hamsters: effects on plasma lipoprotein cholesterol concentrations and early aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999 Sep; 146(1): 8391.
 52. Girod WG, Jones SP, Sieber N, Aw TY, Lefer DJ. Effects of hypercholesterolemia on myocardial ischemia-reperfusion injury in LDL receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999 Nov;19(11):2776-81
 53. Sacks FM, Alaupovic P , Moye LA, Cole TG, Sussex B, Stampfer MJ, Pfeffer MA, Braunwald E. VLDL, apolipoproteins B, C II, and E, and risk of recurrent coronary events in the cholesterol and recurrent events (CARE) trial. *Circulation* 2000 Oct 17; 102(16): 1886-92.
 54. Cannon RO III. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. *Clin Chem* 1998;44:1809-1819.
 55. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994;63:175-195.
 56. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-1131.
 57. Lowenstein CJ, Snyder SH. Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell* 1992 ;70:705-707.
 58. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992 ;6:3051-3064.

59. Lamas L. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterisation of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6348-6352.
60. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993 ; 268(17):12231-12234.
61. Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994 ; 78:915-918.
62. Palmer RM. Vascular endothelial cells synthesis nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988: 333 : 664-666.
63. De Artinano AA, Gonzalez VL. Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction. *Pharmacol Res* 1999 ;40:113-124.
64. Nakazono K, Does superoxide underline the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10045-10048.
65. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 1991 ;266:4244-4250.
66. Rubanyi GM. Superoxide anions and hypoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor(s). *Am J Physiol* 1986;250: 822-827.
67. Leung WH, Lau CP, Wong CK. Beneficial effect of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolaemic patients. *Lancet* 1993 Jun 12;341(8859):1496-500.
68. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrangre D, Creager MA, Selwyn AP, Ganz P. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1995 Feb 23;75(6):71B-74B.
69. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, Zhang J,

- Boccuzzi SJ, Cedarholm JC, Alexander RW. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995 Feb 23;332(8):481-487.
70. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995 Feb 23;332(8):488-493.
71. Stroes ES, Koomans HA, de Bruin TW, Rabelink TJ. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients off and on lipid-lowering medication. *Lancet* 1995 Aug 19;346(8973):467-471.
72. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997 Mar 4;95(5):1126-1131.
73. van Boven AJ, Jukema JW, Zwinderman AH, Crijns HJ, Lie KI, Bruschke AV. Reduction of transient myocardial ischemia with pravastatin in addition to the conventional treatment in patients with angina pectoris. REGRESS Study Group. *Circulation* 1996 Oct 1;94(7):1503-1505.
74. Eichstadt HW, Eskotter H, Hoffman I, Amthauer HW, Weidinger G. Improvement of myocardial perfusion by short-term fluvastatin therapy in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995 Jul 13;76(2):122A-125A.
75. Aengevaeren WR, Uijen GJ, Jukema JW, Bruschke AV, van der Werf T. Functional evaluation of lipid-lowering therapy by pravastatin in the Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *Circulation* 1997 Jul 15;96(2):429-435.
76. Straznicky NE, Howes LG, Lam W, Louis WJ. Effects of pravastatin on cardiovascular reactivity to norepinephrine and angiotensin II in patients with hypercholesterolemia and

- systemic hypertension. : Am J Cardiol 1995 Mar 15;75(8):582-586.
77. Virchow R. Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. Lecture XVI--Atheromatous affection of arteries. Nutr Rev 1989; 47(1): 23-25.
78. Öngen Z. Atheroskleroz ve Kardiyoserebrovasküler Hastalıklar. Deomed Medikal Yayıncılık.Ekim 2000, İstanbul.
79. Kim KS, Owen WL, Williams D, Adams-Campbell LL. A comparison between BMI and Conicity index on predicting coronary heart disease: the Framingham Heart Study. Ann Epidemiol 2000 Oct;10(7):424-431.
80. Keys A. Wine, garlic, and CHD in seven countries. Lancet 1980 Jan 19;1(8160): 145-146.
81. Grundy SM Guidelines for cholesterol management: recommendations of the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel. Stroke 1994 May-Jun;3(3):123-127.
82. Mahley RW, Palaoglu KE, Atak Z, Dawson-Pepin J, Langlois AM, Cheung V, Onat H, Fulks P, Mahley LL, Vakar F, et al. Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. J Lipid Res 1995 Apr;36(4):839-859.
83. Rosenson RS. Non-Lipid-Lowering Effects of Statins on Atherosclerosis. Curr Cardiol Rep 1999 Sep;1(3):225-232.
84. Chen H, Ikeda U, Shimpo M, Shimada K. Direct effects of statins on cells, primarily involved in atherosclerosis. Hypertens Res 2000 Mar;23(2): 187-192.
85. Davignon J, Laaksonen R Low-density lipoprotein-independent effects of statins. Curr Opin Lipidol 1999 Dec;10(6):543-559.
86. Onat A, Dursunoglu D, Sansoy V. Relatively high coronary death and event rates in

- Turkish women. Relation to three major risk factors in five-year follow-up of cohort. : Int J Cardiol 1997 Aug 29;61(1):69-77.
87. D' Agostino RB, Kannel WB, Belanger AJ, Sytkowski P A. Trends in CHD and risk factors at age 55-64 in the Framingham Study. Int J Epidemiol 1989;18(3 Suppl 1):S67-72.
 88. Howard BV. Insulin resistance and lipid metabolism. Am J Cardiol 1999 Jul 8;84(1A):28-32.
 89. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, McNeely MJ, Edwards KL, Curb M, Sharp DS. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. Am J Cardiol 2000 Aug 15;86(4):412-416.
 90. <http://www.parke-davis.com/LIPITOR.pdf>
 91. <http://www.pslgroup.com>
 92. Feher DM, Richmond W. Lipids and Lipid disorders. Times Mirror International Publishers Limited. 2th edition, London, 1997.
 93. Steinberg D, Lewis A. Conner memorial lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. Circulation, 1997; 95: 1062-1071.
 94. La Ville Ae, Sola R Balanya J, Tumer Pr , Masana L. In vitro oxidized HDL, is recognized by the scavenger receptor of macrophages: implications for its protective role in vivo. Atherosclerosis, 1994; 105: 179-189.
 95. Gaw A. Evidence based approach for the management of mixed hyperlipidaemia. Atherosclerosis 1998 Apr;137 Suppl:S97-100.
 96. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. Circulation 2000 Jan

- 18;101(2):207-213.
97. Famier M, Davignon J. Current and future treatment of hyperlipidemia: the role of statins. *Am J Cardiol* 1998 Aug 27;82(4B):3 – 10.
98. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Sci Publ, Oxford 1999 .
99. Yaggi K. Assay for serum lipid peroxide level and its clinical significance in: *Lipid Peroxides in Biology and Medicine*, Ed: K.Yagi, Academic Press, New york, p 223 242, 1982.
100. Hiddle B, Arnold GH, Katelijine EM. Antiatherosclerotic activity of drugs in relation to nitric oxide function. *European Journal of Pharmacology* 1999;375:157-176.
101. Khan BV, Harrison DG, Olbrych MT, Alexander RW, Medford RM. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 Aug 20;93(17):9114-9119.
102. Matthys KE, Van Hove CE, Kockx MM, Andries LJ, Van Osselaer N, Herman AG, Bult H. Local application of LDL promotes intimal thickening in the collared carotid artery of the rabbit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997 Nov;17(11):2423-2439.
103. Mohri M, Egashira K, Tagawa T, Kuga T, Tagawa H, Harasawa Y, Shimokawa H, Takeshita A. Basal release of nitric oxide is decreased in the coronary circulation in patients with heart failure. *Hypertension* 1997 Jul;30(1 Pt 1):50-56
104. Beetens JR, Coene MC, Verheyen A, Zonnekeyn L, Herman AG. Biphasic response of intimal prostacyclin production during the development of experimental atherosclerosis. *Prostaglandins* 1986 Sep;32(3):319-334.

105. Bult H, Herman AG, Matthys KE. Antiatherosclerotic activity of drugs in relation to nitric oxide function. *Eur J Pharmacol* 1999 Jun 30;375(1-3):157-176.
106. Harrison DG, Inoue N, Ohara Y, Fukai T. Modulation of endothelial cell nitric oxide synthase expression. *Jpn Circ J* 1996 Nov;60(11):815-821
107. White CR, Brock TA, Chang LY, Crapo J, Briscoe P, Ku D, Bradley WA, Gianturco SH, Gore J, Freeman BA, et al. Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994 Feb 1;91(3):1044-1048.
108. Wilcox JN, Subramanian RR, Sundell CL, Tracey WR, Pollock JS, Harrison DG, Marsden PA. Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997 Nov;17(11):2479-2488.
109. Akyurek LM, Fellstrom BC, Yan ZQ, Hansson GK, Funa K, Larsson E. Inducible and endothelial nitric oxide synthase expression during development of transplant arteriosclerosis in rat aortic grafts. *Am J Pathol* 1996 Dec;149(6):1981-1990.
110. Maxwell AJ, Tsao PS, Cooke JP. Modulation of the nitric oxide synthase pathway in atherosclerosis. *Exp Physiol* 1998 Sep;83(5):573-584.
111. Luoma JS, Stralin P, Marklund SL, Hiltunen TP, Sarkioja T, Yla-Herttuala S. Expression of extracellular SOD and iNOS in macrophages and smooth muscle cells in human and rabbit atherosclerotic lesions: colocalization with epitopes characteristic of oxidized LDL and peroxynitrite-modified proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998 Feb;18(2):157-67
112. Henning B, Chow CK. Lipid peroxidation and endothelial cell injury: implications in atherosclerosis. *Free Radical Biol Med* 1988;4:99-106.
113. Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherothrombotic properties of statins: implications

- for cardiovascular event reduction. JAMA 1998 May 27;279(20):1643-1650.
114. Bellosta S, Bernini F, Ferri N, Quarato P, Canavesi M, Arnaboldi L, Fumagalli R, Paoletti R, Corsini A. Direct vascular effects of HMG-CoA reductase inhibitors. Atherosclerosis 1998 Apr;137 Suppl:S101-109.
115. Senaratne MP, Thomson AB, Kappagoda CT. Lovastatin prevents the impairment of endothelium dependent relaxation and inhibits accumulation of cholesterol in the aorta in experimental atherosclerosis in rabbits. Cardiovasc Res 1991 Jul;25(7):568-578.
116. Boger RH, Bode-Boger SM, Brandes RP, Phivthong-ngam L, Bohme M, Nafe R, Mugge A, Frolich JC. Dietary L-arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: comparison with lovastatin. Circulation 1997 Aug 19;96(4):1282-1290.
117. Dowell FJ, Hamilton CA, Lindop GB, Reid JL. Development and progression of atherosclerosis in aorta from heterozygous and homozygous WHHL rabbits. Effects of simvastatin treatment. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995 Aug;15(8):1152-1160.
118. Kroon AA, Stalenhoef AF, Buikema H, Demacker PN, de Wilde PC, Leijten PA, van Gilst WH. The effect of cholesterol reduction on the endothelial function and progression of atherosclerosis in WHHL rabbits. Atherosclerosis 1993 Nov;103(2):221-230.
119. Cuchel M, Schwab US, Jones PJ, Vogel S, Lammi-Keefe C, Li Z, Ordovas J, McNamara JR, Schaefer EJ, Lichtenstein AH. Impact of hydrogenated fat consumption on endogenous cholesterol synthesis and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in moderately hypercholesterolemic individuals. Metabolism 1996 Feb;45(2):241-247.
120. John S, Schlaich M, Langenfeld M, Weihprecht H, Schmitz G, Weidinger G, Schmieder RE. Increased bioavailability of nitric oxide after lipid-lowering therapy in

- hypercholesterolemic patients: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Circulation* 1998 Jul 21;98(3):211-216.
121. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J, Sanchez-Pascuala R, Hernandez G, Diaz C, Lamas S. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998 Jun 15;101(12):2711-2719.
122. Giroux LM, Davignon J, Naruszewicz M Simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 1993; 1165: 335-338.
123. Hussein O, Schlezinger S, Rosenblat M, Keidar S, Aviram M. Reduced susceptibility of LDL to lipid peroxidation after fluvastatin therapy is associated with the hypercholesterolemic effect of the drug and its binding to LDL. *Atherosclerosis* 1997; 128:11-18.
124. Vaughan CJ, Delanty N .Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke*, 1999; 30:1969-1973.
125. Chen L, Haught WH, Yang B, Saldeen TGP , Parthasarthy S, Mehta JL. Preservation of endogenous antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation as common mechanisms of antiatherosclerotic effects of vitamin E, lovastatin and amlodipine. *J Am Coll Cardiol*, 1997; 30: 569-575.
126. Aydemir A, Borlu F, Serdaroğlu E, Demir İ, Konduk T, Donma O. Atorvastatin, lipid peroxidation and total antioxidant status. 3rd international congress on coronary artery disease, from prevention to intervention. Lyon, France; october 2-5, 2000.

127. Dobrucki LW, Kalinowski L, Dobrucki IT, Malinski T. Statin-stimulated nitric oxide release from endothelium. *Med Sci Monit* 2001 Jul-Aug;7(4):622-627.
128. Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, Muller K, Ahlbory K, Linz W, Itter G, Rosen R, Bohm M, Nickenig G. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension* 2001 Jun;37(6):1450-1457.
129. Feron O, Dessy C, Desager JP, Balligand JL. Hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance. *Circulation*. 2001 Jan 2;103(1):2-4
130. Tannous M, Cheung R, Vignini A, Mutus B. Atorvastatin increases ecNOS levels in human platelets of hyperlipidemic subjects. *Thromb Haemost* 1999 Nov;82(5):1390-1394.
131. Perticone F, Ceravolo R, Maio R, Cloro C, Candigliota M, Scozzafava A, Mongiardo A, Mastroberto P, Chello M, Mattioli PL. Effects of atorvastatin and vitamin C on endothelial function of hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis* 2000 Oct;152(2): 511-518
132. Tschudi M. Direct in situ measurement of nitric oxide in mesenteric resistance arteries: increased decomposition by superoxide in hypertension. *Hypertension* 1995; 27:32-35.
133. Kelm M, Feelisch M, Spahr R, Piper HM, Noack E, Schrader J. Quantitative and kinetic characterization of nitric oxide and EDRF released from cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1988 ;154:236-244.
134. Kelm M, Schrader J. Nitric oxide release from the isolated guinea pig heart. *Eur J Pharmacol* 1988 ;155:317-321.