

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HİPERKOLESTEROLEMİK HASTALARDA  
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRES  
PARAMETRELERİ VE BU PARAMETRELERİN  
KARDİYOVASKÜLER RİSK VE KORONER ARTER  
HASTALIĞIYLA İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Seda ALTUNTAŞ**

**Trabzon - 2023**

**T.C.**  
**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HİPERKOLESTEROLEMİK HASTALARDA**  
**ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRES**  
**PARAMETRELERİ VE BU PARAMETRELERİN**  
**KARDİYOVASKÜLER RİSK VE KORONER ARTER**  
**HASTALIĞIYLA İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Seda ALTUNTAŞ**

**Tez Danışmanı**  
**Prof. Dr. Cihan ÖREM**

**Trabzon - 2023**

## TEŞEKKÜR

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim süresince iyi günümde, kötü günümde desteğiyle yanımda olan, Anabilim Dalı Başkanımız sevgili hocam Prof. Dr. Merih KUTLU'ya; eğitimimiz için elinden geleni yapan, kardiyak görüntülemeyi bize sevdiren değerli tez hocam Prof. Dr. Cihan ÖREM'e; bölümümüzün saygıdeğer hocası Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE'ye; gerek bilgi birikimi ve gerekse insani yaklaşımıyla bize her zaman örnek olan Prof. Dr. Ömer GEDİKLİ' ye; kapısı her an yardım için bize açık olan Dr. Öğr. Üyesi Mürsel ŞAHİN'e çok teşekkür ederim.

Tezim süresince yardımlarını eksik etmeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalından; Prof. Dr. Asım ÖREM, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN, sevgili Post. Doktorant Serap Özer YAMAN ve Yüksek Lisans Öğrencisi Büşra BİLGİN'e çok teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca beraber keyifle çalıştığımız ve büyük desteklerini gördüğüm başta Reyhan HEKİMOĞLU olmak üzere kardiyoloji bölümü hemşirelerine, anestezi teknisyenimiz Hüsna BOZKURT' a, sekreter ve tüm personel arkadaşlarımıza gönülden teşekkür ediyorum.

Bu zorlu asistanlık sürecini birbirimize destek olarak keyifle geçirmemizi sağlayan; asistan arkadaşlarım Dr. Burcu KODAL, Dr. Ali Nail KAYA, Dr. İpek HÜROĞLU EFE, Dr. Buse YILMAZ'a ve sevgili kıdemlim Dr. Fatih KARTALER'e olmak üzere omuz omuza verdiğim tüm asistan arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi iletiyorum.

Bütün hayatım boyunca hep yanımda olan, beni bu günlere getiren, dualarını eksik etmeyen, sonsuz sevgi ve desteğini her zaman hissettiğim canım anne ve babacığım Gülhan-İbrahim ALTUNTAŞ'a, bitanecik kardeşlerim Bahar YAYLALI, Esra ve Oğuzhan ALTUNTAŞ'a; ailemize girdiği andan itibaren neşemiz olan bitanecik yeğenim Aslan YAYLALI'ya, sevgili anneanneciğim Şükran YILMAZ' a ve teyzeciğim Sama ÇAKAN' a başta olmak üzere tüm geniş aileme sonsuz teşekkürler.

Seda ALTUNTAŞ

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje numarası: TTU-2021-9979

## ÖZET

### **Hiperkolesterolemik Hastalarda Endoplazmik Retikulum Stres Parametreleri ve Bu Parametrelerin Kardiyovasküler Risk Ve Koroner Arter Hastalığıyla İlişkisinin Değerlendirilmesi**

#### **Amaç**

Endoplazmik retikulum stresi (ERS)'nin dislipidemi ve kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ile ilişkisi farklı birçok çalışma ile ortaya konulmaya çalışılmıştır. Tam olarak netleşmemişse de ERS'nin hiperkolesterolemi ve inflamasyonla birlikte aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH) gelişiminde rol oynayabileceği yönündeki bulgular ağırlıklı görülmektedir. Bu çalışmada hiperkolesterolemide ve KAH olan [KAH(+)] ve olmayan [KAH(-)] bireylerde, ERS parametrelerinin incelenmesi ve aynı zamanda bunların KVH riskini gösteren "Sistemik Koroner Risk Değerlendirme 2 (SCORE2)" ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

#### **Metot**

Tez çalışmamıza kliniğimizde KAH(-) hiperkolesterolemi tanısı alan ve henüz statin tedavisi başlanmamış 46 dislipidemik hasta, bu gruba cins ve yaş eşdeğer 29 sağlıklı kontrol grubu ve 13 KAH(+) hasta dahil edilmiştir. Endoplazmik retikulum stres durumunu değerlendirmek amacıyla dolaşımdaki glukoz düzenleyici protein 78 (GRP78/BiP), inositol bağımlı kinaz 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ), C/EBP homolog protein (CHOP), Kaspaz-3 düzeyleri ölçülmüştür. Tüm hastaların SCORE2 sistemi kullanılarak KVH risk durumu hesaplanmıştır.

#### **Bulgular**

Endoplazmik retikulum stres parametrelerinden GRP78/BiP, IRE1 $\alpha$ , CHOP ve Kaspaz düzeyleri hiperkolesterolemik grupta normokolesterolemik gruba göre, KAH(+) grupta da normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik KAH(-) gruba göre belirgin olarak yüksek bulundu. İnflamasyon parametrelerinden interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) düzeyleri KAH(+) grupta normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı olarak yüksek gözlendi. Tüm çalışma grubu hesaplanan SCORE2 puanına göre; düşük, orta ve yüksek riskli olarak gruplara ayrıldığında, yüksek riskli grupta GRP78, Kaspaz ve TNF- $\alpha$  düzeyleri düşük ve orta riskli gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p= 0.035, p= 0.042, p=

0.025). SCORE2 düzeyleri sırasıyla IRE1 $\alpha$  (r= 0.22 p= 0.037), GRP78 (r= 0.33 p= 0.002), TNF- $\alpha$  (r= 0.34 p= 0.001), total kolesterol (r= 0.32 p= 0.003), LDL-kolesterol (r= 0.36 p= 0.011) ve Non-HDL-kolesterol (r= 0.3 p= 0.001) düzeyleriyle anlamlı korelasyonlar göstermiştir. Ayrıca, ERS parametreleri inflamasyon ve lipid parametreleriyle de farklı düzeyde anlamlı ilişkiler göstermiştir.

### **Sonuç**

Endoplazmik retikulum stres parametrelerinin KAH(+) hastalarda KAH(-) hastalara göre anlamlı yüksek olması ve KAH(-) hiperkolesterolemi hastalarında normokolesterolemik hastalardan anlamlı yüksek bulunması ERS'nin aterosklerotik KAH gelişiminde etkili olabileceği bulgusunu desteklemiştir. Ayrıca, SCORE2'ye göre sınıflanmış yüksek riskli grupta ERS parametrelerinin diğer düşük ve orta riskli gruptan anlamlı yüksek oluşu ve tüm çalışma grubunda ERS parametrelerinin SCORE2 ile anlamlı korelasyonlar göstermesi ERS parametrelerinin yüksek riskli SCORE2 grubunu belirlemede katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Endoplazmik retikulum stresi, GRP78/BiP, IRE1 $\alpha$ , CHOP, Kaspaz, SCORE2, Hiperkolesterolemi

## SUMMARY

### **Evaluation of Endoplasmic Reticulum Stress Parameters and the Relationship of These Parameters with Cardiovascular Risk and Coronary Artery Disease in Hypercholesterolemic Patients**

#### **Purpose**

The relationship of endoplasmic reticulum stress (ERS) with dyslipidemia and cardiovascular diseases (CVD) has been tried to be revealed by many different studies. Although it is not fully clarified, the findings suggesting that ERS may play a role in the development of atherosclerotic coronary artery disease (CAD) together with hypercholesterolemia and inflammation are predominantly seen. In this study, it was aimed to examine the ERS parameters in hypercholesterolemia and in individuals with and without CAD [CAD(+)] and [CAD(-)], as well as to evaluate their relationship with the "Systematic Coronary Risk Evaluation 2 (SCORE2)", which indicates CVD risk.

#### **Method**

In our study, 46 dyslipidemic patients diagnosed with hypercholesterolemia and without CAD and not started on statin therapy yet, 29 healthy control (normocholesterolemic) group who were equal in gender and age and 13 patients with CAD were included in our study. In order to evaluate the endoplasmic reticulum stress state, circulating glucose regulatory protein 78 (GRP78/BiP), inositol dependent kinase 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ), C/EBP homologous protein (CHOP), Caspase-3 levels were measured. CVD risk status of all patients was calculated using the SCORE2 system.

#### **Findings**

GRP78/BiP, IRE1 $\alpha$ , CHOP and Caspase levels were found to be significantly higher of hypercholesterolemic group than normocholesterolemic group, and CAD(+) group than normocholesterolemic and hypercholesterolemic CAD(-) groups. Among the inflammation parameters, interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) levels were observed to be significantly higher in the CAD(+) group than in the normocholesterolemic and hypercholesterolemic groups. GRP78, Caspase and TNF- $\alpha$  levels were found to be significantly higher in the SCORE2 high-risk group

than in the SCORE2 low- and intermediate-risk groups ( $p= 0.035$ ,  $p= 0.042$ ,  $p= 0.025$ , respectively). SCORE2 levels showed significant correlations with IRE1 $\alpha$  ( $r= 0.22$   $p= 0.037$ ), GRP78 ( $r= 0.33$   $p= 0.002$ ), TNF- $\alpha$  ( $r= 0.34$   $p= 0.001$ ), total cholesterol ( $r= 0.32$   $p= 0.003$ ), LDL-cholesterol ( $r= 0.36$   $p= 0.011$ ) and non-HDL-cholesterol ( $r= 0.3$   $p=0.001$ ) levels. In addition, ERS parameters also showed significant correlations with inflammation and lipid parameters at different levels.

### **Conclusion**

The fact that ERS parameters were significantly higher in CAD(+) patients than in CAD(-) patients and significantly higher in CAD(-) hypercholesterolemia patients than in normocholesterolemic patients supported the finding that ERS may be effective in the development of atherosclerotic CAD. In addition, the fact that the ERS parameters in the high-risk group classified according to SCORE2 were significantly higher than the other low and medium-risk groups, and the significant correlations of ERS parameters with SCORE2 in the entire study group suggest that ERS parameters may contribute to determining the high-risk SCORE2 group.

**Keywords:** Endoplasmic reticulum stress, GRP78/BiP, IRE1 $\alpha$ , CHOP, Caspase, SCORE2, Hypercholesterolemia

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER .....	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Koroner Arter Hastalığı.....	3
2.1.1. Ateroskleroz .....	3
2.1.1.1. Ateroskleroz Patofizyolojisi .....	3
2.1.2. Plak Oluşumu.....	5
2.1.3. Hiperlipidemi .....	7
2.1.3.1. Lipoproteinler.....	8
2.2. Endoplazmik Retikulum Stresinin Ateroskleroza Etkisi.....	10
2.3. Sistematik Koroner Risk Değerlendirmesi 2 (SCORE2) .....	14
2.3.1. SCORE2-OP (SCORE2-Older Persons).....	18
2.4. Metabolik Sendrom .....	19
3. MATERYAL ve METOT .....	21
4. BULGULAR .....	32
5. TARTIŞMA .....	46
6. KISITLILIKLAR .....	51
7. SONUÇLAR .....	52
8. KAYNAKLAR .....	53

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AF</b>	: Atrial Fibrilasyon
<b>AKŞ</b>	: Açlık kan şekeri
<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>Apo B</b>	: Apolipoprotein B
<b>ASKVH</b>	: Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>ATF6</b>	: Aktive edici transkripsiyon faktörü 6
<b>BÇ</b>	: Bel çevresi
<b>BKİ</b>	: Beden Kitle İndeksi
<b>BKO</b>	: Bel/kalça oranı
<b>BUN</b>	: Kan üre azotu
<b>CHOP</b>	: C/-EBP homolog protein
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein
<b>DM</b>	: Diyabetes Mellitus
<b>EC</b>	: Endotel hücresi
<b>ER</b>	: Endoplazmik retikulum
<b>ERAD</b>	: Endoplazmik retikulumla ilişkili protein yıkımı
<b>ERS</b>	: Endoplazmik retikulum stresi
<b>FGF</b>	: Fibroblast büyüme faktörü
<b>GRP78/BiP</b>	: Glukoz düzenleyici protein 78 / Bağlayıcı immünoglobulin proteini
<b>GRP78</b>	: Glukoz düzenleyici protein 78
<b>HDL</b>	: Yüksek dansiteli lipoprotein
<b>HDL-K</b>	: HDL Kolesterol
<b>hsCRP</b>	: Yüksek duyarlılık C-Reaktif Protein
<b>HT</b>	: Hipertansiyon
<b>HTG</b>	: Hipertrigliseridemi
<b>ICAM</b>	: İntersellüler Adezyon Molekülü
<b>IDL</b>	: Orta yoğunluklu lipoproteinler
<b>IL-1</b>	: İnterlökin 1
<b>IRE1</b>	: İnositol bağımlı kinaz 1

<b>JNK</b>	: Jun-N terminal kinaz
<b>KAH</b>	: Koroner arter hastalığı
<b>KBH</b>	: Kronik Böbrek Hastalığı
<b>KKH</b>	: Koroner kalp hastalığı
<b>KVH</b>	: Kardiyovasküler hastalık
<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>MCP</b>	: Monosit kemotaktik protein
<b>MCSF</b>	: Makrofaj koloni stimulan faktör
<b>Mİ</b>	: Miyokard infarktüsü
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>P38 MAPK</b>	: p38 mitojen aktivasyonlu protein kinaz
<b>PDGF</b>	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
<b>PERK</b>	: Çift sarmal RNA-aktivasyonlu protein kinaz benzeri ER kinaz
<b>RA</b>	: Romatoid Artrit
<b>SCORE2</b>	: Sistemik Koroner Risk Değerlendirme 2
<b>TEKHARF</b>	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
<b>TG</b>	: Trigliserid
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör- $\alpha$
<b>Total-K</b>	: Total Kolesterol
<b>TRAF2</b>	: TNF reseptör- bağlantılı faktör 2
<b>UPR</b>	: Katlanmamış protein cevabı
<b>VCAM</b>	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
<b>VLDL</b>	: Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>XBP1</b>	: X-box bağlayıcı protein 1

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	Serum lipitlerinin sınıflandırılması.....	10
<b>Tablo 2.</b>	Kardiyovasküler hastalık risk hesaplama sistemleri.....	15
<b>Tablo 3.</b>	Dört Avrupa risk bölgesinde kardiyovasküler hastalık riskinin tahmini için SCORE2 çizelgeleri .....	17
<b>Tablo 4.</b>	70 yaş üstü bireyler için öngörülen 10 yıllık kardiyovasküler hastalık riskinin bölgesel risk çizelgeleri.....	19
<b>Tablo 5.</b>	NCEP-ATP3 Metabolik sendrom kriterleri.....	20
<b>Tablo 6.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait antropometrik değerler .....	32
<b>Tablo 7.</b>	KAH(-) normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait antropometrik değerler .....	33
<b>Tablo 8.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait biyokimyasal parametreler .....	34
<b>Tablo 9.</b>	Normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait biyokimyasal parametreler .....	35
<b>Tablo 10.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait ERS ve inflamasyon parametreleri.....	36
<b>Tablo 11.</b>	Normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait ERS ve inflamasyon parametreleri .....	37
<b>Tablo 12.</b>	SCORE2 risk durumuna göre sınıflandırılması.....	38
<b>Tablo 13.</b>	SCORE2 risk durumuna göre endoplazmik retikulum stres ve inflamasyon parametreleri .....	38
<b>Tablo 14.</b>	SCORE2 ve parametreler arasındaki korelasyon bulguları.....	39
<b>Tablo 15.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait SCORE2 korelasyon bulguları.....	39
<b>Tablo 16.</b>	Normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait SCORE2 korelasyon bulguları .....	40
<b>Tablo 17.</b>	KAH(-)ve KAH(+) gruplara ait GRP78 korelasyon bulguları .....	41
<b>Tablo 18.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait IRE1 $\alpha$ korelasyon bulguları .....	41
<b>Tablo 19.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait CHOP korelasyon bulguları .....	42
<b>Tablo 20.</b>	KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait IL-6 korelasyon bulguları.....	42
<b>Tablo 21.</b>	GRP78 total korelasyon bulguları .....	42
<b>Tablo 22.</b>	IRE1 $\alpha$ total korelasyon bulguları.....	43
<b>Tablo 23.</b>	CHOP total korelasyon bulguları .....	43

<b>Tablo 24.</b> Kaspaz total korelasyon bulguları .....	44
<b>Tablo 25.</b> IL-6 total korelasyon bulguları .....	44
<b>Tablo 26.</b> TNF- $\alpha$ total korelasyon bulguları .....	44



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b>	Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz.....	4
<b>Şekil 2.</b>	Ateroskleroz süreci .....	7
<b>Şekil 3.</b>	Kardiyovasküler hastalıkta endoplazmik retikulum stresi aracılı apoptoz ve inflamasyon.....	13
<b>Şekil 4.</b>	Endoplazmik retikulum stresinin patogeneze aracılık ettiği hastalıklar.....	13
<b>Şekil-5.</b>	Endoplazmik retikulum stresi yanıtının ateroskleroza katılımı.....	14
<b>Şekil 6.</b>	Standartlaştırılmış kardiyovasküler hastalık ölüm oranlarına dayalı risk bölgeleri .....	16
<b>Şekil 7.</b>	GRP78 standart grafiği .....	24
<b>Şekil 8.</b>	IRE1- $\alpha$ standart grafiği .....	25
<b>Şekil 9.</b>	CHOP standart grafiği .....	27
<b>Şekil 10.</b>	KASP3 standart grafiği.....	28
<b>Şekil 11.</b>	IL-6 standart grafiği.....	29
<b>Şekil 12.</b>	TNF- $\alpha$ standart grafiği.....	31
<b>Şekil 13.</b>	Toplam çalışma grubunun SCORE2 ile IRE1 $\alpha$ arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği .....	45
<b>Şekil 14.</b>	Toplam çalışma grubunun SCORE2 ile GRP78 arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği .....	45

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), obezite ve tip 2 diyabet gibi metabolik bozuklukların küresel yükselişi, sağlığı veya hastalığı yöneten hücrel mekanizmaların kapsamlı bir şekilde araştırılmasına neden olmuştur. Ateroskleroz ve buna bağlı olarak gelişen KVH, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. 2008 yılında 17.3 milyon ölüm KVH ile ilişkili gerçekleşmişken, 2030 yılında bu sayının artarak 23.3 milyona ulaşabileceği öngörülmektedir (1, 2). Aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklara (ASKVH) neden olan önlenemez pek çok risk faktörü içinde dislipidemi yer almaktadır ve dislipidemi aterosklerozun patogenezinde temel faktörlerden biridir (3). Epidemiyolojik çalışmalar, genetik ve çevresel faktörler arasında artmış düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) düzeylerinin, diğer risk faktörlerinin yokluğunda bile ASKVH gelişimini indükleyebileceğini göstermiştir (4, 5).

Endoplazmik retikulum (ER), hücrel fonksiyon ve metabolik adaptasyon için önemli bir organdır. “Endoplazmik retikulum stresi (ERS)” olarak bilinen bozulmuş ER fonksiyonu, metabolik bozuklukların temel bir özelliğidir (6). Endoplazmik retikulum stresinin hastalıklarla ilişkisi ve rolü hücre kültürü, hayvan modelleri ve farklı klinik alanlarda araştırma konusu olmuş ve bu çalışmaların sonucunda patolojik stresin yanlış katlanmış proteinlerin birikimi ve ER homeostazının bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (7-9). Endoplazmik retikulum stresi ve bunun tetiklediği apoptoz ve inflamasyonun ateroskleroz ve KVH’ya neden olup olmadığı çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır.

Kardiyovasküler hastalıkları önlemede, toplam KV riskin belirlenmesi önerilmektedir (10). Kardiyovasküler risk tahmininde Framingham, ASSIGN, Q Risk, PROCAM, CUORE gibi birçok risk hesaplama modelleri kullanılmıştır. SCORE2 risk hesaplama, en güncel olan yöntemdir. SCORE2 risk değerlendirme tabloları, kişinin 10 yıllık KVH riskini hesaplamada kullanılır. Düşük, orta, yüksek ve çok yüksek riskli popülasyonda kullanılmak üzere farklı SCORE2 tabloları mevcut olup Türkiye yüksek riskli ülkeler grubundadır. SCORE2 tablosu kişinin cinsiyet, sigara içme durumu, yaş, kan basıncı ve yüksek dansiteli lipoprotein dışı kolesterol (non-HDL-K) düzeylerine göre en yakın bölme bulunarak kullanılır (11).

Endoplazmik retikulum stresinin dislipidemi ve KVH ile ilişkisi farklı birçok çalışma ile ortaya konulmaya çalışılmıştır. Tam olarak netleşmemişse de ERS'nin hiperkolesterolemi ve inflamasyonla birlikte aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH) gelişiminde rol oynayabileceği yönündeki bulgular ağırlıklı görülmektedir. Bu alışmada KAH(-) hiperkolesterolemik ve KAH(+) bireylerde, ERS parametrelerinin incelenmesi ve aynı zamanda bunların KVH riskini gösteren “Sistematik Koroner Risk Değerlendirme 2 (SCORE2)” ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Koroner Arter Hastalığı**

Koroner arter hastalığı ülkemizde ve tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak karşımıza çıkmakta ve prevalansı giderek artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2010 yılında dünyada ölümlerin %30'unun KVVH nedeniyle olduğunu ve 2030 itibariyle yıllık 23.3 milyondan fazla kişinin KVVH nedeniyle kaybedileceğini ön gördüğünü açıklamıştır (2, 12).

Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasında ülkemizde 2 milyon kişinin KAH'na sahip olduğu ve tüm ölümlerin %42'sinin KAH nedeniyle gerçekleştiği gösterilmiştir (13).

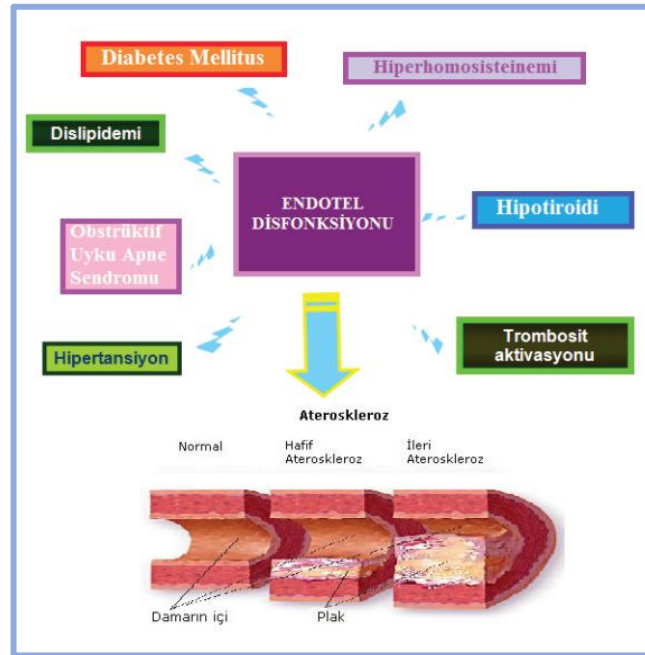
#### **2.1.1. Ateroskleroz**

Ateroskleroz orta ve büyük müküler arter duvarında subendotelial alanda yer alan lipoprotein birikmesi ile oluşan fibroproliferatif, kronik inflamatuvar bir hastalıktır (14). Ateroskleroz oluşumunda başlıca iki ana neden; bozulmuş lipid birikimi dengesi ve damar duvarının kronik inflamasyonudur (15). Bu iki durum aterosklerotik plakların oluşması ve bununla ilişkili çeşitli KVVH'ların gelişmesine neden olur. Ateroskleroz, KAH'nın en önemli ve yaygın nedenidir (16). En önemli komplikasyonları miyokard infarktüsü (Mİ) ve ani kardiyak ölümdür. Aterosklerozun gelişim hızını yaşam tarzı, genetik ve çevresel faktörler gibi durumlar etkilemektedir.

##### **2.1.1.1. Ateroskleroz Patofizyolojisi**

Karmaşık mekanizmalar, yakın zamana kadar ateroskleroz patogenezinin tam olarak aydınlatılmasını güçleştirmiştir. Aterosklerozun inflamatuvar bir hastalık olduğu hipotezi ilk olarak 1999'da Russell Ross tarafından ortaya atılmıştır (17). 1976 yılındaki Ross ve Glomset'in ortaya koyduğu hasara yanıt hipotezi ateroskleroz için en kabul gören hipotezdir. Sonrasında Ross ve arkadaşları (1993), hasara uğrayan endotel hücre değişikliklerinin, endotel geçirgenliğindeki bozulmayla

birlikte damar duvarı ve kan elemanları arasındaki etkileşimi tetiklediğini göstermişlerdir. Günümüzdeki bilgiler ışığında ateroskleroz multifaktöriyel, başlangıçtan itibaren her basamağında kronik inflamasyonun rol aldığı, her bir risk faktörünün altta yatan inflamatuvar süreci hızlandırarak patogeneizde yer aldığı bir hastalıktır (18). Hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabet, sigara içme, obezite, ileri yaş ve fiziksel inaktivite gibi bilinen risk faktörleri inflamatuvar hücrelerin arter duvarına girişini ve aktivasyonlarını tetikler. İnflamasyon, hastalığın başlangıcı ve progresyonunun yanı sıra plak yırtılması ve trombüs oluşumunda da önemli rol oynar (19, 20). Hasara yanıt hipotezine göre aterosklerotik süreçte ilk basamak endotel disfonksiyonudur. İmmün mekanizmalar ve metabolik risk faktörleri etkileşimiyle endotel disfonksiyonu gelişir (Şekil 1), (21). Endotel hücreleri, vasküler yatak iç tabakasını kaplar ve böylece kan elemanlarıyla damar duvarı arasında bariyer işlevi görür. Vasküler sistemdeki endotel hücreleri, kanın akışkanlığını sağlayan ve idame ettiren antikoagülan ve non-trombojenik özellikte düzgün bir yüzey sağlarlar (22). Okside olmuş LDL'nin oluşturduğu yüksek oksidatif stresle başlayan endotel hücre disfonksiyonu prokoagülan, vazokonstriktör ve inflamatuvar maddelerin üretilmesine neden olur.



Şekil 1. Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz (21)

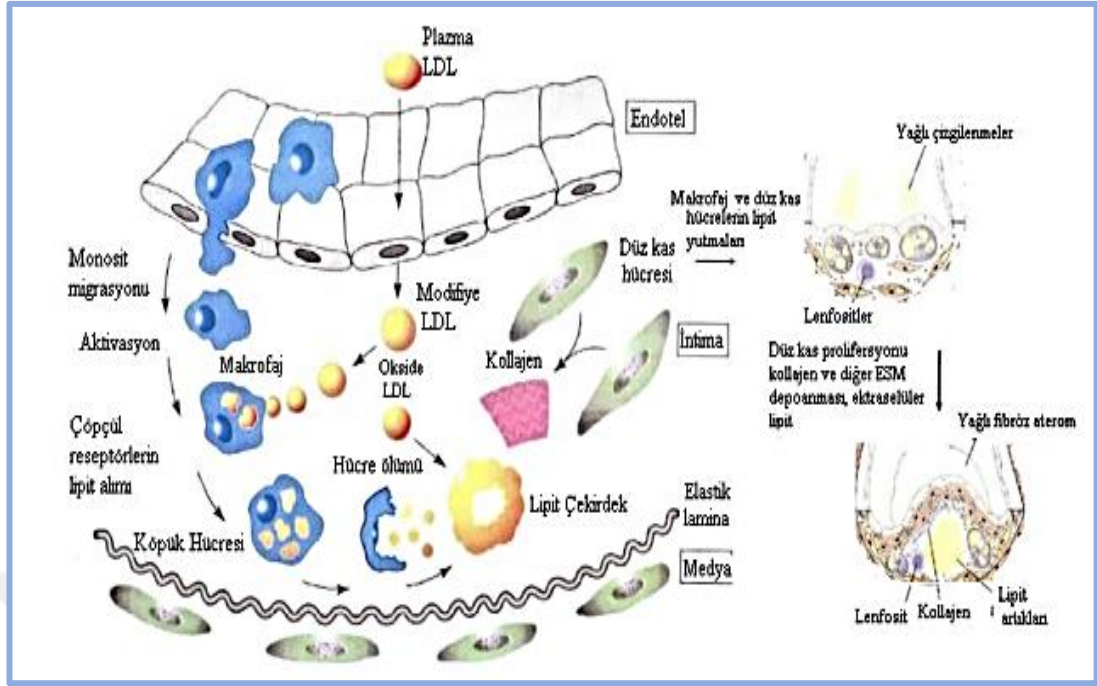
### 2.1.2. Plak Oluşumu

Geleneksel KVH risk faktörleri endotelin koruyucu fonksiyonunun bozulmasına neden olur (21). Bu risk faktörlerinin en önemlilerinden biri olan hiperkolesterolemi, lökositlerin sıkı adezyonuna dirençli olan endotel tabakasına kandaki lökositlerin bağlanmasına neden olur (23). Okside LDL endotel aktivasyonu ve nitrik oksit (NO)' in hücre içindeki oranını azaltarak biyolojik karakterinin değişmesini sağlar. Endoteldeki bu değişiklikler damar duvarında inflamasyona neden olarak aterosklerotik lezyonların oluşumu ve ilerlemesinde ilk basamağı oluşturur (24). Ateroskleroz için 3 evre tarif edilmiş olup bunlar; yağlı çizgilenme, fibröz plak ve komplike plak oluşumudur (25). Çalışmalar, intima tabakasındaki lipoprotein artışına bağlı gelişen yağ çizgilerinin aterosklerozun ilk bulgusu olduğunu göstermektedir (26).

Lipoproteinler; proteinler, fosfolipidler ve ayrıca kolesterol ve trigliserit gibi lipidlerden meydana gelir. En önemli aterojenik lipoproteinlerden biri olan LDL, kolesterol açısından zengindir. Plazmada yüksek miktardaki LDL-K, endotel yüzeyinde bulunan reseptörlerle etkileşerek hücre içerisine girer ve subintimal tabakalara taşınır. Mikrovasküler yapılar burada yetersiz olduğundan LDL eliminasyonu kısıtlıdır. Doku makrofajlarınca salınan oksijen radikallerinin burada biriken LDL-K'e saldırmasıyla modifiye lipidler oluşur (27). Bu lipidler, sinyal molekül işlevi de görmekte, böylelikle endotel hücrelerini aktive edip adezyon molekülleri [Vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM), İntersellüler adezyon molekülü (ICAM)] ve bazı sitokinlerin [Monosit kemotaktik protein (MCP), Makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF)] salınımına neden olur. Monositler, sitokinlerin uyarısıyla intimaya göç eder ve inflamasyonu başlatır. İntimaya geçen monositler, endotel hücreleri tarafından salınan M-CSF ile makrofajlara dönüşür. Bu basamak oldukça önemlidir. Yapılan bir çalışmada; M-CSF eksik farelerde hiperkolesterolemik de olsa veya genetik olarak ateroskleroza eğilimli de olsa ateroskleroz gelişmediği gösterilmiştir (28). Makrofajlar tarafından serbest radikaller oluşur ve bunun etkisiyle hücre dışı matrikste biriken LDL-K okside olur. Okside LDL makrofajlarca fagosite edilir, klasik "köpük hücresi" oluşur ve yağlı çizgilenme başlar (29, 30).

Yağlı çizgilenmeler çok sayıda lipid damlacıkları ile dolu makrofajların (köpük hücreleri), T hücreleri ve kolesterolün intimada birikmesiyle oluşurlar. Lipid damlacıkları spesifik bir temizleyici reseptör ailesi tarafından alınan okside olmuş veya toplanmış LDL'den kaynaklanan kolesterol esterlerinden oluşur. Yağlı çizgilenmeler kan akımını etkilemezler (31). Köpük hücresi haline gelen makrofajlar aktive olarak; IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinler, proteolitik enzimler ve doku faktörü salgılayarak trombojenik etkiler gösterir ve doku yıkımına neden olur. Risk faktörleri devam ettiği sürece bu enflamatuvar süreç devam eder ve sonuç olarak aterom plağı oluşur. Bu süreçte apoptoza uğrayan köpük hücrelerinden salınan kolesterol esterlerinin oluşturduğu lipidler hücre dışında da birikir. İntimanın bağ dokusunda kolesterol esterleri, apoptozis sonucu oluşan ürünler ve çevrelerini saran makrofajlar birikerek lipid çekirdeğini oluşturur. Ateroskleroz sürecindeki hücreler tarafından üretilen platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) medya tabakasından düz kas hücre göçüne neden olmakta, bu hücrelerin çoğalmasını uyararak düz kas hücre sayısını arttırmaktadır. Böylece aterom plağı ile endotelial yüzey arasında fibröz kılıf oluşur. Fibröz kılıfta dinamik bir süreç hakimdir. Düz kas hücreleri tarafından kollajen yapımı olurken bir taraftan da IL-1, TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerce aktive edilen makrofajlar tarafından salgılanan proteazlarca bağ dokusu yıkımı olur (32, 33).

Fibröz plaklarda lipidler hem köpük hücrelerinde hem de ekstraselüler matriks içerisinde bulunurlar. İntima, düz kas hücreleri ve ekstraselüler matriks proteinlerinin birikmesine bağlı olarak kalınlaşmıştır. Lipidler ve makrofajlar T lenfosit, bazen B lenfosit ve mast hücreleriyle beraber çekirdek kısmında bulunurken, düz kas hücreleri ve matriks subendotelial bölgede bulunarak diğer hücreleri saran fibröz bir şapka oluştururlar. İnce fibröz şapkası, lipid ve inflamatuvar hücrelerden zengin çekirdeği olan plakların yırtılma riski yüksektir. Komplike lezyonlar lipid, enflamatuvar hücreler ve fibröz dokuya ek olarak hematoma, kanama veya trombotik depozitler de içerirler. Koroner ateroskleroza bağlı morbidite ve mortalite esas olarak bu lezyonlara bağlıdır (Şekil 2), (34, 35).



Şekil 2. Ateroskleroz süreci (35)

### 2.1.3. Hiperlipidemi

Kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde ateroskleroz önemli rol oynar. Ateroskleroz, etkilenen organın kan akımının azalmasına, oksijen ve diğer besin maddelerinden yoksun kalmasına neden olarak dokuda iskemi ya da infarktüse yol açar. Damar duvarında lipid depolanması ile oluşan aterom plağı, aterosklerozdaki kan akımı azalmasının esas nedenidir.

Kan yağlarının oran ve düzeylerindeki patolojik yükseklik hiperlipidemi olarak adlandırılır. Plazmada yüksek oranda kolesterol, özellikle de LDL-K ve trigliserit (TG) bulunması yanı sıra, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K)'nin düşük olması aterosklerotik KVH için önemli risk faktörleridir (36). Lipidler basit veya kompleks halde plazmada lipoproteinlerin yapısında bulunurlar. Bunlar başlıca kolesterol, TG, serbest yağ asitleri ve fosfolipidlerdir. Plazmadaki kolesterolün üçte ikisi uzun zincirli yağ asitleriyle esterleşmiş, üçte biri esterleşmemiş halde bulunur. Kolesterol ve TG'ler gibi lipidler dolaşımında lipoproteinler vasıtasıyla dokulara taşınarak dokuların enerji kullanımı ve depolanması, steroid hormon üretimi ve safra asidi oluşumu için kullanılırlar.

Lipoproteinler, esterleşmiş ve esterleşmemiş kolesterol, trigliseritler, fosfolipidler ve apolipoproteinler (apo) olarak adlandırılan proteinlerden oluşur. Trigliserit taşıyan ana lipoproteinler şilomikron ve çok düşük yoğunluklu lipoproteindir (VLDL); başlıca kolesterol taşıyan lipoproteinler ise, LDL-K ve HDL-K'dır (37).

### 2.1.3.1. Lipoproteinler

Lipoprotein türleri, işlev, boyut, yoğunluk, nispi lipid içeriği ve tanımlayıcı apolipoproteinler gibi özelliklerle ayırt edilir (38). Son bileşenler, parçacıklara stabilite sağlar ve reseptörler için ligandlar ve işleme ve taşıyıcı moleküller için kofaktörler olarak hizmet ederler (38, 39). Major plazma lipoproteinlerinin yoğunluğuna göre dizilim sıraları şöyledir:

- 1. Şilomikronlar:** Postprandiyal plazmada bulunan şilomikronlar, lipoproteinlerin en büyük olanıdır. Diyetle yüksek düzeyde yağ alımı şilomikron yapımını artırır. Yüksek TG içerdiği nedeniyle çok büyük moleküller olup LDL-K gibi damar duvarından geçemezler, aterogeneze katkıda bulunmazlar. Şilomikron artıkları ise kısmen etkilidir.
- 2. Çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL):** Karaciğerde yüksek yağ asidi içeriği VLDL üretimi uyarılır. Karaciğere yağ asidi girişinin artması yüksek yağlı diyet veya çeşitli metabolik bozukluklarda ya da açlık nedeniyle yağ dokusundan yağ asidi salınımını takiben sentezleri artar. VLDL aynı zamanda de novo kolesterol sentezi ya da lipoprotein yıkımından gelen kolesterol moleküllerinin de paketlenip dolaşıma verildiği lipoproteindir.
- 3. Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL):** Total plazma kolesterolünün yaklaşık %70'ini taşır (40). VLDL'in metabolik yıkımı sonucu oluşur ve ekstrahepatik dokuların en önemli kolesterol kaynağıdır. Karaciğer yüksek afiniteli reseptörler aracılığıyla LDL'nin hemen hemen yarısını dolaşımdan alır ve aldığı kolesterolü membran biyosentezinde, VLDL biyosentezinde, safra asidi yapımında kullanabilir. Adrenal, ovaryum ve testisler LDL kolesterolünü hormon sentezinde, diğer dokular ise hücre onarımı ve proliferasyonunda kullanırlar. LDL glikozillenme ve

oksidasyon gibi çeşitli modifikasyonlara uğrayabilir ve bu modifiye olmuş LDL ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynar. Bu patogenezde üzerinde en çok çalışılan modifiye lipoprotein okside LDL'dir. Okside LDL sitotoksik etkisi ile vasküler endotelde hasara yol açabilir, T lenfositler ve monositler için kemotaktik etki gösterebilir, köpük hücre oluşumunu artırır (41, 42).

**4. Orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL):** Normal olarak plazmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur ve büyüklük ve içerik açısından VLDL ve LDL arasında yer alır. VLDL'nin katabolizma ürünü LDL'nin öncülüdür. Kolesterol ve TG'ce zengindir. Çok hızlı katabolize edilir. Aterojenik özellik gösterirler.

**5. Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL):** En küçük lipoprotein partikülleridir. HDL'nin %50'si lipid (%25 fosfolipid, %15 kolesterol esteri, % 5 serbest kolesterol, %5 trigliserid) ve % 50'si proteinden oluşur. HDL karaciğer ve barsak hücreleri tarafından sentezlenir. Dokulardaki fazla kolesterolü karaciğere taşıması (ters kolesterol taşınımı) nedeniyle antiaterojenik özellik gösterir.

Hiperlipidemi aynı zamanda kardiyomiyositlerde peroksit birikimi, lipid yüksekliği, vücudun antioksidan kapasitesinin azalması ve inflamatuvar yanıtın oluşmasına neden olur. Ayrıca, kardiyomiyositlerde mitokondrilerin yapı ve işlevinde değişikliklere neden olarak bunların hasarlanması ve nekrozuna neden olur. Daha önceki çalışmalar, metabolik hastalıkların (örn. obezite ve diyabet) hiperlipidemik miyokard hasarı ve nekrozuna neden olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu patolojik sürecin birçok küçük moleküler madde tarafından engellenebildiği gözlemlenmiştir. Miyokardiyal hasar; TG ve kolesterol seviyelerini düşürerek önlenabilir veya azaltılabilir (43).

Şimdiye kadar serum lipitleri ile ASKVH riski arasında ilişki olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Yüksek LDL-K düzeyi ile KVH riski arasında güçlü bir ilişki vardır. Ayrıca düşük HDL-K düzeyi de KVH riski açısından bağımsız bir risk faktörüdür. Serum lipit düzeylerinin eşik değerlere göre sınıflaması aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 1) (44).

**Tablo 1.** Serum lipitlerinin sınıflandırılması (44)

	<b>Optimal</b>	<b>Sınırdan yüksek</b>	<b>Yüksek</b>
<b>Total-K (mg/dL)</b>	<200	200-239	>240
<b>LDL-K (mg/dL)</b>	<100 <70*	130-159	>160 ≥190**
<b>HDL-K (mg/dL)</b>	>60	Erkek 40-59 Kadın 50-59	Erkek <40 Kadın <50
<b>Trigliserid</b>	<150	150-499 (Hafif HTG)	500-1000 (Orta HTG) ≥1000 (Şiddetli HTG)
<b>Apo B (mg/dL)</b>	<90 <80*		

\*ASKVH veya risk eşdeğeri durumlar için, \*\*Çok yüksek, HTG: Hipertrigliseridemi

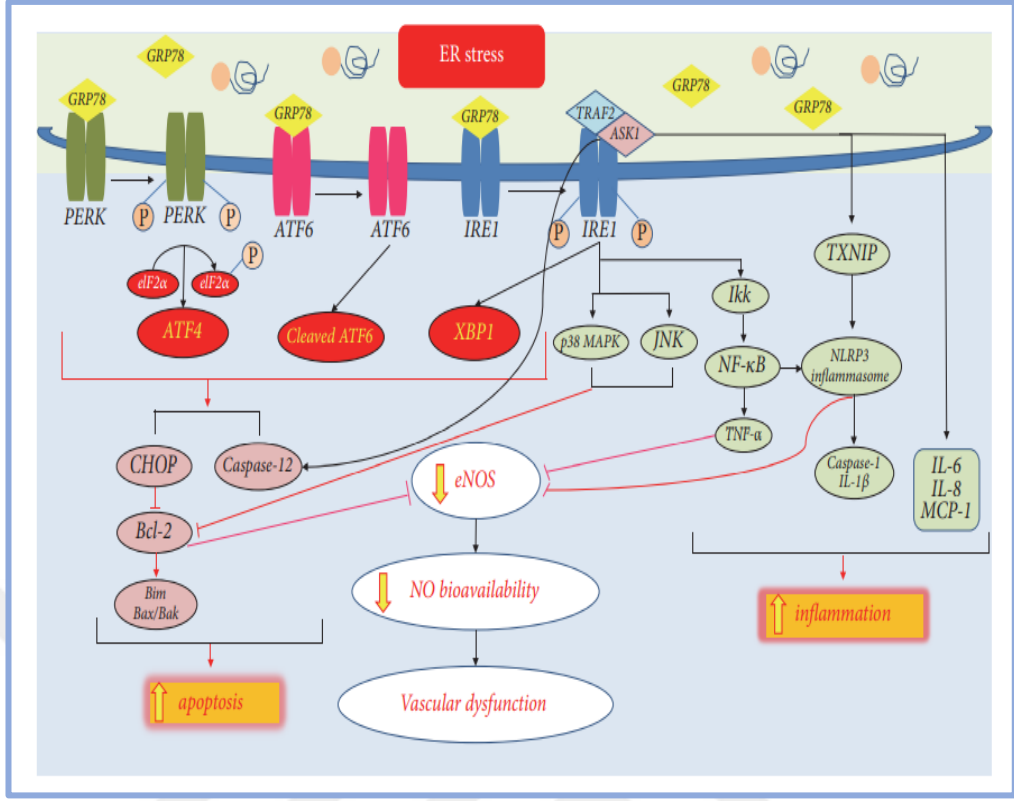
## 2.2. Endoplazmik Retikulum Stresinin Ateroskleroza Etkisi

Endoplazmik retikulum, hücresel fonksiyon ve metabolik adaptasyon için önemli bir organdır. Bu nedenle ERS olarak bilinen bozulmuş ER fonksiyonu, metabolik bozuklukların temel bir özelliğidir (45). Endoplazmik retikulum, membran ve organellere yönlendirilecek proteinlerin sentezlendiği, 3 boyutlu katlanmalarının gerçekleştiği ve posttranslasyonel modifikasyonlarının sağlandığı, hücre içi kalsiyum depolanması, fosfolipid ve sterollerin biyosentezinin gerçekleştiği önemli bir organdır (46). Yanlış protein katlanmasının düzeltilmesi, düzeltilemezse yanlış katlanan proteinlerin yıkıma gönderilmesi ER'nin görevleridir (47). Endoplazmik retikulumda proteinlerin doğru katlanmasına yardımcı olan şaperon adı verilen moleküller bulunmaktadır. Protein katlanmasına yardımcı olan bu şaperonlar aynı zamanda iyi birer kalsiyum tamponlayıcı proteinlerdir ve aktiviteleri için de kalsiyuma ihtiyaç duymaktadırlar (48). Glukoz düzenleyici protein 78 (GRP78/BiP) ve glukoz düzenleyici protein 94 (GRP94), ER'de protein katlanması ve transportunda rolü olan kalsiyum bağımlı şaperonlardır. Endoplazmik retikulumun hücresel strese karşı hızlı bir şekilde yanıt oluşturma özelliği, hücrede homeostazın devamı için önemlidir. Endoplazmik retikulum işlev kapasitesini aşan fizyolojik veya patolojik durumlarda, ER lümeninde katlanmamış ya da yanlış katlanmış protein birikimi olur, bu durum ERS olarak adlandırılır (4,49). Endoplazmik retikulum stresi hücre içerisinde oluştuğundan sonra hücrenin hayati fonksiyonlarını devam ettirebilmek için katlanmamış protein cevabı (UPR) adı verilen sinyal yolları devreye

girmektedir. Katlanmamış protein cevabı, üç adet ER transmembran reseptör proteini aracılığıyla gerçekleşir. Bunlar: inositol bağımlı kinaz 1 (IRE1)], çift sarmal RNA-aktivasyonlu protein kinaz benzeri ER kinaz (PERK) ve aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6)'dır (4). Katlanmamış protein cevabı aktivasyonu sonucunda, hatalı katlanmış proteinlerin yığılmasını engellemek için protein sentezi ile ilgili genlerin ekspresyonlarının baskılanması, şaperon genlerin transkripsiyonlarının arttırılarak katlanma kapasitesinin artması, yanlış katlanmış proteinlerin sitoplazmaya dönüşünü sağlayarak degradasyonun [Endoplasmic-reticulum associated protein degradation (ERAD)] arttırılması ve uzun süreli stres durumunda otofaji ya da apoptotik ölüm yolunun aktivasyonu gibi durumlara neden olmaktadır. Endoplazmik retikulum stresi ERAD mekanizmasıyla düzeltilemeyecek düzeyde ise, hücrede ERS engelleyebilmek ve tekrar ER homeostazisini oluşturmak için UPR olarak adlandırılan yolağın aktif hale geçirilmesi gerekmektedir (50). Endoplazmik retikulum stresinde UPR sensörü olan IRE1, bir N-terminal luminal sensör alanı, bir transmembran alanı ve C-terminal sitozolik efektör alanından oluşur. IRE1 $\alpha$ 'nın aktivasyonu, GRP78/BiP'den ayrılmasına neden olur ve böylece doğrudan katlanmamış proteinlerle etkileşir (50, 51). IRE1 $\alpha$  aktif duruma geçtiğinde, ERS sinyali sitoplazmaya iletilir ve çeşitli sinyal yolları aktive olur. IRE1 $\alpha$ , X-box bağlayıcı protein 1 (XBP1) mRNA'sının kesilmesine ve XBP1 protein ekspresyonuna neden olur. XBP1, ER'de protein sentezlenmesi ve katlanması, ERAD, otofaji, redoks metabolizması, glikozilasyon, lipid biyogenezi ve veziküler trafik ile ilgili genleri düzenleyen güçlü bir transaktivatördür. IRE1 $\alpha$  ayrıca, TNF reseptör- bağlantılı faktör 2 (TRAF2) üzerinden c-Jun N terminal JNK aktivasyonu hücre ölümünde rol oynar. IRE1 $\alpha$ , JNK yolunu aktive ederek hücrede apoptozisi başlatabilir. Aynı zamanda C/EBP homologous protein (CHOP) aktivasyonunu da sağlayarak diğer yoldan apoptozisi teşvik etmektedir (51). Endoplazmik retikulum stresi ile ilişkili apoptozisin gelişiminde transkripsiyonel olarak düzenleyici protein CHOP, fizyolojik koşullarda ya sentezlenmez ya da düşük düzeyde sentez edilir. Fakat ERS'ye cevap olarak, transkripsiyon düzeyinde güçlü bir şekilde uyarılır (52). CHOP'un aşırı uyarılması büyümede duraklamaya ve apoptozise neden olur. Endoplazmik retikulum stresinin kronik olarak devam ettiği durumlarda, hücresel işlev kaybı ve daha sonra hücre ölümü meydana gelir. IRE1 yolağı, hücrenin

yaşaması veya ölümüne karar verilme aşamasında anahtar rol oynar. IRE1 $\alpha$ , p38 mitojen aktivasyonlu protein kinaz (MAPK) transkripsiyon faktörü CHOP'u fosforilleyerek aktive eder. CHOP aktivasyonu gen ekspresyonunu apoptoz lehine değiştirir. Endoplazmik retikulum stresi durumunda IRE1 $\alpha$ 'nın en önemli özelliği, GRP78/BiP ve CHOP gibi hedef genleri aktive etmesidir (52, 53). Ayrıca ERS'ye bağlı apoptozda önemli bir diğer molekül olan Kaspaz-12, ERS'nin spesifik bir apoptotik üyesidir. Endoplazmik retikulum stresinin neden olduğu apoptoz kaskadı sırasında, Kaspaz-12'nin aktivasyonu sitoplazmik Kaspaz-3'ün aktivasyonunu tetikler ve son olarak hücrel apoptozun tetiklenmesine neden olur (54).

Endoplazmik retikulum stresinin KVVH'lerle ilişkisi ve rolü hücre kültürü, hayvan modelleri ve farklı dokularda araştırma konusu olmuştur. Çalışmalarda göre bu patolojik stresin, yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine ve ER homeostazının bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (8,9,55). Endoplazmik retikulum stresi, KVVH gelişimiyle yüksek oranda ilişkilidir. Proteinin yanlış katlanması veya protein salgılanmasındaki artış nedeniyle ER fonksiyonundaki bozulma ile ERS tetiklenir. ER'nin uzun süreli bozulması, ERS'ne ve UPR aktivasyonuna neden olur ve çeşitli hastalıklara yol açar. Endoplazmik retikulum stresinin kronik aktivasyonu, apoptoz, inflamasyon ve oksidatif stres sinyal yolları yoluyla endotel hücrelerinde (EC) hasara neden olur. Endoplazmik retikulum stresinin hafifletilmesi, son zamanlarda kalp yetmezliği, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi KVVH'yi tedavi etmek için potansiyel bir terapötik hedef olarak kabul edilmiştir (56) (Şekil 3). Endoplazmik retikulum stresi ile ilişkili hücrel proteinlerin hatalı katlanmalarının neden olduğu hastalıklar topluca 'yapısal hastalıklar' veya 'katlanma hastalıkları' olarak adlandırılır. Endoplazmik retikulum stresinde protein katlanmasındaki defektler ve UPR ile ilişkili birçok hastalık bulunmaktadır (Şekil 4), (57-58).

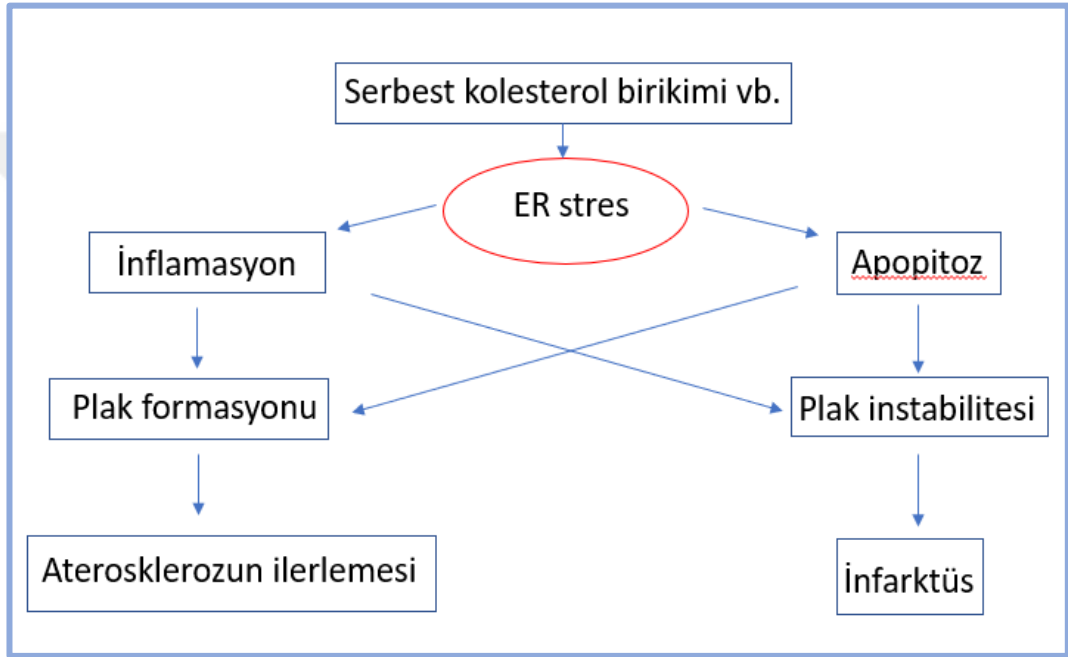


Şekil 3. Kardiyovasküler hastalıkta endoplazmik retikulum stresi aracılı apoptoz ve inflamasyon (56)



Şekil 4. Endoplazmik retikulum stresinin patogenezine aracılık ettiği hastalıklar (57)

Thorp ve ark. ateroskleroz ilerlemesinin, CHOP içermeyen farelerde iki farklı ileri ateroskleroz modelinde baskılandığını bildirmiştir (59). Bu sonuçlar, ERS-CHOP yolağının, yüksek düzeyde hücre içi kolesterol, yağ asitleri, oksidatif stres ve NO tarafından indüklenen arter duvarının spesifik bir kronik inflamasyonu türü olan aterosklerojezde önemli roller oynadığını göstermektedir. Endoplazmik retikulum zarında serbest kolesterol birikiminin, aterosklerotik lezyonda ERS yanıt yolunun aktivasyonunun ana nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (60-62), (Şekil 5).



Şekil 5: Endoplazmik retikulum stresi yanıtının ateroskleroza katılımı (62)

### 2.3. Sistemik Koroner Risk Değerlendirmesi 2 (SCORE2)

Kardiyovasküler hastalıklar (KAH, serebrovasküler hastalıklar ve periferik arter hastalığı) dünyada en yaygın mortalite nedenidir (63, 64). Kardiyovasküler hastalıkları önlemede, toplam KV riskin belirlenmesi önerilmektedir (10). Kardiyovasküler risk tahmininde uzun yıllardır Framingham, SCORE, Reynold Risk Score, Globorisk, ASSIGN, Q Risk, PROCAM, CUORE gibi birçok risk hesaplama modelleri kullanılmıştır (Tablo 2) (65, 66). Kardiyovasküler risk tahmininde kullanılan algoritmalar sürekli güncellenmekte, eksiklikler giderilmekte ve risk tahminini öngördürecek yeni parametreler eklenmektedir.

**Tablo 2.** Kardiyovasküler hastalık risk hesaplama sistemleri (65)

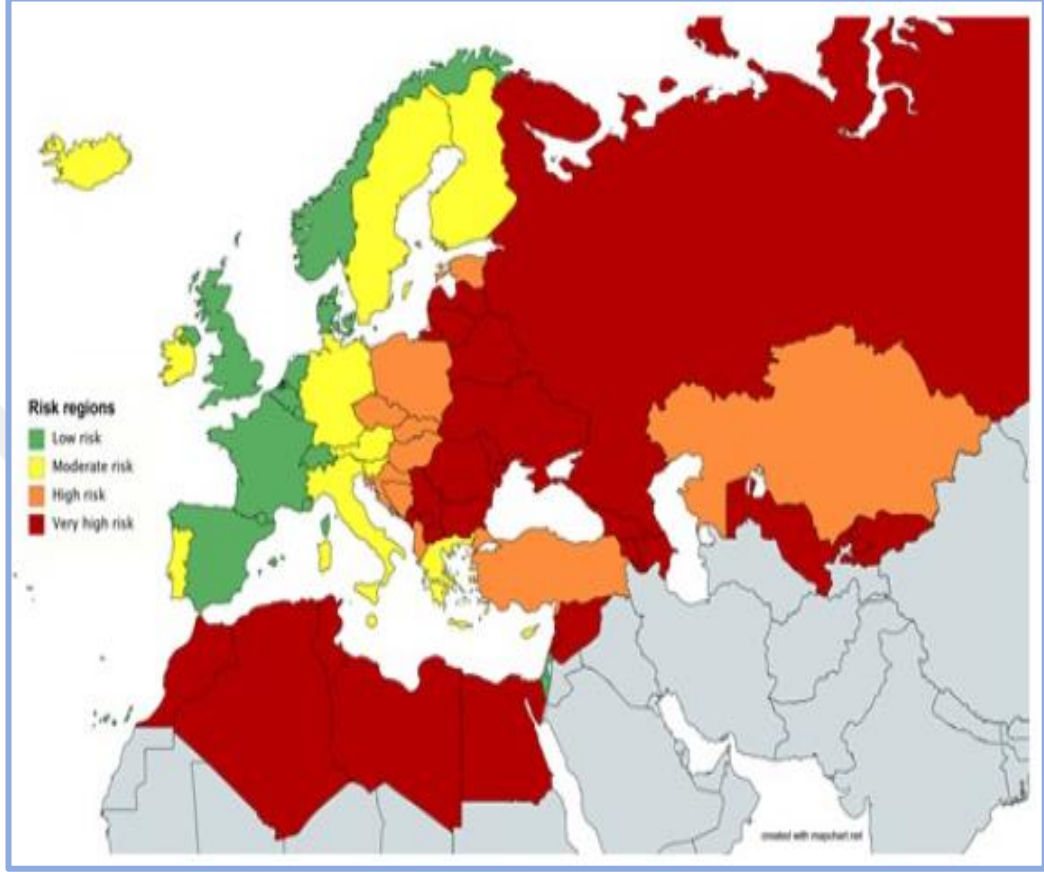
Sistem	Risk	Değişkenler
Framingham modeli (66)	10 yıllık KVO riski	Cinsiyet, yaş, Total-K, HDL-K, Sistolik kan basıncı, sigara, DM, HT tedavisi
SCORE (67)	10 yıllık KVH ölüm riski	Cinsiyet, yaş, Total-K veya TK/HDL-K, Sistolik kan basıncı, sigara
ASSIGN (68)	10 yıllık KVO riski	Cinsiyet, yaş, Total-K, HDL-K, Sistolik kan basıncı, sigara (sayı), DM, alan bazlı yoksunluk indeksi, aile hikayesi
QRISK2 (69)	10 yıllık KVO riski	Cinsiyet, yaş, Total-K/HDL-K, Sistolik kan basıncı, sigara, DM, alan bazlı yoksunluk indeksi, aile hikayesi, BKI, antihipertansif tedavi, etnik köken, RA, KBH evre 4-5, AF
Reynolds Risk Score (70, 71)	10 yıllık MI, inme, koroner revaskülarizasyon veya kardiyovasküler ölüm	Cinsiyet, yaş, Total-K, HDL-K, Sistolik kan basıncı, hsCRP, sigara, ailede erken MI hikayesi (<60 yaş), DM varsa HbA1c
Globorisk (72)	10 yıllık KVH ölüm riski	Cinsiyet, yaş, Total-K, Sistolik kan basıncı, sigara, DM

AF; Atriyal Fibrilasyon, BKI; Beden Kitle İndeksi, DM; Diabetes Mellitus, HDL-K; HDL Kolesterol, hsCRP; Yüksek duyarlıklı CRP, HT: Hipertansiyon, KBH; Kronik Böbrek Hastalığı, MI; Miyokard İnfarktüsü, RA; Romatoid Artrit, Total-K; Total Kolesterol

Avrupa Kardiyoloji Birliği (ESC), SCORE modeli olarak bilinen risk tahmin algoritmasını hazırlamıştır (67). 2021 yılında, SCORE revize edilmiş ve eksik yönleri giderilerek SCORE2 olarak güncellenmiştir.

SCORE2, sağlıklı bilinen 40-69 yaş grubunda kullanılır. Amaç, fatal veya non-fatal 10 yıllık kalp-damar hastalığı olasılığını tespit etmek, KVH'ı önlemek ve koruyucu faaliyetlerde bulunmak için riskli bireyleri belirlemektir (11). SCORE2, SCORE'un yalnızca KVH mortalitesini kullanmasının aksine fatal veya non-fatal KVH olaylarının birleşik sonucu için risk tahminleri sağlar. SCORE2 onlarca Avrupa ülkesinde 12,5 milyondan fazla kişinin verileri kullanılarak geliştirilmiştir ve mevcut en güncel ve temsili KVH oranları kullanılarak sistematik olarak yeniden kalibre edilmiştir. Oysa orijinal SCORE modeli 1986'dan önce toplanan verilere dayanmaktadır. SCORE2'nin SCORE'dan bir farkı da risk tahmininde total kolesterol yerine tüm aterosklerik lipidleri kapsayan, daha değerli non-HDL-K düzeyinin kullanılmasıdır (11). SCORE2 özellikle genç bireylerde toplam KVH yükünü daha iyi tahmin etmektedir. Ayrıca SCORE2 ülkelerin risk seviyelerini dört kategoriye ayırırken, SCORE iki seviyeli bölgesel sınıflamayı kullanmıştır (düşük ve

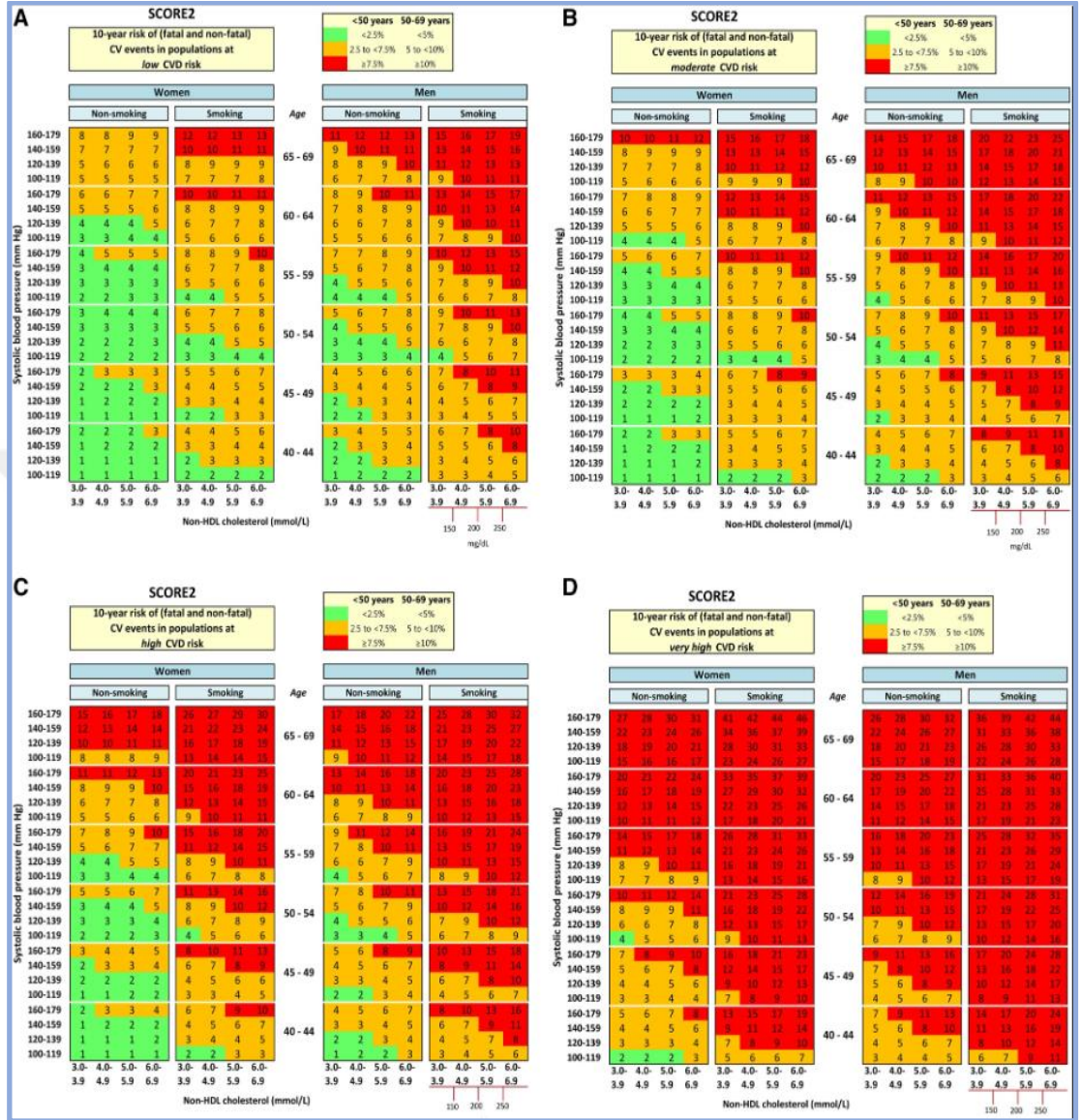
yüksek risk) (67). Bu nedenlerle SCORE2, KVH gelişme riski daha yüksek olan bireyleri tahmin etmede en güncel ve geçerli algoritma olarak görülmektedir.



**Şekil 6:** Standartlaştırılmış kardiyovasküler hastalık ölüm oranlarına dayalı risk bölgeleri. Ülkeler, en son bildirilen DSÖ yaş ve cinsiyete göre standardize edilmiş 100.000 nüfus başına genel KVH ölüm oranlarına göre dört risk bölgesine ayrılmıştır (Düşük, orta, yüksek ve çok yüksek risk) (11)

SCORE2’de ülkeler, en son bildirilen DSÖ yaş ve cinsiyete göre standardize edilmiş 100.000 nüfus başına genel KVH ölüm oranlarına göre dört risk bölgesine ayrılmıştır. Dört risk bölgesi: düşük riskli (100.000’de <100 KVH nedenli ölüm), orta riskli (100.000’de 100 ile <150 KVH ölüm), yüksek riskli (100.000’de 150 ile <300 KVH ölümü) ve çok yüksek riskli (100.000’de  $\geq 300$  KVH nedenli ölüm) idi (11) (Şekil 6). İlgili ülke hangi risk grubunda ise o grubun risk tablosu kullanılmalıdır. Türkiye yüksek risk grubunda olup, Tablo C kullanılmalıdır (Tablo 3).

**Tablo 3.** Dört Avrupa risk bölgesinde kardiyovasküler hastalık riskinin tahmini için SCORE2 tablosu (11)



A: Düşük riskli, B: Orta riskli, C: Yüksek riskli, D: Çok yüksek riskli

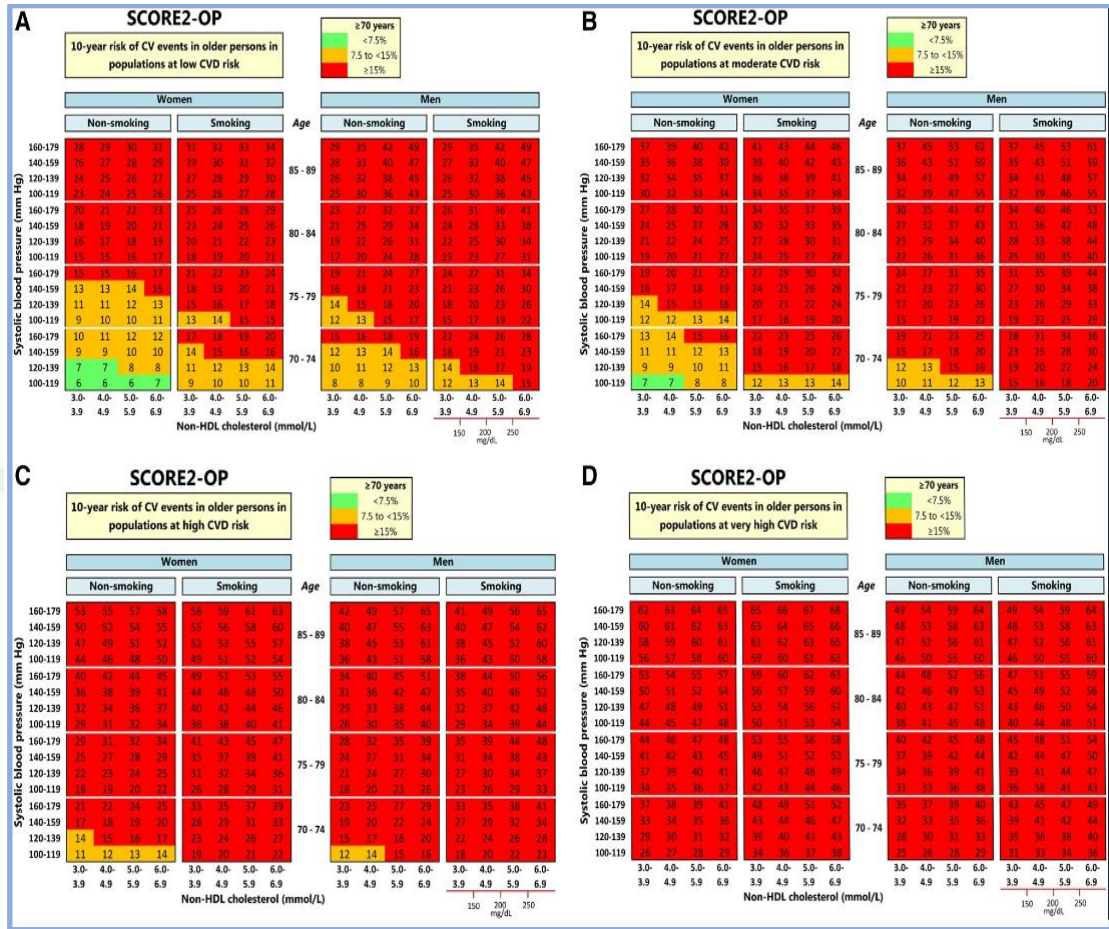
SCORE2 risk tablosu kullanımında yer alan parametreler:

- Yaş
- Sistolik kan basıncı
- Non-HDL-kolesterol (Total kolesterolden HDL-kolesterol değerinin çıkarılması ile belirlenir) (mmol/L)
- Cinsiyet
- Sigara kullanımı

### 2.3.1. SCORE2-OP (SCORE2-Older Persons)

Kardiyovasküler hastalık riski yaşla birlikte artar (73). Aynı zamanda KVH dışı mortalite riski de yaşla birlikte artış gösterir. Kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinin tedavisi, bu popülasyonda fayda ve riskleri dengelemek için dikkatli değerlendirilmelidir (74, 75). Yaşlılarda advers ilaç olayları ve yan etkilerin gelişme riski yüksektir (76, 77). Bu nedenle koruyucu tedaviden yararlanabilecek kişileri belirlemek önemlidir. Bu amaçla, daha yüksek KVH riski taşıyanları ve potansiyel olarak risk faktörü tedavisinden en fazla yararlananları belirlemek için risk tahmin modelleri kullanılmalıdır (78). 10 yıllık KVH risk tahmin modellerinin çoğu, genellikle birkaç nedenden dolayı yaşlı bireylerde düşük bir performansa sahiptir (79). Bu durum da yaşlı kişilerde gereksiz tedaviye, polifarmasiye, artan ilaç etkileşim riskine, yan etkilere, düşük yaşam kalitesine ve gereksiz maliyetlere yol açabilir (80). Geleneksel risk modellerinin eksikliklerinin üstesinden gelmek için yaşlı kişiye özgü bir risk puanı kullanılmalıdır. Bu nedenle 2021 yılında ESC tarafından 70 yaş üstü bireyler için riske göre ayarlanmış SCORE2-OP skalası geliştirilmiştir. Yine bu skalada 10 yıllık KVH olay risk tahmini için önceden KVH'ı olmayan 70 yaş üstü bireylerin risk skorlaması açısından skalalar oluşturulmuştur. Bu risk modeli, gelecekte değişen KVH epidemiyolojisi ile risk tahminlerinin doğruluğunu daha da güncellemek için kolayca uygulanabilen toplu düzey verilerine dayalı bir yaklaşım kullanılarak dört farklı coğrafi risk bölgesine göre kalibre edilmiştir (Tablo 4), (81).

**Tablo 4.** 70 yaş üstü bireyler için öngörülen 10 yıllık kardiyovasküler hastalık riskinin bölgesel risk çizelgeleri (81)



A: Düşük riskli, B: Orta riskli, C: Yüksek riskli, D: Çok yüksek riskli

## 2.4. Metabolik Sendrom

İlk kez 1988 yılında Reaven tarafından tanımlanan metabolik sendrom (MetS); temelinde insülin direncinin yer aldığı ve hiperinsülinemi, bozulmuş glukoz toleransı, dislipidemi ve hipertansiyonu da içeren bir tablo olarak tanımlanmıştır (82).

Dünya genelinde obezitenin de yaygınlaşmasıyla beraber bir hastalıklar grubu olan MetS yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Metabolik sendrom, eşlik eden Tip 2 diyabet olmasa bile KVH için bir risk faktörüdür. Cinsiyet, yaş ve topluma göre değişen tanı kriterleriyle prevalansı önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde MetS prevalansı 2005 yılı verilerine

göre % 40.1 olarak saptanmıştır. Ülkemizde yapılan TEKHARF çalışmasında MetS sıklığı erkeklerde %27, kadınlarda %38.6 bulunmuştur (83, 84). Yine TEKHARF 2009-2011 verilerine göre, MetS sıklığı geride kalan on yıl içerisinde önemli ölçüde artmaya devam etmiştir: 40 yaş ve üzeri nüfusta erkekte %49.8, kadında %54.5 olarak belirlenmiştir (85). Metabolik sendromun etyopatogenezi belirsizdir. Genetik faktörler, sedanter yaşam, diyet alışkanlıkları gibi durumların MetS oluşumunu tetiklediği düşünülmektedir (83).

Metabolik sendrom günümüzde sık görülmekte ve yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. MetS'a abdominal obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet, bozulmuş glukoz toleransı, hipertansiyon, dislipidemi ve kalp-damar hastalıkları gibi sistemik bozukluklar eşlik edebilir. Yüksek kan şekeri, yüksek serum TG seviyeleri, düşük HDL-K düzeyleri, abdominal obezite ve yüksek kan basıncı gibi metabolik dengesizlikler MetS için risk faktörleridir (86, 87). Bunun yanında ileri yaş, genetik, menopozal dönem, sigara kullanımı, düşük gelir düzeyine sahip olmak, yüksek karbonhidratlı beslenme alışkanlığı, fiziksel inaktivite de diğer risk faktörleridir (88).

Metabolik sendrom tanısı aşağıdaki beş kriterden en az üçünün bulunması ile konulmaktadır (88-90). Bu kriterler bel çevresi (BÇ)'de artış, kan basıncı yüksekliği ya da hipertansiyon tedavisi almak, açlık kan şekeri (AKŞ) ve TG yüksekliği ve HDL-K düşüklüğüdür (Tablo 5).

**Tablo 5:** NCEP-ATP3 Metabolik sendrom kriterleri (88-90)

Parametre	Kriterler
Abdominal obezite	Bel çevresinin erkeklerde $\geq 102$ cm, kadınlarda $\geq 88$ cm olması*
TG	$\geq 150$ mg/dl ya da TG yüksekliği için farmakolojik tedavi alıyor olması
HDL kolesterol	Kadında $< 50$ mg/dl, erkekte $< 40$ mg/dl ya da düşük HDL nedeniyle farmakolojik tedavi alıyor olması
Kan basıncı	$\geq 130/85$ mmHg olması ya da anti-hipertansif tedavi alıyor olması
Açlık kan şekeri	$\geq 100$ mg/dl ya da kan şekeri yüksekliği için tedavi alıyor olması

### 3. MATERYAL ve METOT

#### Hasta ve Sağlıklı Kişilerin Belirlenmesi

Tez çalışmamıza KAH olmayan 40-75 yaşları arasında 75 [KAH(-)] ve KAH olan 13 hasta [KAH(+)] olmak üzere 88 hasta dahil edildi. KAH(-) hastalar kliniğimizde yeni dislipidemi tanısı alan ve henüz statin tedavisi başlanmamış 46 hiperkolesterolemik hasta ve bu grupta cins ve yaş eşdeğer 29 sağlıklı kontrol grubundan (normokolesterolemik grup) oluştu. Koroner arter hastalığı koroner anjiyografide herhangi bir epikardiyal arterde >%50 darlık olması şeklinde tanımlandı.

Endoplazmik retikulum stres durumunu değerlendirmek amacıyla dolaşımdaki glukoz düzenleyici protein 78 (GRP78/BiP), inositol bağımlı kinaz 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ), C/EBP homolog protein (CHOP), Kaspaz-3 düzeyleri ölçülmüştür.

Tüm hastaların yaş, cinsiyet, boy, kilo, bel ve kalça ölçümleri, kan basıncı düzeyleri, sigara kullanımı, fiziksel aktivite durumu, düzenli kullandığı ilaçlar, ek hastalıkları, aile öyküsü verileri yüz yüze görüşmelerde kaydedildi.

Tüm hastalarda öykü ve laboratuvar sonuçları sonrası SCORE2 ve SCORE2-OP tabloları kullanılarak KVH risk durumu belirlendi. Bireyler risk skorlarına göre düşük, orta ve yüksek riskli olarak ayrıldı. Bu çalışmada hiperkolesterolemide ve KAH(+) ve KAH(-) bireylerde, ERS parametrelerinin incelenmesi ve aynı zamanda bunların SCORE2 ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

#### Dahil edilme kriterleri:

**Hiperkolesterolemik grup:** Total kolesterol >200 mg/dL ve LDL-K>130 mg/dL olan, 40-69 yaşları arasında sağlıklı bireylerden oluşacaktır.

**Sağlıklı kontrol grubu:** Total kolesterol <200 mg/dL ve LDL-K<130 mg/dL olan, 40-69 yaşları arasında sağlıklı bireylerden oluşacaktır.

#### Hasta ve sağlıklı kontrol grubu için dışlama kriterleri:

- Gebelik
- Diyabetes mellitus
- Metabolik sendrom
- Akut-kronik böbrek hastalığı
- Akut-kronik karaciğer hastalığı

- Diğer endokrin ve metabolik bozukluklar
- Kanser
- Sindirim-emilim bozukluęu
- Alkol kullanımı
- Lipid düzeyini etkileyebilecek ilaç kullanımı
- Endoplazmik retikulum stresi etkileyebilecek ilaç (beta blokerler ve statin) kullanımı (91, 92)

### **Biyokimyasal Parametreler**

Hastaların serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kan üre azotu (BUN), kreatinin, C-reaktif protein (CRP), glukoz, insülin, lipid [TG, total kolesterol (TK)] ve lipoprotein (HDL-K, LDL-K) düzeyleri rutin biyokimya laboratuvarı sonuçlarından alınacaktır. Sağlıklı kontrol grubunda bu parametreler biyokimya laboratuvarında ölçülecektir.

Serum GRP78/BiP, IRE1 $\alpha$ , CHOP, Kaspaz-3, IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi ile Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında ölçülecektir.

### **Kan Örneklerinin Eldesi**

Çalışmaya katılan bireylerden 12 saatlik açlık dönemini takiben seperatör jelli biyokimya tüplerine ve etilen daimin tetra asetik asit içeren antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek pıhtılaşmaları sağlandı. Sonrasında tüpler 1800 $\times$ g'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası serum ve plazma örnekleri dikkatlice 1.5 mL'lik kapaklı tüplere aktarıldı ve çalışılincaya kadar -80 $^{\circ}$ C'de saklandı.

### **Glukoz, İnsülin, Lipid, CRP, ALT, AST, BUN, Kreatinin Deęerlerinin Ölçümü**

Parametrelerin ölçümü KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda yapıldı. Glukoz, TG, TK, HDL-K, LDL-K, CRP, ALT, AST, BUN ve kreatinin düzeyleri Beckman Coulter marka AU5800 (Shizuoka, Japonya) model otoanalizörde ölçüldü. Glukoz ölçümü heksokinaz (enzimatik UV test), TG ölçümü lipaz/gliserol kinaz (enzimatik kolorimetrik), TK ölçümü kolesterol oksidaz (enzimatik kolorimetrik), HDL-K ölçümü immünolojik/direkt (enzimatik kolorimetrik), LDL-K ölçümü koruyucu reaktif/direkt (enzimatik kolorimetrik)

yöntemi, CRP ölçümü immünotürbidimetrik yöntemi, ALT, AST ve BUN ölçümleri kinetik UV yöntemi ve kreatinin ölçümü kinetik kolorimetrik (Jaffé) yöntemi kullanılarak belirlendi. İnsülin düzeyleri kemilüminesans immunassay yöntemi kullanılarak Siemens marka Immulite 2000 XPi model otoanalizörde ölçüldü. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü günlük kalite kontrol işlemleri uygulandıktan sonra gerçekleştirildi ve bu ölçümlerde cihazların orijinal kitleri kullanıldı.

### **İnsan Glukoz Düzenleyici Protein 78 Düzeylerinin Belirlenmesi**

İnsan serumlarında glukoz düzenleyici protein 78 (GRP78) seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kiti (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E3624Hu, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi.

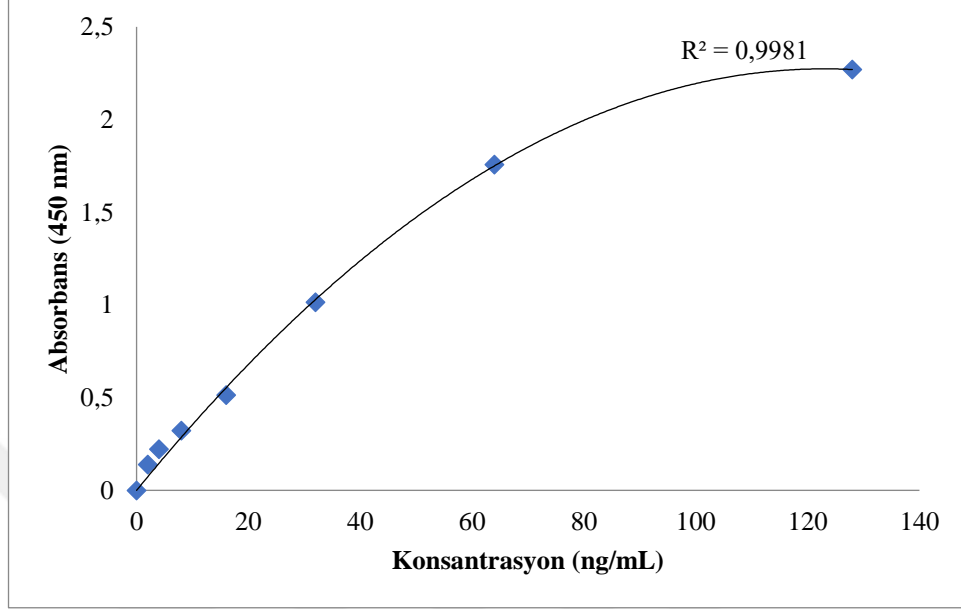
### **Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması**

- -80 °C'deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- GRP78 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 40 µL numune ilave edildi ve sadece numune kuyucuklarına 10 µL anti-GRP78 antikor eklendi.
- Daha sonra kör kuyucuğu hariç her bir kuyucuğa 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, önce içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı.

### **Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm**

- Renklendirme için her bir kuyucuğa önce 50 µL Substrat çözeltisi A eklendi. Ardından bütün kuyucuklara Substrat çözeltisi B ilave edildi. 37°C'de karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbanları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda

ölçüldü. Standart grafiği (Şekil 7) kullanılarak serum GRP78 konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.



Şekil 7. GRP78 standart grafiği

### İnsan İnositol Bağımlı Kinaz 1- $\alpha$ Düzeylerinin Belirlenmesi

İnsan serumlarında inositol bağımlı kinaz 1- $\alpha$  (IRE1- $\alpha$ ), seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E4839Hu, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi.

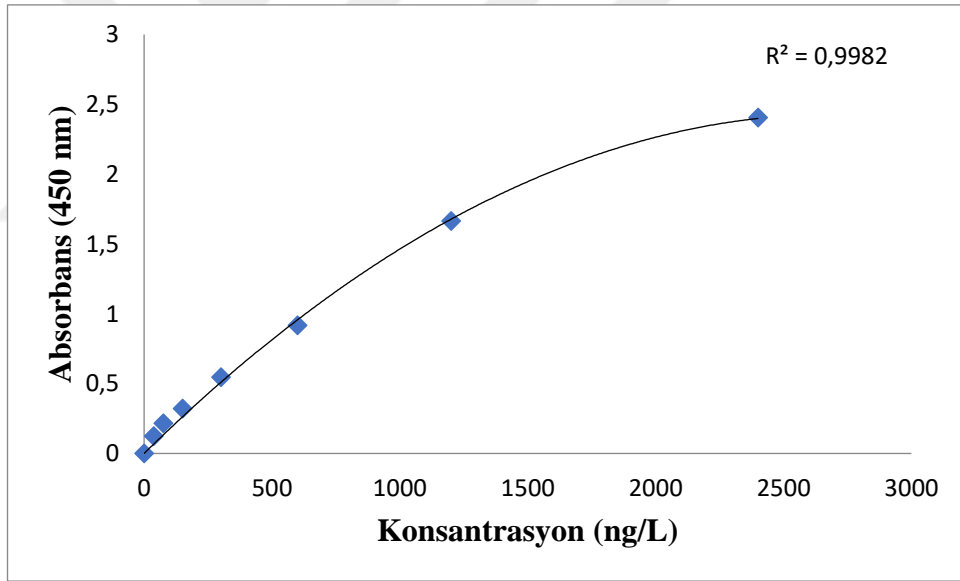
#### Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- -80 °C'deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- IRE1- $\alpha$  standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 50  $\mu$ L olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 40  $\mu$ L numune ilave edildi ve sadece numune kuyucuklarına 10  $\mu$ L anti- IRE1- $\alpha$  antikor eklendi.
- Daha sonra kör kuyucuğu hariç her bir kuyucuğa 50  $\mu$ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon sonrasında pleyt, önce içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı.

#### Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Renklendirme için her bir kuyucuğa önce 50 µL Substrat çözeltisi A eklendi. Ardından bütün kuyucuklara Substrat çözeltisi B ilave edildi. 37°C’de karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart grafiği (Şekil 8) kullanılarak serum IRE1-α konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar ng/L cinsinden verildi.



Şekil 8. IRE1-α standart grafiği

#### İnsan C/-EBP Homolog Protein (CHOP)/ DDIT3 (DNA Hasar-indüklenebilir Transkript 3 Protein) Düzeylerinin Belirlenmesi

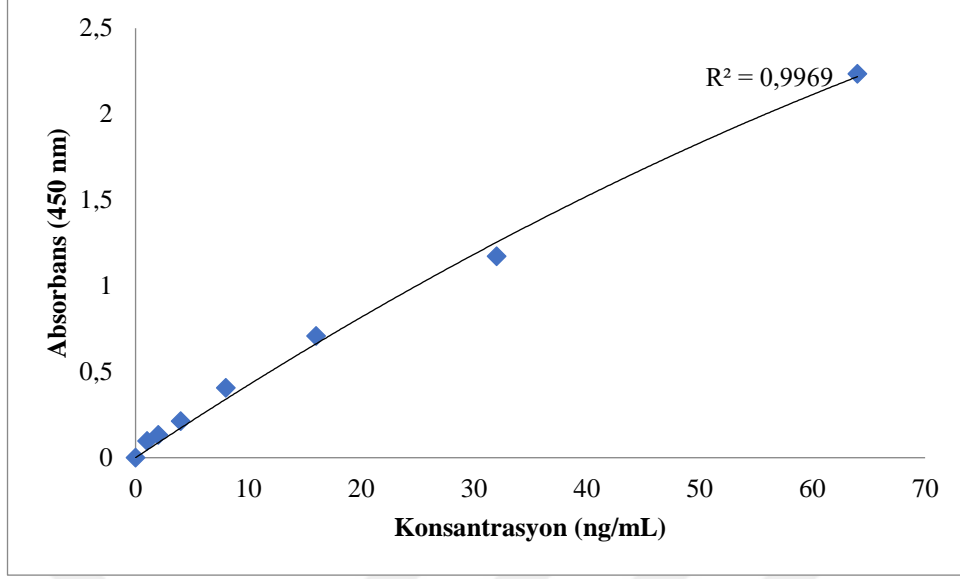
İnsan serumlarında C/-EBP homolog protein (CHOP), seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E4838Hu, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi.

### **Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması**

- -80 °C'deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- CHOP standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 40 µL numune ilave edildi ve sadece numune kuyucuklarına 10 µL anti- CHOP antikor eklendi.
- Daha sonra kör kuyucuğu hariç her bir kuyucuğa 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, önce içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı.

### **Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm**

- Renklendirme için her bir kuyucuğa önce 50 µL Substrat çözeltisi A eklendi. Ardından bütün kuyucuklara Substrat çözeltisi B ilave edildi. 37°C'de karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbanları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart grafiği (Şekil 9) kullanılarak serum CHOP konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.



Şekil 9. CHOP standart grafiği

### İnsan Kaspaz 3 Düzeylerinin Belirlenmesi

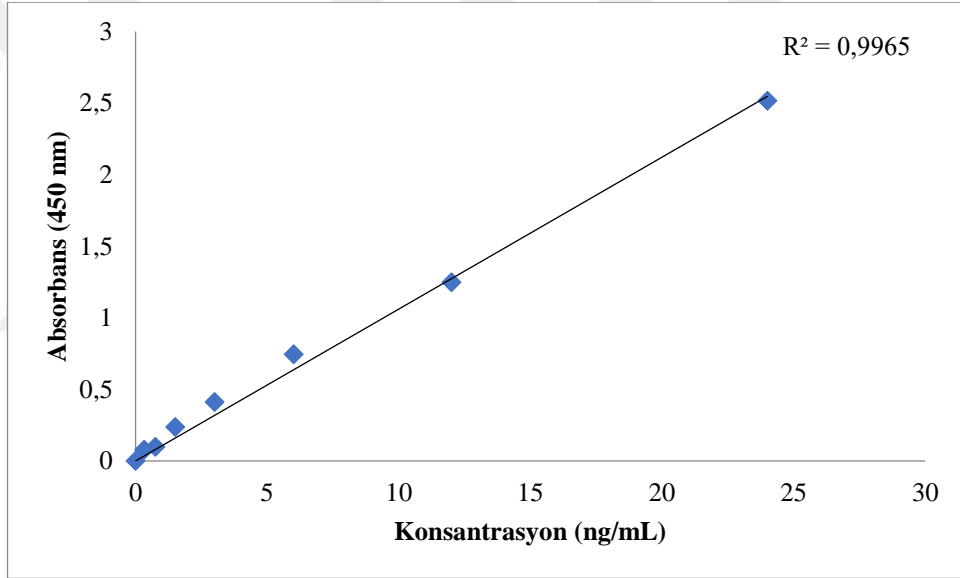
İnsan serumlarında Kaspaz 3 (KASP3), seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E4804Hu, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi.

### Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- -80 °C'deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- KASP3 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 40 µL numune ilave edildi ve sadece numune kuyucuklarına 10 µL anti- KASP3 antikor eklendi.
- Daha sonra kör kuyucuğu hariç her bir kuyucuğa 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, önce içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı.

### Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Renklendirme için her bir kuyucuğa önce 50 µL Substrat çözeltisi A eklendi. Ardından bütün kuyucuklara Substrat çözeltisi B ilave edildi. 37°C’de karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart grafiği (Şekil 10) kullanılarak serum KASP3 konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar ng/mL cinsinden verildi.



Şekil 10: KASP3 standart grafiği

### İnsan İnterlökin-6 Düzeylerinin Belirlenmesi

İnsan serumlarında İnterlökin-6 (IL-6), seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E0090Hu, Shanghai, China) kullanılarak belirlendi.

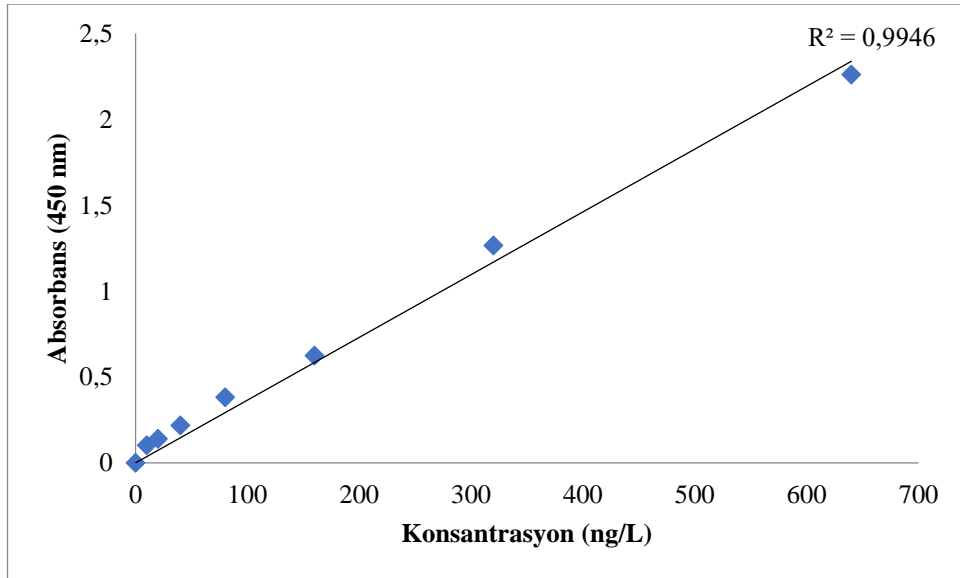
### Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması

- -80 °C’deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- IL-6 standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 50 µL olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.

- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 40 µL numune ilave edildi ve sadece numune kuyucuklarına 10 µL anti- IL-6 antikor eklendi.
- Daha sonra kör kuyucuğu hariç her bir kuyucuğa 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, önce içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı.

### Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm

- Renklendirme için her bir kuyucuğa önce 50 µL Substrat çözeltisi A eklendi. Ardından bütün kuyucuklara Substrat çözeltisi B ilave edildi. 37°C’de karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Standart grafiği (Şekil 11) kullanılarak serum IL-6 konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar ng/L cinsinden verildi.



Şekil 11. IL-6 standart grafiği

### **İnsan Tümör Nekroz Faktörü Alfa Düzeylerinin Belirlenmesi**

İnsan serumlarında TNF- $\alpha$  seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kiti (ELK Biotechnology, Cat No:ELK1190, Wuhan, China) kullanılarak belirlendi.

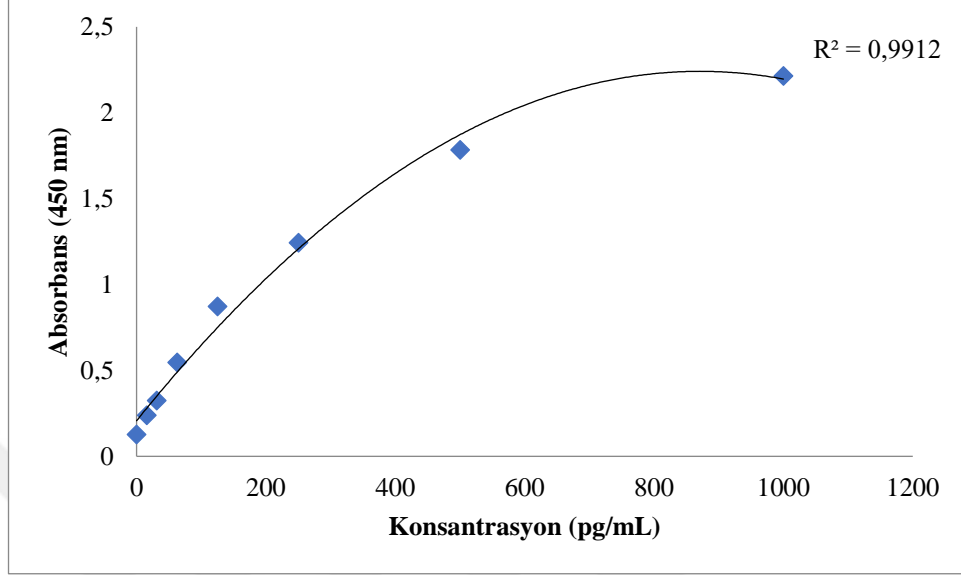
#### **Örneklerin ELISA Pleytine Aktarılması ve Ölçüme Hazırlanması**

- -80 °C'deki muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi.
- TNF- $\alpha$  standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve 100  $\mu$ L olacak şekilde kuyucuklara yüklendi.
- ELISA pleytinde numuneler için ayrılan kuyucuklara 100  $\mu$ L numune ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 80 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleytin içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 3 kez yıkandı.
- Her bir kuyucuğa 100  $\mu$ L biyotinlenmiş antikor çözeltisi ilave edildi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleytin içindeki sıvı uzaklaştırılıp yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 3 kez yıkandı.
- 100  $\mu$ L streptavidin-HRP çözeltisi kuyucuklara eklendi.
- Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 50 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

#### **Numunelerin Renklendirilmesi ve Ölçüm**

- Renklendirme için her bir kuyucuğa 90  $\mu$ L TMB Substrat çözeltisi eklendi. 37°C'de karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Daha sonra her bir kuyucuğa 50  $\mu$ L renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Örneklerin absorbansları VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) marka mikro pleyt okuyucuda 450 nm dalga boyunda

ölçüldü. Standart grafiği (Şekil 12) kullanılarak serum TNF- $\alpha$  konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar pg/mL cinsinden verildi.



Şekil 12. TNF- $\alpha$  standart grafiği

### İstatistiksel Yöntemler

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (IBM SPSS 23, ABD) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Normal dağılıma uymayan parametreler ortanca ve çeyrekler arası oran ile ifade edildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu “Shapiro Wilk” testi yapılarak belirlendi. Normal dağılıma uymayan parametrelerde KAH(-) ve KAH(+) grup karşılaştırılması “Mann-Whitney U” testi yapılarak belirlendi. Üç değişkene sahip normal dağılıma uymayan parametrelerin değerlendirilmesinde “Kruskall Wallis”, grup içi değerlendirmeleri “Mann-Whitney U” testi kullanıldı. Cinsiyet ve sigara içme faktörlerinin karşılaştırılması “Ki Kare” testi ile yapıldı. Üçlü grup karşılaştırmalarında “Bonferroni Düzeltmesi” yapıldı. Parametreler arasındaki ilişkiyi incelemek için “Spearman” korelasyon analizi yapıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### Çalışmaya katılan bireylerin antropometrik değerlerine ait bulgular

Çalışmaya 40-69 yaş grubu arasında 75 KAH(-) ve 13 KAH(+) hasta olmak üzere toplamda 88 hasta dahil edilmiştir.

Çalışmaya katılan KAH(-) ve KAH(+) bireylere ait antropometrik değerler Tablo 6'da gösterildi. Bireylerin yaş, cinsiyet, boy ve kalça değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Sırasıyla;  $p=0.0001$ ,  $p=0.012$ ,  $p=0.033$  ve  $p=0.017$ ). Cinsiyet açısından değerlendirildiğinde KAH(+) bireylerde kadın ve erkek oranları KAH(-)'e göre daha az bulundu ( $p=0.012$ ).

SCORE2 medyan [çeyrekler arası oran]-değerleri KAH(-) grupta 2 [2-5] iken, KAH(+) grupta 10 [8.5-14] olarak bulundu. SCORE2 değeri KAH(+) grubunda KAH(-) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi ( $p=0.0001$ ). Her iki grupta sistolik ve diyastolik kan basınçları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla  $p=0.072$ ,  $p=0.496$ ).

**Tablo 6.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait antropometrik değerler

	<b>KAH (-) (n:75)</b>	<b>KAH (+) (n:13)</b>	<b>P</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	45 [41-51]	61 [53-66]	0.0001
<b>Cinsiyet (K/E)</b>	(35/40)	(1/12)	0.012*
<b>SCORE2**</b>	2 [2-5]	10 [8,5-14]	0.0001
<b>Sigara (Kullanıyor/Kullanmıyor)</b>	(24/51)	(7/6)	0.207*
<b>Boy (cm)</b>	168 [161-176]	174 [169-180]	0.033
<b>Ağırlık (kg)</b>	78 [68-85]	80 [67-84]	0.976
<b>BKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.8 [24.4-31]	25.7 [24.2-27.5]	0.241
<b>Bel (cm)</b>	89.5 [80-95.5]	85 [77.5-94]	0.506
<b>Kalça (cm)</b>	103 [100-110]	96 [95-108]	0.017
<b>BKO</b>	0.80 [0.80-0.90]	0.90 [0.75-0.90]	0.705
<b>Sistolik (mmHg)</b>	120 [110-121]	120 [120-130]	0.072
<b>Diyastolik (mmHg)</b>	80 [70-80]	80 [70-80]	0.496

p; "Mann-Whitney U" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. ( $p<0.05$ )  
p\*;"Ki Kare" testine göre verildi.  
\*\* 70 yaş altı hastalar SCORE2'ye göre; 70 yaş ve üstü hastalar SCORE2-OP'a göre hesaplanmıştır.  
SCORE2: Sistematik Koroner Risk Değerlendirmesi, K/E:Kadın/Erkek, BKİ: Vücut kitle indeksi, BKO: Bel kalça oranı

75 KAH(-) hasta kendi arasında normokolesterolemik (n:29 kişi) ve hiperkolesterolemik (n:46) olacak şekilde gruplandırıldı ve KAH(+) grup ile birlikte bu üç grubun antropometrik değerleri Tablo 7'de sunuldu. KAH(+) grupta yaş medyan değerleri hem KAH(-) hiperkolesterolemik hem de KAH(-) normokolesterolemik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti (p= 0.0001). Bu üç grup karşılaştırıldığında KAH(+) bireylerde kadın ve erkek oranları hiperkolesterolemik ve normokolesterolemik gruplara göre daha az bulundu (p= 0.012). Sigara kullanım sayıları normokolesterolemik grupta diğer iki gruba göre anlamlı yüksek bulundu (p=0.001). Sistolik kan basınçları karşılaştırıldığında, KAH(-) hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplarında normokolesterolemik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p= 0.015).

**Tablo 7.** KAH(-) normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait antropometrik değerler

	KAH (-)		KAH (+) (n:13)	P
	Normokolesterolemik (n:29)	Hiperkolesterolemik (n:46)		
<b>Yaş (yıl)</b>	43 [40-46.5]	48 <sup>a</sup> [41.5-53]	61 <sup>a, b</sup> [53-66]	0.0001
<b>Cinsiyet(K/E)</b>	(14/15)	(21/25)	(1/12)	0.03*
<b>SCORE2</b>	2 [1-4]	3 [2-6]	10 <sup>a, b</sup> [8.5-14]	0.0001
<b>Sigara (Kullanıyor/Kullanmıyor)</b>	(16/13)	(8/38) <sup>a</sup>	(7/6) <sup>b</sup>	0.001*
<b>Boy(cm)</b>	167 [161-176]	168 [162-176]	174 [169-180]	0.106
<b>Ağırlık (kg)</b>	76 [68.5-86]	78 [69-84.5]	80 [67-84]	0.983
<b>BKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.9 [24.3-30.3]	26.8 [24.4-31.1]	25.7 [24.2-27,5]	0.574
<b>Bel(cm)</b>	90 [79.5-100]	89.5 [80-95]	85 [77.5-94]	0.908
<b>Kalça (cm)</b>	103 [100-112]	104 [100-110]	96 [95-108]	0.130
<b>BKO</b>	0.80 [0.80-0.90]	0.85 [0.80-0.90]	0.90 [0.75-0.90]	0.660
<b>Sistolik (mmHg)</b>	110 [108-120]	120 <sup>a</sup> [110-130]	120 <sup>a</sup> [120-130]	0.015
<b>Diyastolik(mmHg)</b>	75 [70-80]	80 [70-80]	80 [70-80]	0.441

p; "Kruskal Wallis" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. (p<0,05)  
İkili grup karşılaştırması Mann-Whitney U testine göre yapıldı  
p\*: " Ki Kare" testine göre verildi. Bonferroni düzeltilmesi p<0.017  
a: normokolesterolemik gruba göre anlamlı farklı  
b: hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı farklı

### Çalışmaya katılan bireylerin biyokimyasal parametrelerine ait bulgular

Çalışmaya katılan KAH(-) ve KAH(+) bireylere ait biyokimyasal parametreler Tablo 8’de verildi. Biyokimyasal parametrelerden TK, TG, LDL-K ve non-HDL-K değerleri KAH(+) grupta KAH(-) grubuna göre daha yüksek bulunurken bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p= 0.677, p= 0.580, p= 0.171, p= 0.287). HDL medyan değeri KAH(-) grupta KAH(+) grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p:0.022). KAH(+) grupta glukoz ve BUN medyan değerleri KAH(-) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla; p:0.032, p:0.0001).

**Tablo 8.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait biyokimyasal parametreler

Paremetreler	KAH (-) (n:75)	KAH (+) (n:13)	P
TK (mg/dL)	219 [187-241]	224 [200-249]	0.677
TG (mg/dL)	108 [77.8-153]	127 [79.5-193]	0.580
LDL-K (mg/dL)	137 [116-166]	159 [131-172]	0.171
HDL-K (mg/dL)	51 [45.8-59]	45 [42-49]	0.022
Non-HDL-K	167 [136-190]	178 [152-206]	0.287
Glukoz (mg/dL)	93 [87-99]	101 [88.5-106]	0.032
İnsülin (µIU/mL)	10.4 [5.99-15.9]	11.5 [3.54-19.3]	1.00
HOMA-IR	2.43 [1.38-3.65]	3.17[0.885-5.33]	0.587
ALT (U/L)	20 [13.8-25]	21 [15-29.5]	0.317
AST (U/L)	21 [18-24]	21 [19-23.5]	0.904
BUN (mg/dL)	14 [11-16]	22 [15.5-31.5]	0.001
Kreatinin (mg/dL)	0.76 [0.66-0.89]	0.82 [0.685-0.935]	0.588

p; "Mann Whitney-U" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. (p<0.05)  
TK: Total kolesterol, TG: Trigliserit, LDL-K: LDL kolesterol, HDL-K: HDL kolesterol, Non-HDL-K: HDL dışı kolesterol, HOMA-IR: İnsülin Direncinin Homeostatik Modeli Değerlendirmesi

Çalışmaya katılan normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) bireylere ait biyokimyasal parametreler Tablo 9’da verildi. TK, LDL-K, non-HDL-K medyan değerleri normokolesterolemik grupta diğer iki gruba göre anlamlı düşük bulundu (sırasıyla p= 0.0001, p= 0.0001, p= 0.0001). Trigliserit değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (p=0.674). BUN değerleri ise normokolesterolemik grupta diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p=0.001).

**Tablo 9.** Normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait biyokimyasal parametreler

Parametre	KAH (-)		KAH (+) (n:13)	p
	Normokolesterolemik (n:29)	Hiperkolesterolemik (n:46)		
TK (mg/dL)	179 [162-196]	234 <sup>a</sup> [225-255]	224 <sup>a</sup> [200-249]	0.0001
TG (mg/dL)	98 [76.5-152]	122 [82-155]	127 [79.5-193]	0.674
LDL-K (mg/dL)	110 [93-120]	161 <sup>a</sup> [143-175]	159 <sup>a</sup> [131-172]	0.0001
HDL-K (mg/dL)	47 [42-59.5]	53 [47.5-59]	45 <sup>b</sup> [42-49]	0.023
Non-HDL-K	130 [115-143]	184 <sup>a</sup> [169-204]	178 <sup>a</sup> [152-206]	0.0001
Glukoz (mg/dL)	92 [86-99]	93.5 [87.5-98.5]	101 <sup>a</sup> [88.5-106]	0.086
İnsülin (µIU/mL)	10 [6.54-16]	11.3 [5.54-15.9]	11.5 [3.54-19.3]	0.981
HOMA-IR	2.35 [1.47-3.42]	2.5 [1.25-3.81]	3.17 [0.885-5.33]	0.855
ALT (U/L)	18 [12.5-24]	21 [14-25]	21 [15-29.5]	0.447
AST (U/L)	20 [18-24]	21 [18-24]	21 [19-23.5]	0.763
BUN (mg/dL)	12 [10.5-15]	14 <sup>a</sup> [12-17]	22 <sup>a,b</sup> [15.5-31.5]	0.001
Kreatinin (mg/dL)	0.77 [0.655-0.86]	0.75 [0.65-0.93]	0.82 [0.685-0.935]	0.811

p; "Kruskal Wallis" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. (p<0.05)  
İkili grup karşılaştırması Mann-Whitney U testine göre yapıldı  
a; normokolesterolemik gruba göre anlamlı farklı  
b; hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı farklı

### Çalışmaya Katılan Bireylerin Endoplazmik Retikulum Stres ve İnflamasyon Parametrelerine Ait Bulgular

Çalışmaya katılan KAH(-) ve KAH(+) bireylere ait ERS ve inflamasyon biyobelirteçlerine ait bulgular Tablo 10'da verildi. Endoplazmik retikulum stres parametrelerinden GRP78, IRE1 $\alpha$ , CHOP, Kaspaz medyan değerleri KAH(+) grupta KAH(-) grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p= 0.0001, p= 0.0001, p= 0.0001, p= 0.001). İnflamasyon parametrelerinden IL-6, TNF- $\alpha$  medyan

değerleri KAH(+) grupta KAH(-) grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken CRP, beyaz küre, lenfosit ve nötrofil medyan değerlerinde ise anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla p= 0.0001, p= 0.0001, p= 0.608, p= 0.494, p= 0.437, p= 0.584)

**Tablo 10.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait ERS ve inflamasyon parametreleri

	KAH(-) (n:75)	KAH(+) (n:13)	p
<b>ERS parametreleri</b>			
GRP78 (ng/mL)	20 [19-26]	30 [27.5-38.5]	0.0001
IRE1 $\alpha$ (ng/L)	283 [200-376]	476 [354-525]	0.0001
CHOP (ng/mL)	9.90 [6.1-16.9]	31.6 [21.1-33.4]	0.0001
Kaspaz (ng/mL)	3.70 [2.90-6.40]	11.8 [7.55-12.6]	0.001
<b>İnflamasyon parametreleri</b>			
IL-6 (ng/L)	103 [69-163]	323 [243-332]	0.0001
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	137 [104-192]	667 [462-883]	0.0001
CRP (mg/L)	1.95 [1.0-4.15]	1.4 [0.795-5.25]	0.608
Beyaz Küre (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	6.69 [5.8-7.7]	6.71 [6.14-7.81]	0.494
Lenfosit (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	2.1 [1.8-2.6]	2.0 [1.64-2.61]	0.437
Nötrofil (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	3.8 [3.05-4.6]	3.82 [3.23-5.23]	0.584
p; "Mann Whitney - U" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. (p<0.05) GRP78: Glukoz düzenleyici protein 78, IRE1: Inositol bağımlı kinaz 1, C/EBP homolog protein, IL-6: İnterlökin 6, TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör- $\alpha$ , CRP: C-reaktif protein			

Çalışmaya katılan normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) bireylere ait oksidatif stres ve inflamasyon parametelerine ait bulgular Tablo 11’de verildi. Endoplazmik retikulum stres parametrelerinden GRP78, IRE1 $\alpha$ , CHOP, Kaspaz değerleri KAH(+) grupta normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik gruba göre belirgin olarak arttı (sırasıyla p=0.0001, p=0.0001, p=0.0001, p=0.001). Ayrıca GRP78, IRE1 $\alpha$ , CHOP değerleri de hiperkolesterolemik grupta normokolesterolemik gruba göre anlamlı yüksekti. İnflamasyon parametrelerinden IL-6 değeri hiperkolesterolemik grupta normokolesterolemik gruba göre anlamlı yüksek bulundu (p=0.0001). Ayrıca IL-6, TNF- $\alpha$  değerleri KAH(+) grupta normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik gruba göre artmış bulundu (Sırasıyla p=0.0001, p=0.0001). Bu üç grup arasında CRP, beyaz küre, lökosit ve nötrofil medyan değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p= 0.841, p= 0.228, p= 0.310, p= 0.065).

**Tablo 11.** Normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait ERS ve inflamasyon parametreleri

Parametre	KAH (-)		KAH (+) (n:13)	P
	Normokolesterolemik (n:29)	Hiperkolesterolemik (n:46)		
<b>ER Stres Parametreleri</b>				
GRP78 (ng/mL)	19 [18-20]	22.5 <sup>a</sup> [20-29]	30 <sup>a,b</sup> [27.5-38.5]	0.0001
IRE1 $\alpha$ (ng/L)	200 [164-268]	349 <sup>a</sup> [261-423]	476 <sup>a,b</sup> [354-525]	0.0001
CHOP (ng/mL)	6.3 [4.95-11.5]	12.7 <sup>a</sup> [6.78-19.2]	31.6 <sup>a,b</sup> [21.1-33.4]	0.0001
Kaspaz (ng/mL)	3.70 [2.90-4.25]	3.70 [2.80-9.20]	11.8 <sup>a,b</sup> [7.55-12.6]	0.001
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>				
IL-6 (ng/L)	77 [62-118]	141 <sup>a</sup> [76.5-241]	323 <sup>a,b</sup> [243-332]	0.0001
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	124 [87.5-166]	139 [107-221]	667 <sup>a,b</sup> [462-883]	0.0001
CRP(mg/L)	1.9 [1.0-3.95]	2.0 [1.0-5.0]	1.4 [0.795-5.25]	0.841
Beyaz Küre (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	7.3 [6.08-8.24]	6.4 [5.65-7.55]	6.71 [6.14-7.81]	0.228
Leu (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	2.09 [1.65-2.55]	2.3 [1.9-2.7]	2.0 [1.64-2.61]	0.310
Neu (x10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	4.5 [3.3-5.0]	3.7 [2.83-4.35]	3.82 [3.23-5.23]	0.065
p; "Kruskal Wallis" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. (p<0.05) İkili grup karşılaştırması Mann-Whitney U testine göre yapıldı a; normokolesterolemik gruba göre anlamlı farklı b; hiperkolesterolemik gruba göre anlamlı farklı				

Çalışma grubu SCORE2 tablosunda cinsiyet, yaş, non-HDL kolesterol, tansiyon ve sigara kullanım durumuna göre düşük, orta ve yüksek riskli olarak belirlendi ve bireylerin SCORE2 ve SCORE2-OP risk durumuna göre 10 yıl içerisinde KVH geçirme risk sınıflaması Tablo 12'de verildi. Bu sınıflamada bireyler 50 yaş altı ve 50 yaş üstü olarak iki gruba ayrılarak risk durumları belirlendi ve SCORE2'ye göre risk değerlendirilmesi yapıldı. Ayrıca 70 yaş ve üstü bireyler için SCORE2-OP tablosu kullanılarak hesaplama yapıldı.

**Tablo 12.** SCORE2 ve SCORE2-OP risk durumuna göre sınıflandırılması

	<50 Yıl	50-69 Yıl	≥70 yıl
<b>Düşük</b>	<2.5 %	<5 %	<7.5 %
<b>Orta</b>	2.5-<7.5 %	5-<10 %	7.5-<15%
<b>Yüksek</b>	≥7.5 %	≥10 %	≥15 %

SCORE2 risk durumuna göre sınıflandırılan bireylere ait ERS ve inflamasyon parametreleri Tablo 13’de verildi. GRP78 ve Kaspaz değerleri yüksek riskli grupta hem düşük ve hem de orta riskli guruplara göre anlamlı olarak artmış bulundu (sırasıyla  $p= 0.035$ ,  $p= 0.042$ ). TNF- $\alpha$  değeri yüksek riskli grupta düşük risk ve orta riskli gruba göre anlamlı olarak artmış bulundu ( $p= 0.025$ ). Diğer biyobelirteçlerde gruplar arasında anlamlı fark gözlemlenmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 13.** SCORE2 risk durumuna göre endoplazmik retikulum stres ve inflamasyon parametreleri

	Düşük Risk (n=42)	Orta Risk (n=32)	Yüksek Risk (n=14)	p
<b>ERS parametreleri</b>				
<b>GRP78 (ng/mL)</b>	20 [18.8-27]	20 [19-28.3]	29.5 <sup>a, b</sup> [21.8-31.3]	0.035
<b>IRE1<math>\alpha</math> (ng/L)</b>	292 [203-389]	252 [201-391]	394 [300-460]	0.112
<b>CHOP (ng/mL)</b>	11.7 [6.1-17.5]	8.25 [6.23-20.1]	18 [6.9-33.3]	0.321
<b>Kaspaz (ng/mL)</b>	3.85 [2.98-7.33]	3.45 [2.9-7.58]	7.8 <sup>a, b</sup> [3.8-12.7]	0.042
<b>İnflamasyon parametreleri</b>				
<b>IL-6 (ng/L)</b>	114 [75-163]	95 [69-244]	194 [77.5-329]	0.261
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	136 [94-241]	150 [106-225]	256 <sup>a, b</sup> [144-815]	0.025
<b>CRP (mg/L)</b>	1.95 [1.0-4.15]	1.9 [1.0-3.7]	1.2 [0.645-4.70]	0.342
p; "Kruskal Wallis" testine göre ve sonuçlar medyan [IQR (%25-75)] şeklinde verildi. ( $p<0.05$ ) İkili grup karşılaştırması Mann-Whitney U testine göre yapıldı a; düşük riskli gruba göre anlamlı farklı b; orta riskli gruba göre anlamlı farklı				

### Çalışmaya Katılan Bireylerin Sonuçlarına Ait Korelasyon Bulguları

Çalışmaya katılan tüm bireylerin ERS, inflamasyon ve lipid parametrelerinin SCORE2 ile olan korelasyon sonuçları Tablo 14’da verildi. SCORE2 parametresi ile ERS parametrelerinden IRE1 $\alpha$  ve GRP78, inflamasyon parametrelerinden TNF- $\alpha$  ve lipid parametrelerinden TK, LDL-K ve non-HDL-K arasında pozitif korelasyon görüldü (p<0.05).

**Tablo 14.** SCORE2 ve parametreler arasındaki korelasyon bulguları (n:88)

	SCORE2	
	r	p
<b>ERS Parametreleri</b>		
IRE1 $\alpha$	0.222	0.037
GRP78	0.333	0.002
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
TNF- $\alpha$	0.337	0.001
<b>Lipid Parametreleri</b>		
TK	0.315	0.003
LDL-K	0.357	0.001
Non-HDL-K	0.347	0.001
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.		

KAH(+) grupta SCORE-2 parametresi değerleri ile ERS parametresi olan Kaspaz arasında pozitif korelasyon bulundu (p= 0.021). Hem KAH(-) grubunun ve hem de KAH(+) grubunun SCORE2 değerleri ile lipid parametreleriyle karşılaştırıldığında TK, LDL-K, Non-HDL-K değerleri arasında pozitif korelasyon bulundu (p<0.05). (Tablo 15)

**Tablo 15.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait SCORE2 korelasyon bulguları

	KAH (-)		KAH (+)	
	SCORE2			
	r	p	r	P
Kaspaz (ng/mL)	-0.061	0.604	0.631	0.021
<b>Lipid Parametreleri</b>				
TK	0.336	0.03	0.766	0.002
LDL-K	0.319	0.006	0.681	0.010
Non-HDL-K	0.349	0.002	0.730	0.005
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.				

Çalışmaya katılan normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) bireylere ait ERS, inflamasyon ve lipid parametrelerinin SCORE2 ile korelasyonuna ait bulgular Tablo 16’de verildi. Normokolesterolemik grupta SCORE2 değerleri ve IL-6 değerleri arasında negatif korelasyon görülürken ( $r = -0.458$ ,  $p=0.013$ ), TK ve non-HDL değerleri arasında pozitif korelasyon görüldü (Sırasıyla  $r=0.455$ ,  $p=0.013$ ;  $r=0.421$ ,  $p=0.023$ ). KAH(+) grupta ise SCORE2 değerleri ile Kaspaz, TK, LDL-K ve non-HDL-K arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü (Sırasıyla  $r = 0.631$ ,  $p = 0.021$ ;  $r = 0.766$ ,  $p = 0.020$ ;  $r = 0.681$ ,  $p = 0.010$ ;  $r = 0.730$ ,  $p=0.005$ ).

**Tablo 16.** Normokolesterolemik, hiperkolesterolemik ve KAH(+) gruplara ait SCORE2 korelasyon bulguları

	KAH (-)				KAH (+)	
	Normokolesterolemik		Hiperkolesterolemik			
	SCORE2					
	r	p	r	p	r	p
<b>ERS ve İnflamasyon Parametreleri</b>						
IL-6	-0.458	0.013	-0.110	0.472	-0.387	0.191
Kaspaz	-0.240	0.210	-0.075	0.622	0.631	0.021
<b>Lipid Parametreleri</b>						
TK	0.455	0.013	0.173	0.255	0.766	0.020
LDL-K	0.355	0.059	0.178	0.243	0.681	0.010
Non-HDL	0.421	0.023	0.198	0.192	0.730	0.005
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.						

KAH(-) ve KAH(+) gruplarında ERS parametrelerinden olan GRP78 ile lipid parametrelerinin korelasyon bulguları Tablo 17’de verildi. KAH(-) grupta GRP78 değerleri ile TK, LDL-K ve non-HDL değerleri arasında pozitif ve anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla  $r = 0.383$ ,  $p=0.0001$ ;  $r = 0.405$ ,  $p=0.0001$ ;  $r = 0.373$ ,  $p=0.001$ ). KAH(+) grupta ise GRP78 ile lipid parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 17.** KAH(-)ve KAH(+) gruplara ait GRP78 korelasyon bulguları

	KAH (-)		KAH (+)	
	GRP78			
	R	p	r	p
TK	0.383	0.001	0.11	0.72
LDL-K	0.405	0.0001	0.126	0.681
Non-HDL-K	0.373	0.001	0.198	0.517

Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.

KAH(-) ve KAH(+) gruplarında ERS parametrelerinden olan IRE1 $\alpha$  ile lipid parametrelerinin korelasyon bulguları Tablo 18’de verildi. KAH(-) grubunda IRE1 $\alpha$  değerleri ile TK, LDL-K ve non-HDL-K değerleri arasında pozitif ve anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla  $r= 0.350$ ,  $p=0.002$ ;  $r= 0.327$ ,  $p=0.004$ ;  $r= 0.306$ ,  $p=0.008$ ). KAH(+) grupta ise IRE1 $\alpha$  ile lipid parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 18.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait IRE1 $\alpha$  korelasyon bulguları

	KAH (-)		KAH (+)	
	IR1 $\alpha$			
	R	p	r	p
TK	0.350	0.002	-0.430	0.142
LDL-K	0.327	0.004	-0.444	0.128
Non-HDL-K	0.306	0.008	-0.418	0.155

Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.

KAH(-) ve KAH(+) gruplarında ERS parametrelerinden olan CHOP ile lipid parametrelerinin korelasyon bulguları Tablo 19’da verildi. KAH(-) grubunda CHOP değerleri ile TK, LDL-K ve non-HDL-K değerleri arasında pozitif ve anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla  $r= 0.296$ ,  $p=0.001$ ;  $r= 0.389$ ,  $p=0.001$ ;  $r= 0.318$ ,  $p=0.005$ ). KAH(+) grupta ise CHOP ile lipid parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 19.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait CHOP korelasyon bulguları

	KAH (-)		KAH (+)	
	CHOP			
	r	p	r	p
TK	0.296	0.001	-0.048	0.876
LDL-K	0.389	0.001	-0.039	0.899
Non-HDL	0.318	0.005	0.024	0.937

Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.

KAH(-) ve KAH(+) gruplarında inflamasyon parametrelerinden olan IL-6 ile lipid parametrelerinin korelasyon bulguları Tablo 20’de verildi. KAH(-) grubunda IL-6 değerleri ile TK, LDL-K ve non-HDL-K değerleri arasında pozitif ve anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla  $r= 0.249$ ,  $p=0.031$ ;  $r= 0.307$ ,  $p=0.007$ ;  $r= 0.248$ ,  $p=0.032$ ). KAH(+) grupta ise IL-6 ile lipid parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 20.** KAH(-) ve KAH(+) gruplara ait IL-6 korelasyon bulguları

	KAH (-)		KAH (+)	
	IL-6			
	r	p	r	p
TK	0.249	0.031	-0.324	0.280
LDL-K	0.307	0.007	-0.280	0.353
Non-HDL-K	0.248	0.032	-0.232	0.455

Spearman korelasyon testi sonuçları verildi

**Tablo 21.** GRP78 total korelasyon bulguları

	GRP78	
	r	P
<b>ERS Parametreleri</b>		
IRE1 $\alpha$	0.557	0.0001
CHOP	0.619	0.0001
Kaspaz	0.765	0.0001
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
IL-6	0.694	0.0001
TNF- $\alpha$	0.386	0.0001
<b>Lipid Parametreleri</b>		
TK	0.306	0.004
LDL-K	0.386	0.0001
Non-HDL-K	0.332	0.002

Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.

**Tablo 22.** IRE1 $\alpha$  total korelasyon bulguları

	<b>IRE1<math>\alpha</math></b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>ER Stres Parametreleri</b>		
GRP78	0.557	0.0001
CHOP	0.347	0.001
Kaspaz	0.615	0.0001
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
IL-6	0.436	0.0001
TNF- $\alpha$	0.273	0.01
<b>Lipid Parametreleri</b>		
TK	0.259	0.015
LDL-K	0.291	0.006
Non-HDL-K	0.241	0.024
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.		

**Tablo 23.** CHOP total korelasyon bulguları

	<b>CHOP</b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>ERS Parametreleri</b>		
GRP78	0.619	0.0001
IRE1 $\alpha$	0.347	0.001
Kaspaz	0.597	0.0001
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
IL-6	0.663	0.0001
TNF- $\alpha$	0.256	0.016
<b>Lipid Parametreleri</b>		
TK	0.219	0.041
LDL-K	0.348	0.001
Non-HDL-K	0.267	0.012
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.		

**Tablo 24.** Kaspaz total korelasyon bulguları

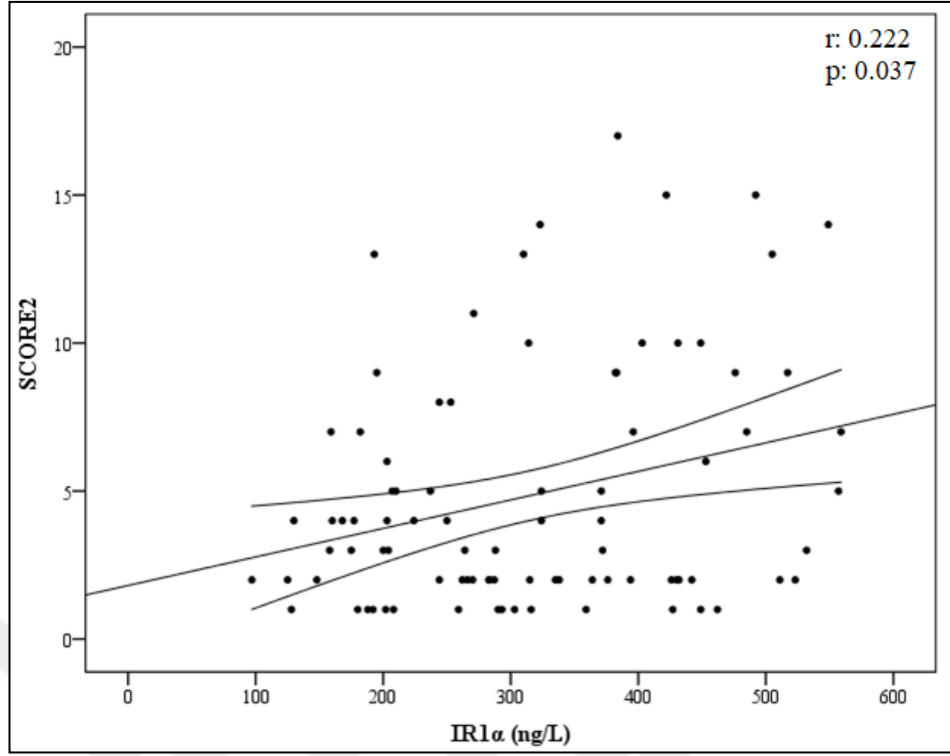
	<b>Kaspaz</b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>ERS Parametreleri</b>		
GRP78	0.765	0.0001
IRE1 $\alpha$	0.615	0.0001
CHOP	0.597	0.0001
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
IL-6	0.694	0.0001
TNF- $\alpha$	0.251	0.018
<b>Lipid Parametreleri</b>		
LDL	0.222	0.037
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.		

**Tablo 25.** IL-6 total korelasyon bulguları

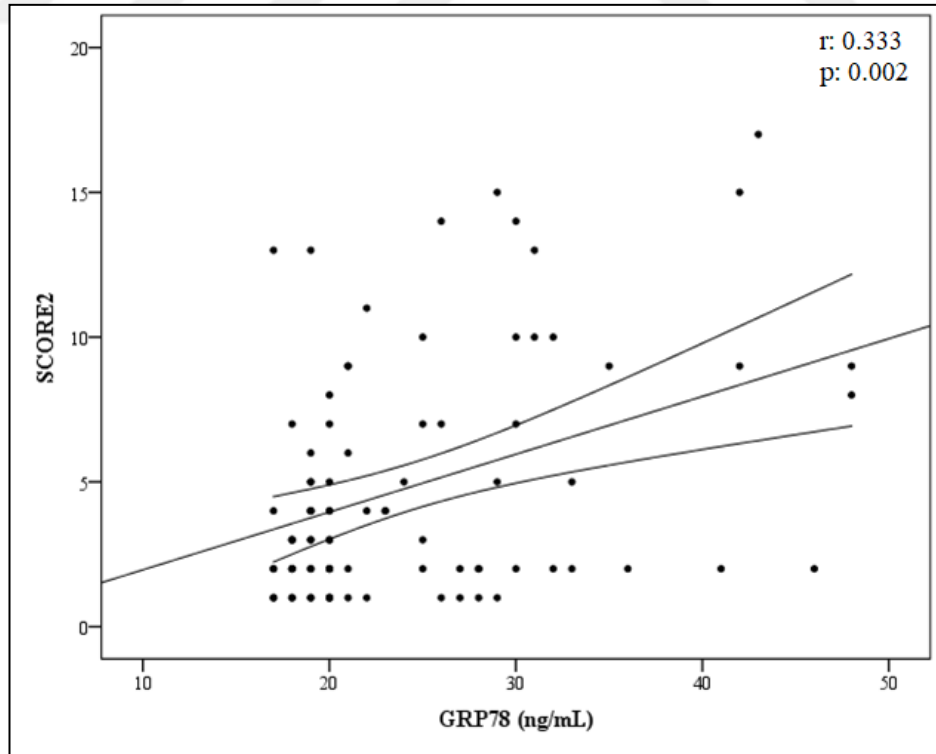
	<b>IL-6</b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>ERS Parametreleri</b>		
GRP78	0.694	0.0001
IRE1 $\alpha$	0.436	0.0001
CHOP	0.663	0.0001
Kaspaz	0.694	0.0001
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
TNF- $\alpha$	0.298	0.005
<b>Lipid Parametreleri</b>		
LDL	0.290	0.006
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.		

**Tablo 26.** TNF- $\alpha$  total korelasyon bulguları

	<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>ERS Parametreleri</b>		
GRP78	0.386	0.0001
IRE1 $\alpha$	0.273	0.01
CHOP	0.256	0.016
Kaspaz	0.251	0.018
<b>İnflamasyon Parametreleri</b>		
IL-6	0.298	0.005
<b>Lipid Parametreleri</b>		
TG	0.210	0.049
Spearman korelasyon testi sonuçları verildi.		



Şekil 13. Toplam çalışma grubunun SCORE2 ile IRE1α arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği



Şekil 14. Toplam çalışma grubunun SCORE2 ile GRP78 arasındaki ilişkiyi gösteren korelasyon grafiği

## 5. TARTIŞMA

Endoplazmik retikulum fonksiyonlarının uzun süreli bozulması, ERS'ye ve katlanmamış protein yanıtının (UPR) aktivasyonuna neden olur. Bu stres çeşitli hastalıkların oluşumuna sebep olmaktadır. Ayrıca ERS hücresel süreçlerin ilerlemesini de etkilemektedir. Özellikle inflamasyon sürecinde proinflamatuvar sitokinleri ve immün sistemin diğer mediyatörlerinin tetiklenmesine neden olmaktadır. İnflamasyon ve ERS birçok düzeyde bağlantılıdır; her ikisi de organizmanın işlevi ve hayatta kalması için gerekli olan kısa vadeli uyarlanabilir sistemlerdir ve her ikisi de kronik olarak devreye girdiklerinde zararlıdır. Daha önce yapılan çalışmalarda ERS'nin ve UPR aktivasyonunun belirgin bir şekilde diyabetes mellitus (93), obezite (94, 95), yağlı karaciğer hastalıkları (96), KVH (97), nöronal hastalıklar (98-101), bazı kanserler (102,103) ve MetS (104) gibi hastalıklarda arttığı gösterilmiştir (105). Endoplazmik retikulum stres parametrelerinin hiperkolesterolemi ve KAH'da araştırıldığı çalışmamızda ERS parametreleri birçok faktörden etkilendiği için hasta ve sağlıklı kontrol grubu seçimine ayrı bir özen gösterildi. Endoplazmik retikulum stresini etkileyebilecek ilaç kullanımı, diyabet, MetS, kanser, hepatik ve nörolojik hastalıkları olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Kardiyovasküler hastalıkların ana nedenlerinden biri aterosklerozdur. Endoplazmik retikulum stresi ER içindeki lipid metabolizmasını etkileyerek bu hastalığın patogenezinde belirgin bir role sahip olabileceği gösterilmiştir (106). UPR aktivasyonları, aterosklerotik plaklarda, özellikle makrofaj türevli köpük hücrelerde, aterogenezin tüm aşamalarında gözlenmiştir (46). Ateroskleroz durumunda ERS'nin artışı ve devam etmesi hepatik lipid metabolizması ve pankreatik beta hücre fonksiyonunda bozulma, obezite durumu, insulin direnci ve diyabet gibi sistemik risk faktörlerinin oluşumuna da sebep olabilmektedir (107,108). Oksidatif stres, hiperhomosisteinemi, makrofajlarda serbest kolesterol birikimi ve reaktif nitrojen türlerinin oluşumu gibi ateroskleroz için çoklu risk faktörleri ERS'ye katkıda bulunur (109, 110). Buna karşılık, ERS ve uyumsuz UPR' de yer alan moleküler mekanizmaların ateroskleroz etiolojisine katkıda bulunduğu belirtilmektedir. Daha önceki çalışmalarda insan koroner arter lezyonlarının, GRP78/BiP ve CHOP gibi yüksek ERS belirteçlerine sahip olduğu gösterilmiştir; bu

da aterogeneizde ERS ve ERS yanıtının rolü olduğunu düşündürmektedir (111). Yüksek kolesterol seviyeleri, in vitro olarak fare makrofajlarında ERS'ye bağlı apoptozu aktive eder (112). 2020 yılında yayınlanan fareler üzerinde makrofaj hücre kültürü, PCR ve Western blot analizi ile yapılan bir çalışmada; makrofaj hücrelerinde C/EBP $\beta$  inhibisyonunun, lipid yüklü makrofaj hücrelerinde inflamasyonu, ERS'yi ve apoptozu azalttığı ve otofajiyi desteklediği bulunmuştur. Bu çalışma, C/EBP $\beta$  inhibisyonundan sonra aterojenik lipid yüklü makrofajlarda ATF4 ve CHOP gen ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını tespit etmiştir. Bu görüş, ER'de kolesterol birikiminin inhibisyonunun farelerde makrofajları kolesterol kaynaklı hücre ölümünden kurtardığının bulunmasıyla da desteklenmektedir (113). Yapılan çalışmalar uzamış ERS'nin arter duvarındaki makrofaj oluşumuna neden olduğu ve ilerlemiş lezyonların endotel hücresinin apoptozuna sebep olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, bu hücrelerdeki ERS aracılı proinflamatuvar etkilerin erken aterogenezi de etkileyebileceği belirtilmektedir (114). Çalışmamızda aterosklerozun temel nedenlerinden olan hiperkolesterolemide ve klinik sonucu olan KAH'ta ERS parametreleri anlamlı yüksek bulundu.

Endoplazmik retikulumun uzun süreli strese maruz kalması sonucunda degradasyon mekanizmaları yetersiz kalmaktadır. Bu durumda hücrenin apoptozise yani ölüme gitmesiyle sonuçlanır. Endoplazmik retikulum stresi sebebiyle uyarılan apoptotik hücre ölümü; iskemik hasarlar, kalp hastalıkları, bazı nörodejeneratif hastalıklar ve diyabet gibi birçok patolojik durumla ilişkilendirilmiştir. Özellikle stres gibi durumlarda oluşan uyarı mitokondriden hücre sitoplazmasına sitokrom c'nin salınmasına neden olur. Bu durum Kaspaz 9 üzerinden Kaspaz 3'ü aktifleştirerek apoptotik hücre ölümünün gerçekleşmesine sebep olur (115). Makrofajlarla yapılan bir çalışmada hücrelere asetillenmiş-LDL (ac-LDL) verilmesinin pPERK proteinini artırarak ERS'yi indüklediği gösterilmiştir. Bu durumun CHOP aktivasyonu ile beraber hücreleri apoptozla ölüme götürdüğü ve aterosklerotik plak gelişimine neden olabileceği bildirilmiştir (116). Mozzini C ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınlanan çalışmasında; 29 KAH'lı hasta ve 28 sağlıklı kontrol grubunda ERS parametreleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda ilk kez, UPR'nin göstergesi olan GRP78 ve ER'de başlatılan apoptotik sinyallemenin temsilcisi olan CHOP, KAH hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek

bulunmuştur (111). Myoishi M ve arkadaşlarının 2007'de yayınlanan çalışmasında; otopsiyle 71 hastadan koroner arter segmentleri ve 40 hastadan aterektomi spesmenleri elde edilerek aterosklerotik koroner arter lezyonlarının histolojik kesitleri incelenmiştir. Endoplazmik retikulum şaperonları GRP 78/GRP 94 ve CHOP'un özellikle kararsız plaklarda daha belirgin olmak üzere artmış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmadaki bulgularla beraber düz kas hücreleri ve makrofajların ERS'ye bağlı apoptozunun plak duyarlılığına katkıda bulunabileceği tespit edilmiştir (117). Ji Zhou ve arkadaşları apolipoprotein E eksikliği olan fareleri 9 haftalık (erken lezyon grubu) ve 23 haftalık (ileri lezyon grubu) standart bir yemekle beslemiş, ardından aort kökü kesitlerini UPR aktivasyon belirteçleri (GRP78, fosfo-PERK, CHOP ve TDAG51) açısından değerlendirmiştir. UPR belirteçlerinin çok erken intimal lezyonlardan ilerlemiş aterosklerotik lezyonlara kadar aterosklerotik lezyon gelişiminin tüm aşamalarında önemli ölçüde arttığı bulunmuştur (118). Çalışmamızda da ERS ve inflamasyon parametreleri benzer şekilde en yüksek oranda KAH (+) hastalarda bulunmuş, KAH(-) ve normokolesterolemik hastalarda daha düşük düzeylerde ölçülmüştür. Endoplazmik retikulum stres parametrelerinden GRP78, IRE1 $\alpha$ , CHOP, Kaspaz ve ayrıca inflamasyon parametrelerinden IL-6, TNF- $\alpha$  KAH(+) grupta KAH(-) grubuna göre (Tablo 10); GRP78, IR1 $\alpha$ , CHOP, IL-6 hiperkolesterolemik grupta normokolesterolemik gruba göre anlamlı olarak yüksekti (Tablo 11). Çalışmamızda hem KAH(+) hem de hiperkolesterolemik gruplarında inflamasyonun arttığı ve bunun da ERS artışına neden olduğu görülmektedir. Endoplazmik retikulum stres parametreleri aktive olarak UPR aktivasyonuna ve inflamatuvar mediyatörlerin tetiklenmesine sebep olmaktadır. Ayrıca çalışmamızda apoptotik hücre ölümünü gösteren Kaspaz parametresinin hem ERS hem de inflamasyon belirteçleriyle ilişkisi net bir şekilde gösterilmiştir (Tablo 24). Bu sebeple hiperkolesterolemi ve KAH durumunda ERS'nin apoptotik hücre ölümünü aktive edebileceği görülmektedir. Bu durum hiperkolesterolemiyle artan ERS'nin, apoptotik hücre ölümüne de neden olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda KAH (-) ve KAH(+) gruplarında ERS parametrelerinden olan GRP78, IRE1 $\alpha$ , CHOP ve inflamasyon parametrelerinden IL-6'nın lipid parametreleriyle korelasyonu incelendiğinde; KAH(-) grubunda TK, LDL-K ve non-HDL değerleri arasında pozitif ve anlamlı korelasyonlar bulunurken, KAH(+) grupta

benzer korelasyonlar gözlenmedi. Bu durum; KAH(+) grubu hasta sayısının az olmasından kaynaklanmış olabilir.

Aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların risk durumlarının değerlendirilmesi literatürde araştırılmaya devam eden konular arasındadır. Bizim çalışmamızda KV risk durumunu değerlendirmek için en güncel olan SCORE2 risk algoritması kullanılarak ERS parametrelerinin KV riskle ilişkisi incelendi. Önceden de bilindiği gibi KVH' da en önemli risk faktörleri sigara, yüksek kolesterol (non-HDL-K) düzeyleri yaş, hipertansiyondur ve en güncel risk değerlendirme ölçeği olan SCORE2 de bu ölçütlere göre hazırlanmıştır. Bizim çalışmamızda beklenildiği gibi SCORE2 puanı KAH (+) grubunda KAH (-) grubuna göre anlamlı yüksekti ( $p=0.0001$ ). HDL medyan değeri KAH (-) grupta KAH (+) grubuna göre anlamlı yüksek ( $p:0.022$ ) ve ateroskleroza yatkınlığı artıran TK, LDL-K, non-HDL-K medyan değerleri normokolesterolemik grupta diğer iki gruba göre anlamlı düşüktü (Tablo 9).

Önceki yıllarda ve halen mevcut yapılan çalışmalarda KV risk değerlendirmesinde yol gösterici, anlamlı marker arayışı devam etmektedir. Bu amaçla daha çok CRP ile yapılan çalışmalar karşımıza çıkmakla birlikte diğer parametrelerle beraber yapılan çalışmalar da mevcuttur. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) çalışmasında ise 1987-1989' dan itibaren izlenen 15.792 yetişkinde 19 yeni risk belirtecinin (inflamasyon, endotelial fonksiyon, fibrin oluşumu, fibrinoliz, B vitaminleri ve enfeksiyöz ajanlara karşı antikorlar) KAH ile ilişkisi değerlendirildi. Sonuçta geleneksel risk faktörlerini içeren temel risk faktörleri tekrar kanıtlandı ve CRP seviyesi önemli ölçüde katkıda bulunmadığı görülmüştür. Bakılan 19 yeni ölçütten IL-6, CRP'ye göre daha anlamlıydı (119). Bizim çalışmamızda gruplar arasında CRP düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu, bu durum KAH (+) hasta sayısının az olmasından kaynaklanmış olabilir. SCORE2 risk durumuna göre değerlendirildiğinde de gruplar arasında CRP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.

Çalışmamızda inflamasyon parametrelerinden IL-6 değeri hiperkolesterolemik grupta normokolesterolemik gruba göre; KAH(+) grupta normokolesterolemik ve hiperkolesterolemik gruba göre daha yüksek bulundu (Tablo 11). Ancak; çalışmamızda IL-6 parametresi SCORE2 risk gruplarına göre

değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık görülmedi. Bu durum da yine örneklem sayısının azlığından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda GRP78, Kaspaz ve TNF- $\alpha$  değerleri SCORE2 risk puanına göre değerlendirildiğinde; yüksek riskli grupta hem orta hem de düşük riskli gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 13). SCORE2 parametresi ile ERS parametrelerinden IRE1 $\alpha$  ve GRP78, inflamasyon parametrelerinden TNF- $\alpha$  ve lipid parametrelerinden TK, LDL-K ve non-HDL arasında pozitif korelasyonlar görüldü (Tablo 14). Bu bulgular özellikle ERS'nin, apoptoz yolağını ve inflamasyonu etkileme durumunu SCORE2'nin hafif, orta ve yüksek risk gruplandırmasında artan bir düzeyde ortaya koymaktadır. Özellikle yüksek riskli grupta bariz bir şekilde ERS koşullarının tüm yolaklar üzerinden arttığı görülmektedir. Bu nedenlerle; ERS parametrelerinin düzeylerinin artmasıyla birlikte ERS'nin KAH gelişiminde rolü olabileceği ve bu parametrelerin SCORE2 ile anlamlı korelasyon göstermeleri nedeniyle de KVH riskini değerlendirmede yardımcı bir belirteç olarak kullanılabilceği düşünüldü.

Daha önceki çalışmalarda ERS'nin kardiyak remodelling ve kalp yetmezliği (120, 121), iskemik kalp hastalığı (122), metabolik kardiyomiyopati (123-125), endotel disfonksiyonu (126-128), hipertansiyon (129-132), hiperlipidemi ve aterosklerozda (110, 111, 133) rolü gösterilmiştir (97). Serbest kolesterol birikimi gibi durumlarla tetiklenen ERS ve bununla tetiklenen inflamasyon ve apoptoz sonucu ateroskleroz ilerlemesi ve infarktüs gibi morbidite ve mortalitesi yüksek durumlar ortaya çıkmaktadır (62). Elde ettiğimiz sonuçlar ile hiperkolesterolemik ve KAH(+) bireylerde ERS'nin arttığı ve böylece UPR aktivasyonuna neden olduğu düşünülmüştür. Özellikle SCORE2 ile belirlenen yüksek riskli bireylerde ERS'nin indüklendiği, ERAD ve apoptoz yolaklarını etkilediği de görülmektedir. Bu nedenle ERS parametreleri SCORE2 ile birlikte değerlendirildiğinde yüksek riskli hastaları belirlemede kullanılabilir görünmektedir. Fakat daha büyük hasta popülasyonunun olduğu daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca önceki çalışmalara da dayanarak; ERS'yi ve uyumsuz UPR'yi hedefleyen aterosklerozun önlenmesi ve tedavisine yönelik yeni potansiyel tedavi stratejileri sunabilecek araştırmalar yapılmalıdır.

## 6. KISITLILIKLAR

Çalışmamız tek merkezli bir çalışmadır. ERS'ni etkileyen diğer faktörlerin dışlanmasından dolayı çalışmaya dahil ettiğimiz hasta sayısında ciddi kısıtlama mevcuttu. Özellikle KAH(+) hasta grubunda ERS'yi etkileyen komorbiditeler ve ilaç kullanımları yaygın olduğundan sayı oldukça düşüktü. Aynı zamanda yine ERS'yi etkileyen ilaçlar düşünüldüğünde KAH olmayan popülasyonda da aritmi veya başka kardiyak nedenlerden dolayı beta bloker kullanımı, daha önceden statin başlanmış olması veya alkol kullanımı gibi durumlar da çalışmaya dahil edilecek hastalar konusunda genel olarak kısıtlılığa neden olmuştur.



## 7. SONUÇLAR

Endoplazmik retikulum stres parametrelerinin KAH (+) hastalarda KAH (-) hastalara göre ve KAH (-) hiperkolesterolemi hastalarında normokolesterolemik hastalara göre anlamlı yüksek bulunması ERS'nin aterosklerotik KAH gelişiminde etkili olabileceği bulgusunu desteklemiştir. Ayrıca, SCORE2'ye göre sınıflanmış yüksek riskli grupta ERS parametrelerinin diğer düşük ve orta riskli gruptan anlamlı yüksek oluşu ve tüm çalışma grubunda ERS parametrelerinin SCORE2 ile anlamlı korelasyonlar göstermesi ERS parametrelerinin yüksek riskli SCORE2 grubunu belirlemede katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.



## 8. KAYNAKLAR

1. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva, World Health Organization. 2011.
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. PLoS Med. 2006; 3: e442.
3. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. European Heart Journal. 2017;38(32):2459-2472.
4. Mendis, S, Davis, S, Norrving, B. Organizational update: the world health organization global status report on noncommunicable diseases 2014; one more landmark step in the combat against stroke and vascular disease. Stroke 2015;46 (5): e121–e122.
5. Sozen E, Ozer NK. Impact of high cholesterol and endoplasmic reticulum stress on metabolic diseases: An updated mini-review. Redox Biology. 2017;12: 456-461.
6. Lemmer IL, Willemsen N, Hilal N, Bartelt A. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. Molecular metabolism. 2021;47:101169.
7. Shen, M, Wang, L, Yang G, Gao L, Wang, B, Guo X, et al. Baicalin protects the cardiomyocytes from ER stress-induced apoptosis: inhibition of CHOP through induction of endothelial nitric oxide synthase. PLoS One. 2014;9(2): e88389.
8. Xing K, Fu X, Jiang L, Wang Y, Li W, Gu X, Bi X. Cardioprotective effect of anisodamine against myocardial ischemia injury and its influence on cardiomyocytes apoptosis. Cell biochemistry and biophysics. 2015; 73(3): 707-716.
9. Shu Z, Yang Y, Yang L, Jiang H, Yu X, Wang, Y. Cardioprotective effects of dihydroquercetin against ischemia reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis via the PI3K/Akt pathway. Food & function. 2019; 10(1): 203-215.
10. Massimo F. Piepoli et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. European Heart Journal 2016;37: 2315–2381.
11. SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe. European Heart Journal 2021; 42: 2439–2454.

12. Lozano R, Naghavi M, Foreman K et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380: 2095–128.
13. Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B, Erer B, et al. On yıllık TEKHARF çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı yüksek. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*. 2001;29 (1):8-19.
14. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *The New England Journal of Medicine*. 1976;295 (7):369.
15. Wildgruper M, Swirski FK, Zernecke A. Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis. *Theranostics*. 2013; 3(11): 865–884.
16. Falk E, Fernández-Ortiz A. Role of thrombosis in atherosclerosis and its complications. *The American Journal of Cardiology*. 1995;75 (6):5B-11B.
17. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340:115-126.
18. Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. *Angiology*. 2007;58(5):513-22.
19. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*. 1995; 92:657-71.
20. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 1995;91(11):2844-50.
21. Tanrıverdi B, Savaş Tetik Ş. Aterosklerozun Patofizyolojisi ve Risk Faktörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2017;21: 1-9.
22. Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Toutouzas P, Ambrose JA. Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart*. 2003;89 (9):993-7.
23. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135–43.
24. Cominacini L, Rigoni A, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Campagnola M, Pastorino AM, Lo Cascio V, Sawamura T. The binding of oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) to oxLDL receptor-1 in endothelial cells reduces the intracellular concentration of nitric oxide through an increased production of superoxide. *J Biol Chem* 2001;276(17):13750–5.
25. Harrison DG. Endothelial function and oxidant stress. *Clin Cardiol*. 1997; 20(11 Suppl 2): II-11-7.

26. Tavafi, M. Complexity of Diabetic Nephropathy Pathogenesis and Design of Investigations. *J Renal Inj Prev.* 2013;2(2), 59-62.
27. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology.* 2006;47 (8):C7-C12.
28. Nakashima Y, Raines EW, Plump AS, Breslow JL, Ross R. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 1998;18 (5):842-51.
29. Stary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis.* 1989;9 (1 Suppl): I19-32.
30. Leitinger N. Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Current opinion in lipidology.* 2003;14 (5):421-30.
31. Özdoğu H. İnflamasyonda baş aktör endotel. *Türkiye Hematoloji Derneği (6. ilk basamak kursu), Ankara.* 2007.
32. Ball RY, Stowers EC, Burton JH, Cary NR, Skepper JN, Mitchinson MJ. Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis.* 1995;114 (1):45-54.
33. Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *British heart journal.* 1993;69 (1 Suppl): S30-7.
34. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis American Heart Association. *Circulation.* 1995;92(5):1355-13.
35. Davies MJ. *Atlas of Coronary Artery Disease, atherosclerosis.* Lippincott Raven Publishers 1998.
36. AD MB, Durrington PN: Lipoprotein (a): structure, properties and possible involvement in thrombogenesis and atherogenesis. *Atherosclerosis.* 1990; 85(1): 1–14.
37. *Koroner Arter Hastalıkları ve Cerrahisi, 2. Baskı Efil Yayınevi.* 2010; 51-9.
38. Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nat Rev Genet.* 2009;10(2):109-121.
39. Rosenson RS, Brewer HB Jr, Chapman MJ, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem.* 2011;57(3):392-410.

40. Bhagavan NV. Plasma lipoproteins. In: Medical biochemistry. 4th ed. Harcourt/Academic Pres. 2002; 429–452.
41. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88(6):1785–1792. 51
42. Kokoglu E, Suer S, Sonmez H, et al. The relationship between the electrophoretic mobility of lipoproteins and coronary heart disease. *Res commun mol pathol pharmacol.* 1996; 91(1): 109–116.
43. Zhiqi Zhang , Hongyi Wu , Tao Wang , Yao Liu , Chun Meng ' Mechanisms of Myocardial Damage Due to Hyperlipidemia: A Review of Recent Studies. *Med Sci Monit.* 2022; 28: e937051
44. TEMD (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği). Dislipidemi Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2021, 9. Baskı. Ankara.
45. Lemmer IL, Willemsen N, Hilal N, Bartelt, A. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Molecular metabolism.* 2021;47:101169.
46. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell.* 2010;140(6): 900-917.
47. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews Molecular cell biology.* 2007;8(7): 519-529.
48. Buck TM, Wright CM, Brodsky, J. L. The activities and function of molecular chaperones in the endoplasmic reticulum. In *Seminars in cell & developmental biology.* 2007;18(6): 751-761.
49. Zhao L, Ackerman SL. Endoplasmic reticulum stress in health and disease. *Current opinion in cell biology.* 2006;18(4): 444-452.
50. Ghemrawi R, Battaglia-Hsu SF, Arnold, C. Endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Cells.* 2018;7(6): 63.
51. Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *science,* 2011;334(6059): 1081-1086.
52. Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death & Differentiation.* 2004; 11(4), 381-389.
53. Yamaguchi H, Wang HG. CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry.* 2004;279(44): 45495-45502.
54. Zhang Q, Liu J, Chen S, Liu J, Liu L, Liu G, Yuan X. Caspase-12 is involved in stretch-induced apoptosis mediated endoplasmic reticulum stress. *Apoptosis,* 2016;21(4): 432-442.

55. Shen M, Wang L, Yang G, Gao L, Wang B, Guo X, et al. Baicalin protects the cardiomyocytes from ER stress-induced apoptosis: inhibition of CHOP through induction of endothelial nitric oxide synthase. *PLoS One*. 2014;9(2): e88389.
56. Hong J, Kim K, Kim JH, and Park Y. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cardiovascular Disease and Exercise. *International Journal of Vascular Medicine*. 2017; 2049217.
57. Tatar M, Tatar T. Endoplasmic Reticulum Stress and Related Diseases, *Osmangazi Journal of Medicine*. 2019; 41(3): 294-303
58. Cao SS, Kaufman RJ. Unfolded protein response. *Current biology*. 2012; 22(16): R622-26.
59. E. Thorp, G. Li, TA Seimon, G. Kuriakose, D. Ron ve I. Tabas. Reduced apoptosis and plaque necrosis in advanced atherosclerotic lesions of Apoe<sup>-/-</sup> and Ldlr<sup>-/-</sup> mice lacking CHOP. *Cell Metabolism*, 2009; 9(5): 474–481.
60. Tabas I. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in the Progression of Atherosclerosis. *Circulation Research*. 2010;107(7): 839–850.
61. Tsukano H, Gotoh T, Endo M, et. al. The endoplasmic reticulum stress-C/EBP homologous protein pathway-mediated apoptosis in macrophages contributes to the instability of atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(10): 1925–1932.
62. Gotoh T, Endo M and Oike Y. Endoplasmic Reticulum Stress-Related Inflammation and Cardiovascular Diseases. *Int J Inflam*. 2011;2011:259462.
63. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO et al. GBD-NHLBI-JACC Global Burden of Cardiovascular Diseases Writing Group. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990–2019: update from the GBD 2019 study. *J Am Coll Cardiol* 2020;76:2982– 3021.
64. GBD (Global Burden of Disease) 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*.2020;396(10258): 1204–1222.
65. Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*. 2020;(41):111-88.
66. D’Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham. Heart Study. *Circulation*. 2008;117:743-753.
67. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *European Heart Journal*. 2003;24(11):987-1003.

68. Woodward M, Brindle P, Tunstall-Pedoe H; SIGN Group on Risk Estimation. Adding social deprivation and family history to cardiovascular risk assessment: the ASSIGN score from the Scottish Heart Health Extended Cohort (SHHEC). *Heart*. 2007;93(2):172-176.
69. Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, et al. Predicting cardiovascular risk in England and Wales: prospective derivation and validation of QRISK2. *BMJ*. 2008;336(7659):1475-1482.
70. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *JAMA*. 2007;297(6):611-619.
71. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, et al. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. *Circulation* 2008;118(22):2243-2251.
72. Hajifathalian K, Ueda P, Lu Y, et al. A novel risk score to predict cardiovascular disease risk in national populations (GloboRisk): a pooled analysis of prospective cohorts and health examination surveys. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(5):339-355.
73. North BJ, Sinclair DA. The intersection between aging and cardiovascular disease. *Circ Res* 2012;110(8):1097–1108.
74. Stam-Slob MC, Visseren FLJ, Jukema J, Graaf Y. V D, Poulter NR, Gupta A et al. Personalized absolute benefit of statin treatment for primary or secondary prevention of vascular disease in individual elderly patients. *Clin Res Cardiol* 2017;106(1):58–68.
75. Wolbers M, Koller MT, Wittteman JCM, Steyerberg EW. Prognostic models with competing risks: methods and application to coronary risk prediction. *Epidemiology* 2009;20(4):555–561.
76. Hohl CM, Dankoff J, Colacone A, Afilalo M. Polypharmacy, adverse drug-related events, and potential adverse drug interactions in elderly patients presenting to an emergency department. *Ann Emerg Med* 2001;38(6):666–671.
77. Bourgeois FT, Shannon MW, Valim C, Mandl KD. Adverse drug events in the outpatient setting: an 11-year national analysis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2010; 19:901–910.
78. Dorresteijn JAN, Visseren FLJ, Ridker PM, Wassink AMJ, Paynter NP, Steyerberg EW et al. Estimating treatment effects for individual patients based on the results of randomised clinical trials. *BMJ* 2011;343:d5888.
79. Nanna MG, Peterson ED, Wojdyla D, Navar AM. The accuracy of cardiovascular pooled cohort risk estimates in U.S. older adults. *J Gen Intern Med* 2020;35: 1701–1708.

80. Field TS, Gurwitz JH, Harrold LR, Rothschild J, DeBellis KR, Seger AC et al. Risk factors for adverse drug events among older adults in the ambulatory setting. *J Am Geriatr Soc* 2004;52(8):1349–1354.
81. SCORE2-OP working group and ESC Cardiovascular risk collaboration. SCORE2-OP risk prediction algorithms: estimating incident cardiovascular event risk in older persons in four geographical risk regions. *Eur Heart J*. 2021 Jul 1;42(25):2455-2467.
82. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37(12):1595-1607.
83. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA et al. Harmonizing the Metabolic syndrome. *Circ* 2009;120: 1640-1645.
84. Onat A, Sansoy V, Soydan I, Tokgozoglul L, Adalet K (2000). Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, Risk Profili ve Kalp Hastalığı. İstanbul: Ohan Matb.
85. Onat A, Can G, Yüksel H, Ademoğlu E, Erginel-Ünaltuna N, Kaya A, ALTAY S (2017). TEKHARF 2017 Tıp Dünyasının Kronik Hastalıklara Yaklaşımına Öncülük. İstanbul
86. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circ*. 2005;112(7): 2735-2752.
87. Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(2): 399-404.
88. National Institutes of Health. ATP III guidelines at-a-glance quick desk reference. NIH Publication, 2001;01-3305.
89. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (2019). Obezite tanı ve tedavi kılavuzu. Ankara.
90. Alberti KGM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *The Lancet*. 2005;366(9491): 1059-1062.
91. Zhang C, He S, Li Y, Li F, Liu Z, Liu J, et al. Bisoprolol protects myocardium cells against ischemia/reperfusion injury by attenuating unfolded protein response in rats. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 11859.
92. Liu MQ, Chen Z, Chen LX. Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol. Sin* 2016; 37 (4): 425.

93. Cnop M, Toivonen S, Igoillo-Esteve M, Salpea P. Endoplasmic reticulum stress and eIF2 $\alpha$  phosphorylation: The Achilles heel of pancreatic  $\beta$  cells. *Mol Metab.* 2017 Jul 12;6(9):1024-1039.
94. Kawasaki N, Asada R, Saito A, Kanemoto S, Imaizumi K. Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes chronic inflammation in adipose tissue. *Sci Rep.* 2012;2:799.
95. Amirkhizi F, Siassi F, Djalali M, Shahraki SH. Impaired enzymatic antioxidant defense in erythrocytes of women with general and abdominal obesity. *Obes Res Clin Pract.* 2014 Jan-Feb;8(1):e26-34.
96. Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol.* 2011 Apr;54(4):795-809.
97. Ren J, Bi Y, Sowers JR, Hetz C, Zhang Y. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in cardiovascular diseases. *Nat Rev Cardiol.* 2021 Jul;18(7):499-521.
98. Sugeno N, Takeda A, Hasegawa T, Kobayashi M, Kikuchi A, Mori F, Wakabayashi K, Itoyama Y. Serine 129 phosphorylation of alpha-synuclein induces unfolded protein response-mediated cell death. *J Biol Chem.* 2008 Aug 22;283(34):23179-88.
99. Lee JH, Won SM, Suh J, Son SJ, Moon GJ et al. Induction of the unfolded protein response and cell death pathway in Alzheimer's disease, but not in aged Tg2576 mice. *Exp Mol Med.* 2010 May 31;42(5):386-94.
100. Prasanthi JR, Larson T, Schommer J, Ghribi O. Silencing GADD153/CHOP gene expression protects against Alzheimer's disease-like pathology induced by 27-hydroxycholesterol in rabbit hippocampus. *PLoS One.* 2011;6(10):e26420.
101. Karademir B, Corek C, Ozer NK. Endoplasmic reticulum stress and proteasomal system in amyotrophic lateral sclerosis. *Free Radic Biol Med.* 2015 Nov;88(Pt A):42-50.
102. Romero-Ramirez L, Cao H, Regalado MP, Kambham N, Siemann D, Kim JJ et al.
103. X box-binding protein 1 regulates angiogenesis in human pancreatic adenocarcinomas. *Transl Oncol.* 2009 Mar;2(1):31-8.
104. Li X, Zhang K, Li Z. Unfolded protein response in cancer: the physician's perspective. *J Hematol Oncol.* 2011; Feb 23;4:8.
105. Mohan S, R PRM, Brown L, Ayyappan P, G RK. Endoplasmic reticulum stress: A master regulator of metabolic syndrome. *Eur J Pharmacol.* 2019 Oct 5;860:172553.

106. Piperi C, Adamopoulos C, Dalagiorgou G, Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Crosstalk between advanced glycation and endoplasmic reticulum stress: emerging therapeutic targeting for metabolic diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jul;97(7):2231-42.
107. Zhang C, Syed TW, Liu R, Yu J. Role of Endoplasmic Reticulum Stress, Autophagy, and Inflammation in Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med.* 2017 May 12;4:29.
108. S McAlpine CJ, Bowes AH, Werstuck G. Diabetes, hyperglycemia and accelerated atherosclerosis: evidence supporting a role for endoplasmic reticulum (ER) stress signaling. *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders).* 2010; 10(2): 151-157.
109. Hotamisligil, G. S. Endoplasmic reticulum stress and atherosclerosis. *Nature medicine,* 2010;16(4): 396-399.
110. Dickhout JG, Carlisle RE, Austin RC. Interrelationship between cardiac hypertrophy, heart failure, and chronic kidney disease: endoplasmic reticulum stress as a mediator of pathogenesis. *Circ. Res.* 2011;108(5):629–642.
111. Yang, M. Y. et al. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 slows down the progression of atherosclerosis via attenuation of ER stress and apoptosis in smooth muscle cells. *Acta Pharmacol. Sin.* 2018;39(1): 48–58.
112. Myoishi, M. et al. Increased endoplasmic reticulum stress in atherosclerotic plaques associated with acute coronary syndrome. *Circulation* 2017;116(11): 1226–1233.
113. Zahid, M. D. K. et al. CCAAT/enhancer-binding protein beta (C/EBP $\beta$ ) knockdown reduces inflammation, ER stress, and apoptosis, and promotes autophagy in oxLDL-treated RAW264.7 macrophage cells. *Mol. Cell. Biochem.* 2020; 463(1-2): 211–223.
114. Liang CP, Han S, Li G, Tabas I, Tall AR. Impaired MEK signaling and SERCA expression promote ER stress and apoptosis in insulin-resistant macrophages and are reversed by exenatide treatment. *Diabetes.* 2012;61(10): 2609–262.
115. Tabas I, García-Cardena G, Owens, GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *Journal of Cell Biology.* 2015;209(1):13-22.
116. Gupta S, Kass GE, Szegezdi E, Joseph B. The mitochondrial death pathway: a promising therapeutic target in diseases. *J Cell Mol Med.* 2009;13(6): 1004-33.
117. DeVries-Seimon T, Li Y, Yao PM, Stone E, Wang Y, Davis RJ et al. Cholesterol-induced macrophage apoptosis requires ER stress pathways and engagement of the type A scavenger receptor. *The Journal of Cell Biology.* 2005;171(1):61–73.

118. Mozzini C, Fratta Pasini A, Garbin U, Stranieri C, Pasini A et al. Increased endoplasmic reticulum stress and Nrf2 repression in peripheral blood mononuclear cells of patients with stable coronary artery disease. *Free Radic Biol Med.* 2014;68:178-85.
119. Zhou J, Lhoták S, Hilditch BA, Austin RC. Activation of the unfolded protein response occurs at all stages of atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2005;111(14):1814-182.
120. Aaron R. Folsom, MD et al. An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the atherosclerosis risk in communities study PMID. *Arch Intern Med.* 2006;166(13):1368-73.
121. Ni, L. et al.  $\beta$ -AR blockers suppresses ER stress in cardiac hypertrophy and heart failure. *PLoS ONE.* 2011;6:e27294.
122. Ortega, A. et al. Endoplasmic reticulum stress induces different molecular structural alterations in human dilated and ischemic cardiomyopathy. *PLoS ONE* 2014;9: 107635.
123. Wang X, Xu L, Gillette TG, Jiang X, Wang ZV. The unfolded protein response in ischemic heart disease. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2018;117:19–25.
124. Yang L, Zhao D, Ren J, Yang J. Endoplasmic reticulum stress and protein quality control in diabetic cardiomyopathy. *Biochim. Biophys. Acta* 2015;1852: 209–218.
125. Pei Z, et al. Inhibition of advanced glycation endproduct (AGE) rescues against streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy: role of autophagy and ER stress. *Toxicol. Lett.* 2018;284:10–20.
126. Xia Z, Zhang Y, Ren, J. Endoplasmic reticulum stress and metabolic syndrome: mechanisms and therapeutic potential. *Acta Neuropharmacol.* 2012;2: 33–4.
127. Battson ML, Lee DM, Gentile CL. Endoplasmic reticulum stress and the development of endothelial dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2017;31: H355–H367.
128. Hua L. et al. Sphingomyelin synthase 2 promotes endothelial dysfunction by inducing endoplasmic reticulum stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20: 2861.
129. Luchetti, F. et al. Secosterol-B affects endoplasmic reticulum structure in endothelial cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2019;190: 234–241.
130. Ochoa CD, Wu RF, Terada LS. ROS signaling and ER stress in cardiovascular disease. *Mol. Asp. Med.* 2018;63:18–29.

131. Liu, G. et al. Inactivation of Cys (674) in SERCA2 increases BP by inducing endoplasmic reticulum stress and soluble epoxide hydrolase. *Br. J. Pharmacol.* 2019;177: 1793–1805.
132. Liu, L. et al. Berberine improves endothelial function by inhibiting endoplasmic reticulum stress in the carotid arteries of spontaneously hypertensive rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015;458: 796–801.
133. Kassan, M. et al. Endoplasmic reticulum stress is involved in cardiac damage and vascular endothelial dysfunction in hypertensive mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012;32:1652–1661.
134. Liao, X. et al. Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis. *Cell Metab.* 2012 Apr 4;15(4):545-53.

