

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA
ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN VE
OKSİDATİF STRESİN
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dr. KAMİL TUZGÖL

Tez Danışmanı
Prof. Dr. AYSEL ARICIOĞLU

ANKARA

Şubat 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA
ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN VE
OKSİDATİF STRESİN
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dr. KAMİL TUZGÖL

Tez Danışmanı
Prof. Dr. AYSEL ARICIOĞLU

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2009-03 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

Şubat 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08 /03/ 2012

İmza

Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu

Gazi Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Aysel Anıoğlu

Gazi Üniversitesi

İmza

Prof. Dr. Nedret Kılıç

Gazi Üniversitesi

İmza

Prof. Dr. Mehmet Rıdvan Yalçın

Gazi Üniversitesi

İmza

Prof. Dr. Kadirhan Sunguroğlu

Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ.....	V
TABLolar DİZİNİ.....	VII
KISALTMALAR	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Koroner Arter Hastalığı	4
2.1.1.Koroner Arterlerin Anatomisi	6
2.1.2.Normal Vasküler Yapı	7
2.1.2.1. İntima Tabakası.....	7
2.1.2.2. Medya Tabakası.....	8
2.1.2.3. Adventisya Tabakası	9
2.1.3.Endotelin Yapısı Ve Fonksiyonları	10
2.1.4. Ateroskleroz ve Etyopatogenezi.....	14
2.1.4.1.Aterosklerotik koroner arter hastalığı için bilinen risk faktörleri.....	16
2.1.4.2.Aterosklerozun gelişim evreleri.....	18
2.2.ADMA (ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN)	22
2.2.1. ADMA'nın oluşum mekanizmaları.....	23
2.2.2. ADMA ve SDMA'nın Vücuttan Atılması	25
2.2.3. ADMA ve Oksidatif Stres ile İlişkisi	25
2.2.4. ADMA'nın Endotel ve Kardiyovasküler Sistem İle İlişkisi	27
2.3. OKSİDE LDL VE PLAZMA LİPOPROTEİNLERİ	29
2.3.1.Plazma Lipoproteinleri Hakkında Genel Bilgi	29
2.3.1.1. Plazma Lipoproteinlerinin Bileşimi	30
2.3.1.2.Şilomikronlar	31
2.3.1.3.Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (VLDL).....	32
2.3.1.4. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL)	32
2.3.1.4.1. LDL'nin hücre içine alınması.....	34
2.3.1.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)	36
2.3.1.6. Lipoprotein (a)	37
2.3.2. OKSİDE LDL	38

2.3.2.1. LDL Oksidasyonunun Mekanizması	39
2.3.2.2. Makrofaj Scavenger Reseptörleri (Okside LDL Reseptörleri).....	41
2.3.2.3. LDL'nin Okside LDL'ye Dönüşümü	42
2.3.2.4. Okside LDL'nin Makrofaj Üzerindeki Bağlanma Bölgeleri	42
2.3.2.5. Aterosklerozda immünopatogenez ve Okside LDL Antikoru	43
2.3.2.6. Ox-LDL'nin aterojenik proinflamatuvar özellikleri	46
2.3.2.7. Okside LDL Proinflamatuvar Mediatorlerin Makrofajlardan Sekresyonunu İndükler.....	47
2.4.OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER.....	49
2.4.1. Serbest Radikaller	50
2.4.1.1. Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler	51
2.4.1.2. Serbest Oksijen Radikalleri Ve Reaktif Oksijen Türleri.....	52
2.4.1.3. Süperoksid Radikali.....	55
2.4.1.4. Hidrojen Peroksid	57
2.4.1.5. Hidroksil Radikali.....	58
2.4.1.6. Singlet Oksijen	59
2.5.LİPİD PEROKSİDASYONU VE MALONDİALDEHİD	62
2.5.1. Malondialdehid	62
3. GEREÇ ve YÖNTEM	66
3.1.Çalışmaya Alınacak Hastaların ve Hasta Gruplarının Belirlenmesi	66
3.1.2. Anjiyografi işlemi	67
3.1.2.1. Koroner anjiyografi	67
3.1.3. Hastaların çalışmaya alınma kriterleri.....	68
3.1.4. Hastaların çalışmaya alınmama kriterleri.....	68
3.1.5. Kanların alınması ve serumların hazırlanması	68
3.1.5. Hasta Takip ve Muayene Formu.....	69
3.2 Çalışmada Uygulanan Deneyler	70
3.2.1. Deneylerde Kullanılan Araçlar ve Reaktifler.....	70
3.3 Yöntem.....	71
3.3.1. ADMA'nın HPLC yöntemiyle ölçümü	71
3.3.1.1. ADMA'nın HPLC Parametreleri	72
3.3.1.2. Analitik Prosedür	73
3.3.2. MDA'nın HPLC yöntemiyle ölçümü.....	75

3.3.2.1. MDA Kolon Özellikleri.....	76
3.3.4. Okside LDL'nin Elisa Yöntemi İle Ölçümü	77
3.3.5. MDA'nın TBARS Yöntemiyle Ölçümü	80
3.3.5.1. MDA'nın TBARS Yöntemiyle Tayininde Kullanılan Reaktifler.....	80
3.3.5.2.MDA'nın Standart Grafiği.....	81
3.4. İstatistik Analizler	82
4. BULGULAR	83
4.1. Koroner Arterleri Normal Saptanan, Minimal Koroner Arter ve Ciddi Koroner Arter Hastalığı olan Bireylerde ADMA Seviyeleri.....	83
4.2. Normal Koroner Arter, Minimal Koroner Arter ve İleri Koroner Arter Hastalığı olan Hastalarda MDA Seviyeleri	86
4.3. ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve OKSİDE LDL'nin Gensini Skoruna Göre Üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi.....	88
4.4. ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve OKSİDE LDL'nin Gensini Skoruna Göre İki Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi	92
4.5. Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna Göre Üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi	94
4.5.1. Hasta Gruplarının Yaş Açısından Değerlendirilmesi	96
4.5.2. Hasta Gruplarının Boy Açısından Değerlendirilmesi	97
4.5.3.Hasta Gruplarının Kilo Açısından Değerlendirilmesi	98
4.5.4. Hasta Gruplarının BUN Açısından Değerlendirilmesi.....	99
4.5.5. Hasta Gruplarının Ürik Asit Açısından Değerlendirilmesi	100
4.5.6. Hasta Gruplarının GGT Değerleri Açısından Değerlendirilmesi	101
4.5.7.Hasta Gruplarının Kreatinin Açısından Değerlendirilmesi	103
4.5.8.Hasta Gruplarının Total Kolesterol Açısından Değerlendirilmesi.....	104
4.5.9. Hasta Gruplarının LDL Açısından Değerlendirilmesi.....	106
4.6. Hasta Grupları ile Değişkenlerin Değerlendirilmesi.....	107
4.6.1.Hasta Grupları Arasında Cinsiyet Dağılımı	108
4.6.2. Hasta Grupları Arasında Sigara Kullanım Durumu Dağılımı	110
4.6.2. Hasta Grupları Arasında Statin Kullanım Durumu Dağılımı	111
4.7. Ox-LDL'nin Statin Kullanım Durumuna Göre Değerlendirilmesi.....	112
4.8. Statin kullanımının hasta grupları arasında değerlendirilmesi.....	114
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	119
6.ÖZET	127

7.SUMMARY	129
8.KAYNAKÇA.....	131
9.TEŞEKKÜR	157
10.ÖZGEÇMİŞ	158
11.EKLER.....	159
11.1.ETİK KURUL RAPORU	159

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ

Şekil 1: Damar duvarı	8
Şekil 2: Koroner arterlerde ateroskleroz gelişimindeki patojenik olaylar	15
Şekil 3: Stary sınıflaması	20
Şekil 4: Argininin formülü	22
Şekil 5: Endojen Üretilen Arjinin Rezidüleri	23
Şekil 6: Arjinin'in metilasyonu	24
Şekil 7: ADMA ile NO üretiminin düzenlenmesi	26
Şekil 8: Lipoprotein Yapısı	30
Şekil 9 : LDL'nin biyokimyasal yapısı ve içeriğinde bulunan moleküller	33
Şekil 10: LDL reseptörü	34
Şekil 11: Kolesterolün reseptör aracılı endositozla hücre içine alınması	35
Şekil 12: LDL'nin oksidasyonunun hücresel mekanizması	40
Şekil 13: Ox-LDL ve Köpük Hücre, Makrofajlarda SR-A ve SR-B reseptörleri	43
Şekil 14: Oksidan ve antioksidan sistem	49
Şekil 15 Nitrik oksit ve kardiyovasküler patofizyolojisinde Peroksinitritin Rolü	56
Şekil 16: Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu	63
Şekil 17: Ox-LDL Standart absorbans konsantrasyon grafiği	79
Şekil 18: MDA'nın Standart Grafiği	81
Şekil 19: Ciddi KAH'ı olan hastaya ait ADMA-SDMA kromotogramı	84
Şekil 20: NKA Saptanan Bir Kişiye ait ADMA-SDMA Kromotogramı	85
Şekil 21: NKA saptanan bir hastanın MDA HPLC ölçüm Kromotogramı	86
Şekil 22: Ciddi KAH saptanan Hastada MDA HPLC Kromotogramı	87
Şekil 23 : Hasta grupları açısından SDMA değerlerinin grafik ile gösterimi.	89
Şekil 24 : Hasta grupları açısından ADMA'nın değerinin grafik ile gösterimi	89
Şekil 25 : Hasta gruplarında MDA HPLC değerlerinin grafik ile gösterimi.	90
Şekil 26 : Hasta gruplarında MDA SPK değerlerinin grafik ile gösterimi	90
Şekil 27: Hasta grupları açısından Ox-LDL değerlerinin grafik ile gösterimi.	91
Şekil 28: BMI Gruplarına Göre Ölçüm Değerleri Ortalaması	91
Şekil 29: Cinsiyete Göre Ölçüm Değerleri Ortalaması	92
Şekil 30: Yaş ortalamasının hasta gruplarına göre değerlendirilmesi	96
Şekil 31: Boy uzunluğuna göre hasta gruplarının değerlendirilmesi	97
Şekil 32: Hasta gruplarına göre Kilo Ortalamasının Değerlendirilmesi	98
Şekil 33: Hasta Gruplarına göre BUN değerlendirilmesi	99
Şekil 34: Hasta gruplarına göre Ürik Asit değerlendirilmesi	100
Şekil 35: Hasta grupları göre GGT ortalamasının değerlendirilmesi	101
Şekil 36: Hasta Grupları arasında Kreatinin'in değerlendirilmesi	103
Şekil 37: Hasta Gruplarına Göre TK Değerleri Ortalaması	104
Şekil 38: Hasta Gruplarına Göre LDL değerleri	106
Şekil 39: Hasta Grupları Arasında Cinsiyet Dağılımı	108
Şekil 40: Hasta Grupları Arasında Sigara Kullanım Durumu Dağılımı	110
Şekil 41: Hasta Grupları Arasında Statin Kullanım Durumu Dağılımı	111

Şekil 42: BMI Gruplarına göre Ox-LDL Ölçüm Değerleri Ortalaması.....	113
Şekil 43: Cinsiyete Göre Ox-LDL Ölçüm Değerleri Ortalaması	113
Şekil 44: Statin kullanımının hasta grupları arasında değerlendirilmesi	114

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Endotel hücrelerinden salgılanan maddeler	12
Tablo 2: Aterosklerotik koroner arter hastalığı için bilinen risk faktörleri	17
Tablo 3: Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri	54
Tablo 4: ADMA Kitinin İçeriği	71
Tablo 5: ADMA'nın HPLC Parametreleri	72
Tablo 6: ADMA'nın çalışma prosedürü	73
Tablo 7: MDA Kit içeriği	75
Tablo 8: MDA Metod Parametreleri	75
Tablo 9: MDA Numune Hazırlama	76
Tablo 10: Ox-LDL Elisa Testi Uygulama Aşamaları	78
Tablo 11: Beş Farklı Standarttan Elde Edilen Ox-LDL Absorbansları	79
Tablo 12: MDA ölçümünün aşamaları	81
Tablo 13: ADMA, MDA HPLC, SPK ve Ox- LDL Gensini değerlendirilmesi I.....	88
Tablo 14: ADMA, MDA HPLC, SPK ve Ox-LDL değerlendirilmesi II	92
Tablo 15: Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna göre üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi I	94
Tablo 16: Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna göre üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi II	102
Tablo 17: Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna göre üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi III	105
Tablo 18 : Hasta grupları ile değişkenlerin değerlendirilmesi	107
Tablo 19 : Hastalık grupları ile değişkenlerin değerlendirilmesi.....	109
Tablo 20 : Ox-LDL değeri için statin kullanımına göre değerlendirilmesi.....	112
Tablo 21: Statin kullanımının hasta grupları arasında değerlendirilmesi	114
Tablo 22: ADMA ölçüm değerinin, SDMA, MDA HPLC, MDA SPK ve Ox-LDL ölçüm değeri ile Korelasyonu	115
Tablo 23 : MDA HPLC ölçüm değerinin, MDA SPK, ADMA, SDMA ve Ox-LDL ölçüm değeri ile Korelasyonu	115
Tablo 24: SDMA'nın ADMA, MDA HPLC, SPK ve Ox-LDL ile Korelasyonu	116
Tablo 25: Ox-LDL ölçüm değerinin ADMA, SDMA ve MDA ölçüm değerleri ile Korelasyonu	117
Tablo 26: Gensini skor değeri ile SDMA, ADMA, MDA-HPLC, MDA SPK ve Ox-LDL ölçüm değerleri arasında Korelasyon.....	117
Tablo 27: MDA Spektrofotometrik Ölçüm Değeri ile MDA HPLC Ölçüm Değeri Arasındaki İstatistikî İlişki.....	118

KISALTMALAR

NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
ADMA	: Asimetrik dimetilarginin
SDMA	: Simetrik dimetilarginin
MDA	: Malondialdehid
Ox-LDL	: Okside Düşük Dansiteli Lipoprotein
MDA HPLC	: MDA'nın Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi ile ölçümü
MDA SPK	: MDA'nın Spektrofotometrik Yöntem ile Ölçüm Değeri
KAH	: Koroner arter hastalığı
ONOO-	: Peroksinitrit
PAİ-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
O₂	: Süperoksit
SAM	: S-adenozil metiyonin
SAH	: S-adenozil homosistein
PRMT	: Protein arjinin metil transferaz
EDRF	: Endotel kökenli gevşetici faktör
L-NMMA	: Monometil-L-arginin
L-NAME	: Nitro-L-arginin metil ester
DDAH	: Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
SAM	: S-adenozil metyonin
SAH	: S-adenozil homosistein
MCSF	: Makrofaj Koloni Stimüle Eden Faktör
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü-alfa
PGI₂	: Prostasiklin
TXA₂	: Tromboksan A ₂
IL-1	: İnterlökin 1
IL-8	: İnterlökin 8
ICAM-1	: İnterselüler adezyon molekülü-1
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
HL	: Hepatik Lipaz
PAF	: Platelet (trombosit) aktive edici faktör
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein-1
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
LPL	: Lipoprotein Lipaz
MSR	: Makrofaj scavenger reseptörleri

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Aterosklerotik koroner arter hastalığı, sanayileşmiş ülkelerde morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenidir. Ve endotelial disfonksiyon aterosklerozun habercisi bir fenomen olarak kabul edilir.¹ Ateroskleroz endotel disfonksiyonu, vasküler inflamasyon ve lipid kolesterol birikmesi ile karakterize arterleri tutan bir hastalıktır.² Aterosklerotik koroner arter hastalığı bir veya daha fazla koroner arteri tutabilir. Her yıl bu hastalık nedeniyle üç milyondan fazla erkek ve kadın hayatını kaybetmektedir. ³

Dünya sağlık örgütüne göre, yakın gelecekte dünyanın önde gelen mortalite nedeni olmaya devam edeceği⁴ ve ölüm nedenleri listesinde, 2020 yılında birinci sırayı alacağı bildirilmektedir.⁵ 1970'lerden günümüze kadar aterosklerozun oluşumu ve ilerlemesinin nasıl olduğunun anlaşılması giderek artmıştır. 1973 yılında, Ross ve Glomaser 23 koroner ateroskleroz vakasının arter duvarında endotelial yaralanma ile başladığını önermiştir. Risk faktörleri tarafından etkilenen vasküler endotel, kademeli olarak fizyolojik koruyucu fonksiyonunu kaybeder ve aterosklerozun ilerlemesine neden olur. ⁶

Ateroskleroz oluşumunda etkili olan çeşitli moleküler mekanizmaların araştırılması sonucunda aterosklerotik plak oluşum sürecindeki asıl etkenlerin lipidlerin ve kolesterolün arter duvarında birikmesinden daha çok, kompleks mekanizmalarla meydana gelen bir enflamatuar sürecin olayın zemininde yer aldığı bildirilmektedir. ^{7,8}

Endojen nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü asimetrik dimetilarjinin'in (ADMA) endotel disfonksiyonu ile ilişkisine ait kanıtlar bulunmaktadır.⁹ Artmış plazma ADMA konsantrasyonlarının hipertansiyon,¹⁰ hiperlipidemi,¹¹ hiperhomosisteinemi,¹² koroner arter hastalığı,¹³ periferik arter hastalığı,¹⁴ konjestif kalp yetmezliği,¹⁵ inme,¹⁶ pulmoner hipertansiyon¹⁷ ve son dönem böbrek hastalığı ile ilişkisi gösterilmiştir.¹⁸ Ayrıca artmış ADMA konsantrasyonlarının kronik böbrek yetmezliği hastalarında¹⁹ ve akut koroner sendromlarda¹³ mortaliteyi belirlediği bildirilmiştir.

ADMA vasküler hasara nitrik oksit (NO) miktarlarını azaltarak ve süper oksit düzeylerini artırarak neden oluyor gibi görünmektedir. ADMA'nın protein arjinin metil transferaz (PMRT) enzimi ile yapımı sağlanırken dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile yıkımı yapılmaktadır. Aynı zamanda ADMA'nın kendisinde, L-arjinin'den endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığı ile oluşan güçlü bir vazodilatatör olan NO sentezinde e-NOS'u (-) feed back etkisi ile etkilemekte ve dolayısı ile NO miktarında azalmaya neden olmaktadır. ADMA'nın yapısal bir izomeri olan simetrik dimetilarginin (SDMA) ise L-arginin ile rekabet etmesine rağmen biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir.^{8, 20, 21}

Düşük dansiteli lipoprotein'in (LDL) lipid peroksidasyon süreci ile oluşan okside LDL (Ox-LDL), hem ADMA sentezini sağlayan PMRT enzimini indüklemekte hemde ADMA yıkımını gerçekleştiren DDAH enzimini inhibe ederek ADMA düzeylerini artırmakta böylelikle indirekt yoldan NO sentezini azaltmaktadır.^{20, 21, 22, 198}

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehid'in (MDA) de oksidatif stresin bir belirtici olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.^{207, 208, 209}

Bu çalışma ile amacımız Ox-LDL, MDA, SDMA ve ADMA'nın koroner anjiyografi sonrası, koroner arter hastalığı tanısı alan hastalar ve normal koroner arter tanısı alan kişilerde bu parametrelerin hem birbirleri ile ilgili ilişkilerinin hem de gruplar arası ilişkilerinin incelenmesi planlanmıştır. Bu ilişkilerin çalışmamızla incelenmesinin ateroskleroz ve koroner arter hastalığının daha iyi anlaşılmasına ve aterosklerozun oluşumunun önlenmesiyle, tedavisi sürecinde bilime olumlu katkılar sağlayacağı görüşündeyiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Koroner Arter Hastalığı

Aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH), dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur.²³ Dünya Sağlık Örgütü'ne göre yakın gelecekte de dünyanın önde gelen mortalite nedeni olmaya devam edecektir.²⁴

1960'lardan beri kalp ve damar hastalıklarının tespitinde ve yönetiminde çarpıcı ilerlemelere rağmen, 1998 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık bir milyon erkek ve kadın kalp ve damar hastalıklarından hayatını kaybetmiştir. Her yıl tahmini olarak 12 milyon kişinin koroner kalp hastalığına yakalandığı ve 650.000'den fazla kişinin de ilk kez miyokard infarktüsü geçirdiği bilinmektedir.²⁵

Ülkemizde ise TEKHARF Çalışması'nın 2009'da yayınladığı verilere göre; yaklaşık 3.1 milyon koroner kalp hastasının bulunduğu ve bu sayının yılda %6.4 arttığı, yılda 190 bin yurttaşımızın da koroner kalp hastalığından öldüğü tahmin edilmektedir.

Fatal ve fatal olmayan koroner olaylar için çoğu metabolik sendromun öncesi olan önemli bağımsız etkenler olarak her iki cinsiyette hipertansiyon, diyabet, abdominal obezite, kompleman C3 ve CRP ile erkekte sigara içimi, trigliseridler ve düşük HDL-kolesterol, kadında da fibrinojen belirmiştir.

Halkımızda koroner mortalite, 45-74 yaş kesimi karşılaştırılınca Avrupa ülkeleri arasında en yüksek seviyelerdedir. Koroner morbidite ile mortalitenin her yıl %5 oranında yükseldiği tahmin edilmektedir. Nüfusumuz gelişmekte olan toplumlardaki gibi genç yapıdayken, halkımızdaki koroner hastalık mortalitesinin, yaşlı nüfus yapısına sahip gelişmiş toplumlardaki kadar yüksek olması, hem günümüz, hem de gelecek için kaygı vericidir.²⁶

2010 Ekim ayında gerçekleştirilen TEKHARF taramasının verilerinde ise; Sınırlı 45-74 yaş kesiminde meydana gelen tüm nedenli ve KKH kökenli ölümler, cinsiyet dağılımına göre ve takip süresi dikkate alınmak suretiyle irdelenerek bu yaş kesimindeki ölümler, yılda bin kişide 13.0 (erkeklerde 16.6, kadında 9.6) düzeyinde saptanmıştır.

1990 yılından beri yapılmakta olan bu çalışmanın ele aldığı onar yıllık iki dönem arasında 45-74 yaş kesiminde koroner mortalitedeki gerileme (bin kişi-yılında 6.3'ten 5.1'e) %20'den ibaret olduğu gözlenmiştir. Avrupa'nın hem Doğu, hem de Kuzey ülkelerinin birçoğunda, on yıl öncesine göre KKH mortalitesinde önemli azalmaların kaydedildiği ifade edilen çalışma verilerine göre; Avrupa ülkelerinde ortalama olarak KKH ölüm oranının halen bin kişi yılında erkeklerde 2.3, kadında 0.72 bulunduğu göz önüne alındığında, ülkemizdeki koroner mortalite üç kat yüksek olmaya devam ettiği ve koroner mortalitedeki gerçekleşen az miktardaki bu gerilemenin yeterli olmadığı vurgulanmıştır.²⁷

2.1.1.Koroner Arterlerin Anatomisi

Koroner arterler, aort ile miyokard içindeki kapiller yatak arasındaki damar yollarıdır. Sağ ve sol iki büyük koroner arter vardır. Koroner arterlerin ostiumları, sağ ve sol sinüs Valsalva'da, sinotübüler bileşkenin hemen kaudalinde yerleşmiş durumdadır. Ascendan aortanın oblik duruşu nedeniyle, sol koroner arter çıkışına göre sağ koroner arter ostiumunun yaklaşık 1 cm daha kaudal yerleşimlidir.

Sol ana koroner arter (LMCA): Sol sinüs valsalva'dan çıkar. Sol atriyum apendiksi ile pulmoner arter arası olukta, birkaç mm ile birkaç cm arası değişen uzunluklarda seyredip, sol ön inen arter (left anterior descending artery, LAD) ve sol sirkumfleks artere (left circumflex artery, LCx) ayrılarak sonlanır. Ana koroner arter, seyri boyunca, nadiren çok küçük çaplı bazı damarlar verebilir.

Sol Sirkumfleks Arter (LCx arteri): LAD arterinin aksine, neredeyse dik bir açı ile LMCA'dan ayrılır ve atriyoventriküler oluk boyunca kalbin sol yan ve arka yüzüne doğru ilerler. Damarın uzunluğu ve beslediği alan, bireyler arasında belirgin farklılıklar gösterebilmekle beraber, sol ventrikül kütesinin %15- 25'ini kanlandığı söylenebilir. Seyri sırasında 1-3 adet yan dal LCx'ten ayrılarak sol ventrikül yan duvarı üzerinde anterior doğrultuda ilerler.

Sol Ön İnen Koroner Arter (LAD): Sıklıkla LMCA ile aynı doğrultuda devamlılığını sürdürerek, pulmoner konusun etrafından sağ ve

sol ventrikül arasındaki ön interventriküler oluğa ulaşır ve bu olukta, interventriküler septumun önünde ilerler

Sağ koroner arter (RCA): Sağ sinüs Valsalva'dan çıkışından sonra, atriyoventriküler (A-V) oluk boyunca sağ ventrikül etrafında ilerler. Sağ ventrikülü ve sol ventrikülün %25-35'ini kanlandırır. ²⁸

2.1.2.Normal Vasküler Yapı

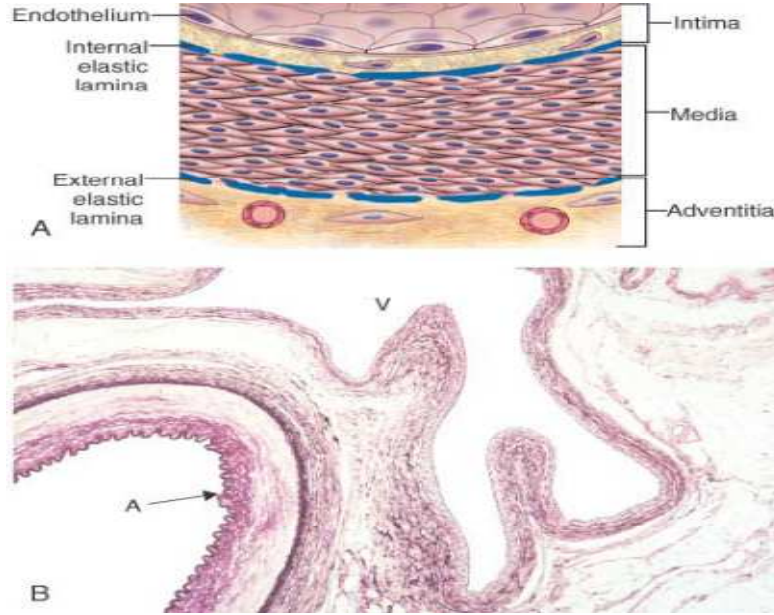
Normal bir arter duvarının histolojik olarak incelenmesinde üç tabakanın olduğu saptanmıştır. Bu tabakalar intima, medya ve adventisiya tabakalarıdır.

2.1.2.1. İntima Tabakası:

İntima tabakası, lümene bakan yüzde tek katlı endotel hücre dizisi altında bu hücre dizisinin oturduğu bazal lamina ve gevşek fibroelastik bağ dokusundan oluşan bir tabakadır. Tek katlı endotel, tip-4 kollajen gibi fibriler olmayan kollajen tiplerini, laminin, fibronektin ve diğer ekstraselüler matriks moleküllerini içeren bir bazal lamina üzerine oturur. Endotel altı tabakanın en dış sınırını, elastik lifçiklerin yoğunlaşması ile meydana gelen membrana elastika interna oluşturur.

Doğumda sadece birkaç mikrometrelik bir kalınlığa sahip olan intima tabakası, yaşam boyunca, tip-1 ve tip-3 gibi fibriler kollajen doku, proteoglikanlar ve mezenşim hücrelerinin birikmesiyle, giderek

kalınlaşır. Mezenşim hücreleri “modifiye” düz kas hücrelerine benzerler ve fibroblastlar gibi görev yaparlar.



Şekil 1: Damar duvarı. A.Küçük bir kas arter (Örneğin böbrek veya koroner arter) kesitinin grafik gösterimi. B. Histolojik bölümleri gösteren bir mikrofotoğraf. Resimde arterin bir kısmı (A) ve yanındaki ven (V) görülmekte.²⁹

2.1.2.2. Medya Tabakası:

Medya tabakası arter duvarının en kalın tabakasıdır. Arterlerde en fazla bulunan hücre tipi olan düz kas hücrelerinin tamamına yakını bu tabakada yer alır. Düz kas hücreleri, aktin ve miyozin filamentlerini içeren, uzun, iğ şeklinde hücrelerdir. Kontraktil yapıda aktin filamentleri baskındır, ancak, bu yapı, çizgili kaslarda olduğu gibi sarkomere sahip değildir. Bu nedenle, düz kas hücreleri çizgili kas hücreleri kadar güçlü kasılamazlar.

Düz kas hücrelerinin kasılması damar tonüsü değişimleriyle sınırlıdır. Düz kas tonüsü, endotel tarafından salgılanan mediyatörler, çevre doku tarafından üretilen metabolitler, otonom sinir sistemi (sempatik sinir sonlanımları) ve dolaşan mediyatörlerin etkileri gibi çeşitli mekanizmalarca düzenlenir. Düz kas hücreleri, aterom plaklarının oluşumunda ve komplike olmalarında rol almalarının yanı sıra, fibroblast benzeri hücrelere dönüşerek, hemeostazda önemli rol oynayan ekstraselüler matriksi de sentezlerler.

2.1.2.3. Adventisya Tabakası:

Adventisya tabakasının arter hemeostazı ve hastalıklarındaki potansiyel rolü, daha fazla anlaşılmaya başlanmıştır. İntima tabakasına göre daha gevşek diziliimli kollajen fibriller içeren adventisya tabakası, en iç kısmında kollajen ve elastinden zengin fibröz bir bağ dokusu yapısında iken, dışa doğru gevşek bağ dokusu özelliği kazanırlar. Adventisya, intima ve medya tabakalarına göre, seyrek bir hücre dağılımına sahiptir. Adventisya en dış kısmında vaza vazorum ve sempatik sinir sonlanımları bulundururken, iç kısımlarında fibroblastlar, mast hücreleri ve adipositleri içerirler.

Normal bir arterde medyanın iç kısmı ve intima damarsız iken, aterosklerozda intimaya kadar yayılan yeni damar oluşumu söz konusudur. Damar duvarında, makrofajlar ve lenfositler de bulunur. Makrofajlar, normal arter duvarının miktarca az ama önemli hücreleridirler. Kandaki monositlerden kaynaklanırlar. Muhtemelen hem lüminal

endotelde hem de vazo vazorumlarda lökosit adezyon molekülleri ile etkileşerek endotele girerler. Böylece intima ve adventisiya tabakalarında yerleşirler. T lenfositler intima ve adventisiyada, B lenfositler ise büyük oranda adventisiyada bulunurlar. Lenfositler dolaşımdaki antijenlerle etkileşerek immün aktivasyon gösterirler. Arter duvarına girerler ve arter duvarındaki lenf damarları yoluyla da arter çevresindeki lenf nodlarına taşınırlar.³⁰

2.1.3.Endotelin Yapısı Ve Fonksiyonları

Endotel damar duvarını döşeyen tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşan ve kanın dokulara geçmesini önleyerek bir bariyer görevi gören bir yapıdır. Endotel bu bariyer görevinin dışında vasküler hemeostazın oluşumunda ve devamlılığının sağlanmasında önemli bir görev üstlenmektedir. Özellikle vazodilatatör ve vazokonstriktör maddelerin yapımında görev alır ve vasküler hemeostazın sürdürülmesini sağlayarak adeta küçük bir endokrin organ gibi fonksiyon görür.³¹

Son yıllarda, endotelin, kan damarlarının içini döşeyen pasif bir iç astar olmadığı çok açık bir şekilde anlaşılmıştır. Endotelin kapladığı alana bakacak olursak çok büyük bir yüzeye takabül eder.

Yaklaşık olarak 350 m²'lik bir alanı kaplayan endotelin nispeten daha küçük bir toplam kütlesi vardır. Bu ise yaklaşık olarak 100 gr'dır. Bu büyük yüzey ve nispeten daha küçük toplam kütlesi ile endotel perfüzyonun regülasyonu, sıvı ve solüt değişimi, hemostaz ve koagülasyon düzenlenmesi, inflamatuvar tepkiler, vaskülogenezis ve

anjioenez de dahil olmak üzere kardiyovasküler sistemin hayati fonksiyonlarında aktif olarak yer almaktadır.³²

Vasküler endotel hücreleri vazodilatatör molekül nitrik oksit (NO) ve vazokonstriktör peptit endotelin (ET) dahil olmak üzere, bir dizi güçlü vazoaktif ajanları üreterek kardiyovasküler sistemin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Endotelial disfonksiyon aterosklerotik sürecin ilk adımı olarak kabul edilmektedir.³³ Aterotromboz için bazı risk faktörleri, diabetes mellitus, sigara, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi, damarsal oksidatif reaksiyonlar ve endotel disfonksiyonu olarak sayılabilir.³⁴

Vasküler dengenin en önemli düzenleyicisi olarak endotel bir dizi vazoprediktif etkileri uygular. Bunları kısaca ifade edecek olursak vazodilatasyon, düz kas hücre büyümesinin süpresyonu ve inflamatuvar yanıtların inhibisyonu şeklinde özetleyebiliriz.³⁵

Endotel kan damarlarının lümeninde makromoleküler bir bariyer olarak görev yaparken bir yandan da kan akımına karşı trombozistans bir yüzey görevi görür. Son 20 yılda endotelin trombosit agregasyonu ve koagülasyon düzenlenmesi, neovasküler büyüme ve inflamasyonun modülasyonu, vagal tonusun regülasyonu gibi görevleri de tanımlanmıştır.³³

Kısaca endotelin üç önemli işlevi vardır; bunlar kan doku geçirgenliğini belirlemek, damar tonusunu kontrol etmek ve hemostaz ile ilgili olarak damar yüzey özelliklerini düzenlemektir.

Tablo 1: Endotel hücrelerinden salgılanan maddeler ³⁶

1- Vazokonstriktörler				
• Angiotensin converting enzim (ACE) • Endotelinler (ET-1, ET-2, ET-3) • Angiotensin II • Tromboksan A2 • Asetil kolin, araşidonik asit, PGH2, trombin, nikotin				
2- Vazodilatatörler				
• Nitrikoksit (NO=EDRF) • Adrenomedüllin • Endotelium derived hiperpolarizing faktörler • Prostatiklin (PGI2) • Bradikinin, asetilkolin, serotonin, histamin, substance P				
3- Antitrombotik (homeostaz) maddeler				
• Trombomodülin • Doku plazminojen aktivatör (t-PA) • Plazminojen aktivatör inhibitör tip I (PAI-1)				
4- Büyüme modülatör / mediatörleri				
<table><tr><td>a) Büyüme promotörleri</td><td>b) Büyüme inhibitörleri</td></tr><tr><td> • PDGF • Basic FGF • IGF-1 • IL-1 • Endotelin </td><td> • Heparin sülfat • TGF-β • NO • Bradikinin • Prostatiklin </td></tr></table>	a) Büyüme promotörleri	b) Büyüme inhibitörleri	• PDGF • Basic FGF • IGF-1 • IL-1 • Endotelin	• Heparin sülfat • TGF-β • NO • Bradikinin • Prostatiklin
a) Büyüme promotörleri	b) Büyüme inhibitörleri			
• PDGF • Basic FGF • IGF-1 • IL-1 • Endotelin	• Heparin sülfat • TGF-β • NO • Bradikinin • Prostatiklin			
5- İnflamatuvar mediatörler				
<i>Adezyon molekülleri;</i>				
• Endotelyal Lökosit Adezyon Molekülü (ELAM) • İntraselüler Adezyon Molekülü (ICAM) • Vasküler Hücre Adezyon Molekülleri (VCAM)				
<i>Antijenler ;</i> • Major histokompatibilite kompleks 2 (MHCII)				

Endotelin geçirgenliği, moleküllerin büyüklüğüne ve fiziko-kimyasal özelliklerine bağlıdır. Damar tonüsünü ise, düz kas hücrelerinin kasılma düzeyleri belirler. Endotel, bir kısım vazoaaktif mediyatörler salarak, düz kas tonüsünü kontrol eder. Bu mediyatörlerden nitrik oksit (NO) endotelyal bir enzim olan nitrik oksit sentaz aracılığıyla L-argininden üretilir. NO vasküler tonüsü azaltarak vazodilatasyona yol açar. Endotelden salınan endotelin-1 ve anjiyotensin-2 ise, düz kas hücrelerini kasarak vazokonstrüksiyona neden olurlar.

Endotel yüzeyi, trombosit aktivasyon ve yapışmasını, pıhtılaşmayı ve fibrin erimesini düzenleyen faktörler içermektedir. Bunlar trombosit aktive edici faktör, von willebrand faktörü, trombosit yapışması ile ilgili P-selektin ve E-selektin gibi yüzey molekülleri, trombomodülin ve heparan sülfat gibi pıhtılaşmayı düzenleyen faktörler, plazminojen aktivatörleri gibi fibrin erimesini düzenleyen faktörler ve onların inhibitörü olan plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAİ-1) gibi faktörlerdir.

Prostasiklin (PGI₂), trombosit agregasyonunun güçlü bir inhibitörü olan vazodilatatör etkili biyoaktif bir lipittir. Trombositler tarafından üretilen ve trombosit agregasyonunu uyaran tromboksan A₂ (TXA₂) ise, vazokonstriktör bir etkiye sahiptir. PGI₂ ve TXA₂ arasındaki denge, endotelde trombosit mikrotrombüslerinin oluşup oluşmayacağını belirler. Normal şartlar altında PGI₂ baskındır ve trombüs oluşumunu önler.

Endotel hücreleri, E-selektin ve interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi lökosit adezyon moleküllerinin, monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve interlökin-8 (İL-8) gibi lökosit toplayıcı

kemokinlerin, interlökin-1 (İL-1) gibi immün hücreleri aktive edebilen sitokinlerin çoğalmasını sağlayarak, damar yüzeyinin inflamatuvar özelliklerini kontrol eder.³⁰

Endotelin normal fonksiyonlarının devamlılığındaki herhangi bir aksaklık endotel disfonksiyonu olarak ifade edilir ve bu durum ateroskleroz ve hiperlipidemi, diyabet, hipertansiyon gibi başka birçok durumla ilişkili olduğu için önemlidir.^{37, 38}

2.1.4. Ateroskleroz ve Etyopatogenezi

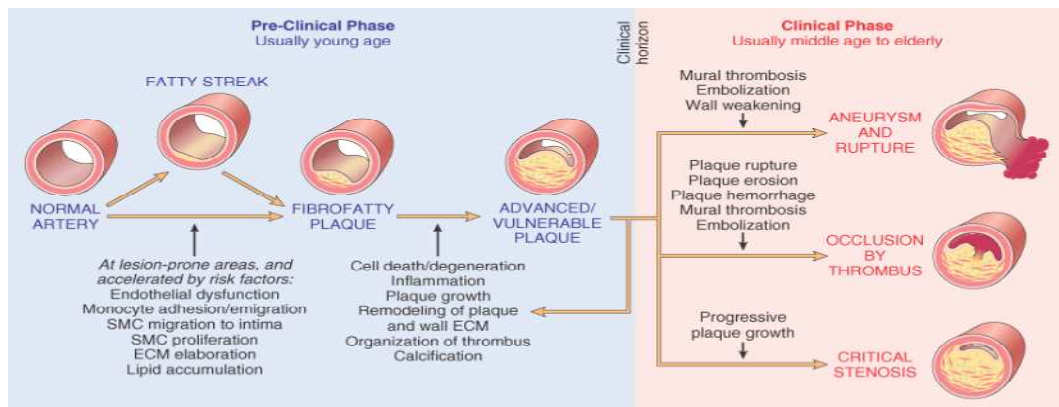
Ateroskleroz arterleri tutan bir hastalıktır ve endotel disfonksiyonu ile karakterizedir. Endotel disfonksiyonu, vasküler inflamasyon, lipid birikmesi, kolesterol, kalsiyum ve damar duvarının intima tabakasının içinde hücrel enkaz ile karakterizedir. Vasküler endotelde NO biyoyararlanımını azaltarak ateroskleroz gelişimini kolaylaştıran bir dizi risk faktörleri tespit edilmiştir.³⁹

Ateroskleroz, koroner arterlerle birlikte bütün küçük, orta boy ve büyük arterleri tutabilir, aterosklerozun başlangıcı çocukluk yaşlarından itibaren baslar fakat erken dönemde damar lümeninde tıkanıklık oluşturmadığı için bulgu vermez. Klinik bulgular, daha çok erkeklerde 40 kadınlarda ise 50'li yaşlardan sonra plağın iyice gelişip lümeni tıkaması ve komplike hale gelmesi ile kendini gösterir. Ateroskleroz, damar lümeninin değil, damar duvarının inflamatuvar bir hastalığıdır.^{40, 41}

Endotel disfonksiyonu, koroner arter hastalığı (KAH) ile birlikte gözlenen bir durumdur, hem koroner hemde perik vasküler

yapıların ikisinde de birlikte gözlenmektedir. Ayrıca koroner arter hastalığı için risk faktörleri neredeyse evrensel olarak insanlarda gözlenen endotelial disfonksiyonun bir derecesi ile ilişkili olmuştur. Özellikle süperoksit ve süperoksitten üretilmiş radikallerden oluşan reaktif oksijen türlerinin artan üretimi, koroner arter hastalığının hayvan modellerinde endotel disfonksiyonu ile ilişkili olmuştur ve insanda oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu arasındaki bağlantının kanıtları her geçen gün daha da artmıştır.⁴²

Aterosklerozun oluşum mekanizması incelendiğinde damar duvarında meydana gelen inflammatuar olayların ve oksidatif stres bileşenlerinin hastalığın patogeneziindeki en önemli rolü oynadıkları ve birçok faktöründe bu sürece etki ettiği söylenebilir. Genetik faktörler, yaşam tarzını oluşturan beslenme şekli ve egzersizin hastalığın oluşumuna etki ettiği düşünülmektedir. Bu faktörlerin özellikle oksidatif stres, inflamasyon ve yine hastalığın oluşumuna etki eden lipid değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Okside LDL ilerlemiş koroner arter hastalığı ve vücuttaki oksidatif stresin bir belirtisi olarak birçok çalışma tarafından bildirilmiştir.^{43, 44}



Şekil 2: Koroner arterlerde ateroskleroz gelişimindeki patojenik olaylar ve morfolojik özellikleri ile oluşan komplikasyonlar²⁹

2.1.4.1.Aterosklerotik koroner arter hastalığı için bilinen risk faktörleri:

Framingham çalışması ile koroner arter hastalıklarında ortaya konan risk faktörleri geleneksel risk faktörleri olarak isimlendirilmiştir. Bu risk faktörlerinin ortadan kaldırılmasının kardiyovasküler hastalığın ilerleyişini azalttığı belirlenmiştir.⁴⁵

Framingham çalışmasının 1961'de altı yıllık takip sonuçları yayınlandığında, prematür aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için risk faktörleri konsepti belirlenmiştir. Risk faktörü kişilerde, hastalığın gelişme şansını belirleyen bir özelliktir. Bir hastalık sebebi de olabilirler.

Klinik çalışmalarla, risk faktörlerinin modifikasyonunun hastalığı önlediği (primer önleme) veya geriletmediği (sekonder önleme) gösterilmiştir.^{46, 47}

Aterosklerozun, kökeninde oksidatif ve inflamatuvar bileşenlerin major rol oynadığı karmaşık, multifaktöriyel bir hastalık olduğu bilinmektedir. Özellikle beslenme ve egzersiz olmak üzere yaşam tarzı ve çevresel faktörler ve aynı şekilde genetik faktörler, bu anormal oksidatif ve inflamatuvar bileşenlerden ve hastalıkla ilişkili lipid anormalliklerinden sorumlu görülmektedir. Yerleşmiş koroner kalp hastalığı (KKH) ve kanda oksidatif stresin tanımlanmış bir biyobelirteci olan artmış okside LDL (oxLDL) arasındaki yakın ilişki, çok sayıda araştırma grubu tarafından iyi tespit edilmiştir.⁴⁸

Tablo 2: Aterosklerotik koroner arter hastalığı için bilinen risk faktörleri.^{46, 47}

<u>Değiştirilemeyen bireysel özellikler olarak</u>
• Yaş, • Cinsiyet, • Ailede erken koroner arter hastalığı öyküsü (erkek<55, kadın<45), • Özgeçmişinde koroner arter hastalığı öyküsü,
<u>Biyokimyasal ve fizyolojik özellikler olarak</u>
• Plazma total kolesterol ve LDL-kolesterol yüksekliği, • Hipertansiyon, • Plazma HDL- kolesterol düşüklüğü, • Plazma trigliserit düzeyi yüksekliği, • DM, • Obezite, • Trombojenik faktörler
<u>Yaşam tarzı;</u>
• Aterojenik beslenme (hayvansal ve doymuş yağ, kolesterol, kalori), • Sigara kullanımı, • Aşırı alkol tüketimi, • Sedanter hayat
<u>Diğer risk faktörleri olarak ise;</u>
• Homosistein düzeyi yüksekliği, • Lipoprotein(a), • Fibrinojen, • FaktörVIII, • Antitrombin III, • Kan antioksidan düşüklüğü (vitC, E) sayılabilir.

Aterosklerotik plak olusumunun altında yatan moleküler mekanizmaların araştırılması, hastalık olusum sürecinin, kolesterol ve lipidlerin arteriyel duvarlarda birikmesinden öte, belirgin bir inflamatuvar yanıtın yer aldığı kompleks mekanizmalar içerdiğini ortaya koymuştur.^{49, 50}

Aterosklerotik plağın (ateroma) gelişiminde en az altı temel süreç bulunmaktadır ve bu süreçlerin her biri muhtemel terapik hedef olduğu bilinmektedir. Bunlar; Monosit girişini, büyüme faktörlerini salgılayan mikrotrombi ve platelet tutunmasını sağlayan, endotelial astarın hasar görmesi, LDL ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) kalıntı partiküllerinin subendotelial boşluğuna aktif ve pasif olarak taşınması ve ardından lipit peroksidasyonu, monositlerin okside olmuş LDL alan makrofajlara dönüştürülmesi ve toplanmış yağlarla birleşen lipit yüklü köpük hücrelere dönüştürülmesi, inflamatuvar T lenfosit yanıtı ve düz kas hücrelerinin intimal katmana sürüklenmesi ve kontraktilden sekretuar fonksiyona geçmesi için uyaran sitokin ve kemotaktik proteinlerin salınması, kollajen, fibrin ve kalsifikasyondan matriks skeleton sağlayan düz kas hücreleri ve fibroblastlar, kolesterol ve diğer lipidlerin salınmasıyla oluşan lipit havuzu sonucu köpük hücrelerinin ani ölümü veya sindirilmesi şeklinde sıralanmaktadır.⁵¹

2.1.4.2.Aterosklerozun gelişim evreleri

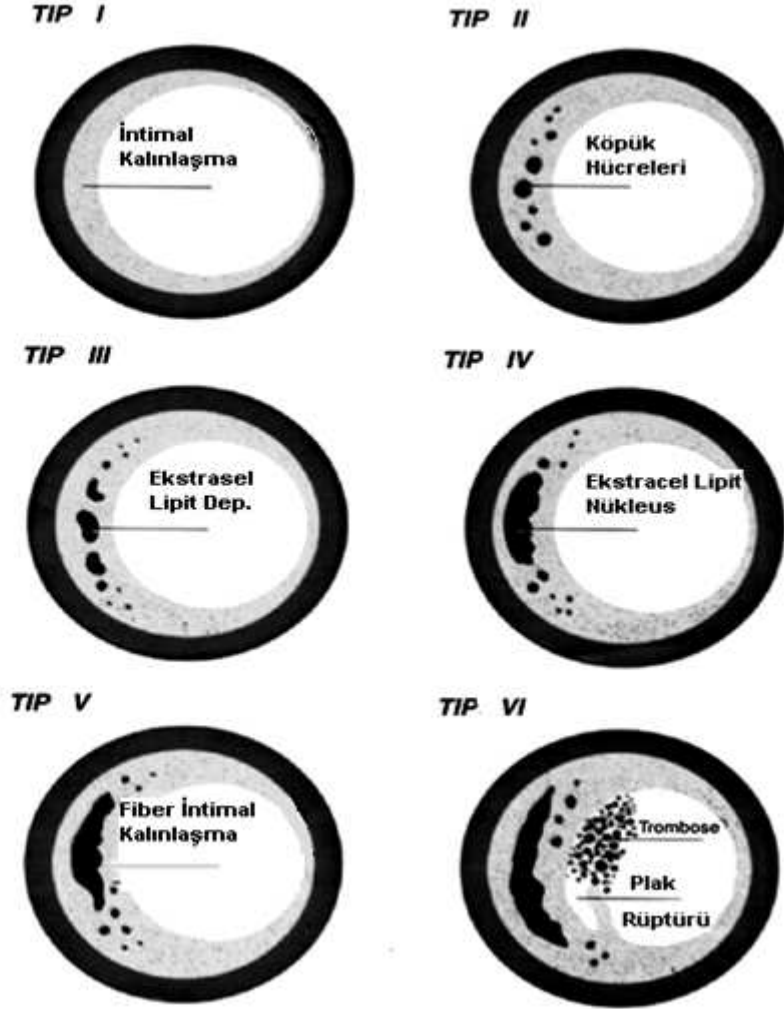
Genetik faktörler ve çevresel etkenlerle oluşabilen aterosklerozun gelişim aşamalarında üç evre mevcuttur.

1. Yağlı Çizgilenme: Aterosklerozun oluşum aşamalarından en erken olan aşamadır. Damar yüzeyinde herhangi bir darlığa yol

açmayacak şekilde hafif bir kabarıklık şeklindedir. Mikroskopik yapısında makrofaj kaynaklı köpük hücreleri mevcuttur.

2. Fibröz Plak: Yağlı çizgilenme aşamasında olmayan damar lümenindeki daralma bu aşamada kısmen oluşmaya başlamıştır. Büyürken kolesterol miktarını artıran lezyonda düz kas hücrelerinin de varlığı gözlenir. Lezyonda gözlenen bu düz kas yapıları ekstrasellüler matriks sentezlerler. Bu aşamada klinik semptomlar damar lümenindeki daralmanın başlaması ile görülmeye başlar
3. Komplike lezyon: Bu aşama ilerlemiş lezyonun olduğu aşamadır. Plak yapısı bu aşamada fissüre veya rüptüre olabilir ve bunun sonucunda trombüs yapısı oluşarak bu aşamaya ve asıl klinik olaylara neden olur.

Plağın yapısı ve içeriği aterosklerotik lezyonların klinik olaylara yol açabilme potansiyelini oluşturur. Aterosklerotik plağın inflamatuvar komponenti fazla ve lipid yönünden zengin ise ayrıca düz kas çatısı ince ise rüptüre olmaya ve klinik durumların oluşumuna daha fazla neden olabilmektedir. Mevcut olan risk faktörlerine yönelik düzeltici çabalar bu plakların daha stabil davranmalarına neden olabilmektedir.⁵²



Şekil 3: Sary ve ark.'nın aterosklerozun gelişimini histolojik olarak altı tipe ayırarak tasniflediği şekilden adapte edilerek.^{53, 54}

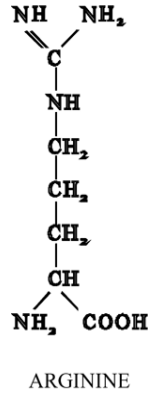
Aterosklerozun histolojik olarak sınıflaması (Sary Sınıflaması) ise özellikle Amerikan Kalp Birliği Damar Lezyonları Kurulu tarafından son şekli verilmiştir. Bu sınıflamaya göre lezyonların ilerleme süreci 8 farklı evreye çıkarılarak incelenmektedir.

Bu sınıflamaya göre:

- Tip 1 Lezyon: En erken lezyondur. 3 yaşın altındaki çocuklarda gözlenmiştir. Minör lipid birikimi ve seyrek makrofaj kökenli köpük hücreleri vardır.
- Tip 2 Lezyon: Köpük hücreler daha fazladır ve yağlı çizgilenmeyi oluştururlar. Az miktarda T hücreleri, mast hücreleri ve lipidle dolu düz kas hücreleri vardır. Tip2a ve 2b olmak üzere 2 alt grubu vardır. Tip 2a genellikle lezyon gelişimine meyilli olan bölgelerde bulunurlar. Tip 2b ise nadiren daha ileri plaklara dönüşürler.
- Tip 3 lezyon: Aterosklerotik plak veya aterom olarak tanımlanan ilk safhayı yansıtır. Küçük ekstrasellüler lipid depozitleri mevcuttur.
- Tip 4 Lezyon: Ekstrasellüler lipid miktarı artmış ve hücreden yoksun bir kolesterol havuzu oluşmuştur. Lipid çekirdeği inflamatuvar hücreler tarafından çevrelenmiş ve ince bir düz kas hücre tabakası ve bağ dokusu ile kaplanmıştır. Genellikle yarım ay şeklindedir ve damar duvarının kalınlığını artırır. Genellikle klinik olarak sessizdirler, ancak hızla semptomlara yol açan yırtılma potansiyelleri vardır.
- Tip 5 Lezyon: Lipid çekirdeği kaplayan fibröz dokuda artış ile karakterizedir. Yırtılmaya eğilimli tip 5 lezyonlarda tipik olarak ince bir fibröz tabaka vardır.
- Tip 6 Lezyon: Trombotik depozitler içeren plaklardır. Tip 6 lezyon gelişiminin temel nedeni plak yırtılmasıdır ve subendotelyal fibröz dokuda fissürler, erozyonlar ve ülserler sık olarak gözlenir. Akut myokard infarktüsü ve karasız angina pectoris gibi klinik olaylar genellikle Tip 6 lezyona bağlıdır.
- Tip 7 ve 8 Lezyonlar: En ileri evredeki bu lezyonların lipid içeriği boşalmıştır. Tip 7'de duvar tamamen kalsifiye olmuştur. Tip 8'de duvar tamamen kollajenden oluşup fibröz doku ile kaplanmıştır.⁵⁵

2.2.ADMA (ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN)

Arjinin: İlk olarak Hedin tarafından 1895'te bulunmuş olan arginin pozitif yüklü (bazik) R gruplu bir amino asittir (şekil 4). Nötral pH'ta guanidyum grubu içeren bir proton alıcısı olup, polar özellik taşımakta proteinlerin yüzeyinde yerleşmektedir. Moleküler formülü $C_6H_{12}N_4O_2$, sembolik kısaltması Arg veya R (aRginin) olan bu amino asidin molekül ağırlığı 174 daltonudur. D ve L arginin olarak varolan iki formundan proteinlerde bulunan L-arginindir.



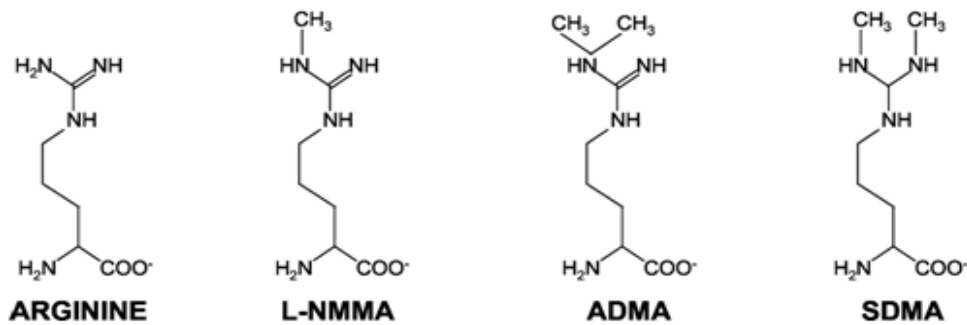
Şekil 4: Argininin formülü ⁵⁶

1988 yılında Salvador Moncadonun L-argininin endotel kökenli nitrik oksidin (NO) prekürsörü olduğunu açıklamasından sonra kardiyovasküler homeostazda NOS yolağının kritik rolü giderek önem kazanmıştır. NO ve poliaminlerin prekürsörü olan, endojen büyüme hormonu sekresyonunu uyarıcı, yara iyileşmesi ve immunolojik açıdan olumlu etkileri olan, argininin biyokimyası karmaşık olup pek çok ana metabolik yolak ve organ sistemini kapsar. ⁵⁶

ADMA ve SDMA'nın ikisinde birlikte diyet proteinleride dahil olmak üzere metil proteinlerin proteolizinden kaynaklanmaktadır. Proteinlerdeki Arjinin rezidüleri protein arjinin metil transferaz (PMRT) ile postranslasyonel modifikasyona uğrarlar. Vücutta daha farklı metillenmiş arjinin bileşikleri de bulunmaktadır. Bu bileşikler bir ya da iki metil grubunun arjinine eklenmesi sonucunda meydana gelmektedirler.

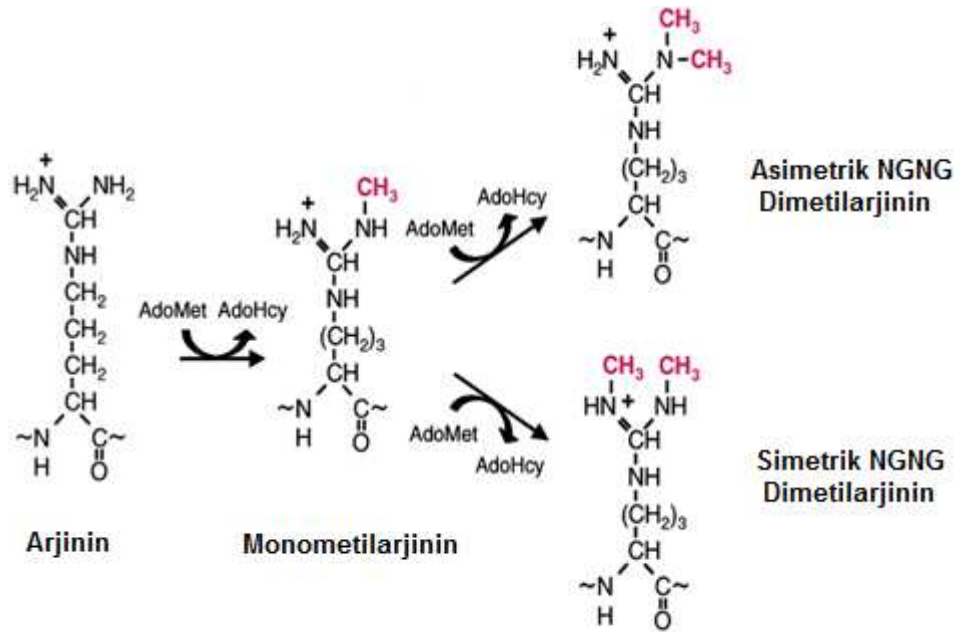
2.2.1. ADMA' nın oluşum mekanizmaları;

Metile arjinin proteinlerin proteolizi, sitoplazmada serbest metilarjininleri (monometil-L-Arjinin veya MMA, ADMA ve SDMA) serbest bırakır. ADMA, L-Arjininin guanidino analogudur ve endojen olarak sentezlenen, proteinlerdeki arjinin rezidülerinin PRMT I ile metillenmesiyle meydana gelen bir türev aminoasittir. PRMT II ise SDMA oluşumunda rol oynar. Bu artıkları temizleme mekanizmaları farklıdır. MMA ve ADMA hücre içi enzimlerin bir sınıfı olan dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) tarafından sitrülün ve metilaminlere dönüştürülürken SDMA ise daha fazla metabolize olmadan böbrek tarafından temizlenir.^{57, 58}



Şekil 5: Endojen Üretilen Arjinin Rezidüleri⁵⁸

Metilarjininlerin ökaryotlarda üç ana formu tespit edilmiştir. Bunlar Monometil arjinin (MMA), Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) ve Simetrik Dimetil Arjinin (SDMA)'dir. ADMA, sitrülün ve dimetilamine dimetil arjinin dimetil aminohidrolaz (DDAH) tarafından hidrolize edilirken, L-NMMA (L-N^G-monomethyl Arginine citrate), sitrulin ve monometilamine hidrolize edilmektedir. Asimetrik olarak metillenen arjininler (ADMA ve L-NMMA) NOS'un inhibitörüdür. Bununla birlikte SDMA ise NOS'un inhibitörü değildir. ADMA NOS'un üç tipinde L-NMMA ile yaklaşık olarak eşit güçte olacak şekilde inhibe eder.⁵⁹



Şekil 6: Arjinin'in metilasyonu, reaksiyonda S-adenozil metiyonin metil donörüdür. Ve sonunda S-adenozil homosisteine dönüşür.⁵⁸

2.2.2. ADMA ve SDMA'nın Vücuttan Atılması

ADMA ve onun inaktif izomeri olan SDMA, böbrekler yoluyla vücuttan atılır fakat ADMA'nın farklı olarak %10'luk kısmı böbrekler yoluyla uzaklaştırılırken, geriye kalan %90'lık kısım ise dimetil arjinin dimetil aminohidrolaz (DDAH) tarafından metabolize edilmektedir.

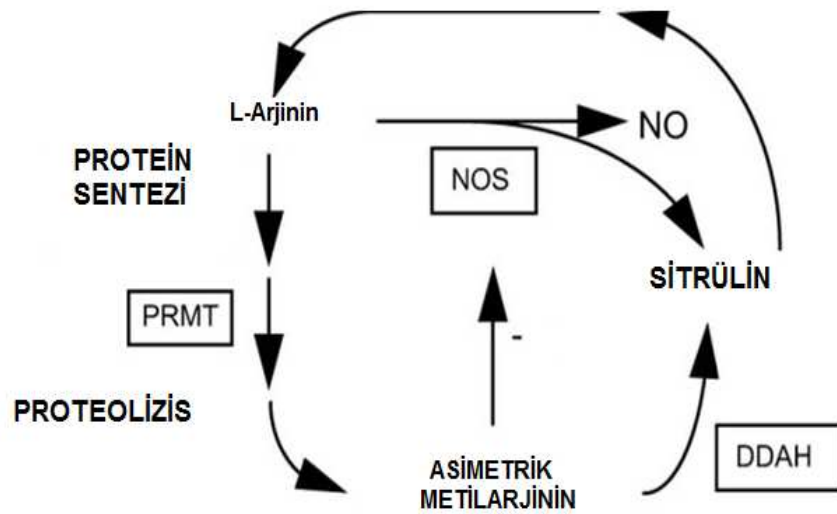
DDAH enziminin iki tipi bulunmaktadır. Tip 1 DDAH aktivitesi böbrekte ve beyinde fazlayken, tip 2 DDAH aktivitesi kalpte, plasentada ve böbrekte oldukça fazla bulunmaktadır. ADMA'nın DDAH tarafından metabolize edilmesi sonucunda sitrülün ve dimetilamin oluşmaktadır. SDMA'ya ise DDAH etki etmemektedir ve bu nedenle SDMA fazla metabolize olmadan böbrek tarafından vücuttan temizlenir.^{57, 60}

2.2.3. ADMA ve Oksidatif Stres ile İlişkisi

Vücutta oksidatif stresin arttığı durumlarda ADMA düzeylerinde artış meydana gelir. ADMA düzeylerindeki bu artış DDAH enzim aktivitesindeki azalmaya bağlı olabilir. Aktivitenin azalmasında DDAH'ın aktif bölgesinde bulunan sisteinin yükseltgenmesi önemlidir. Bu yükseltgenme NO tarafından gerçekleştirilmekte ve böylece aktivitesi geri dönüşümlü olarak azaltılabilmektedir. İndüklenebilir NOS (iNOS) aktivitesi inflamasyonda çok artar ve NO çok fazla miktarda üretilir. Üretilen NO süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) radikalleriyle birleşip peroksinitrite ($ONOO^-$) dönüşür ve NO'nun yarılanma ömrünü azaltır. Peroksinitrit oluşumu süperoksit dismutazın (SOD) süperoksit radikallerini yakalamasından daha hızlı gelişmektedir. Peroksinitritte DDAH'ın aktif bölgesine bağlanarak aktivitesini azaltır, böylece ADMA miktarında artışa ve NO düzeylerinde

azalmaya yol açar. Oksidatif stres ADMA yapımında rol alan enzimlerin aktivitelerini değiştirerek ADMA miktarlarında değişime yol açmaktadır. PRMT aktivitesi reaktif oksijen türleriyle artırılır ve ADMA düzeyleri artar.⁶⁰

Bir aminoasit olan L-arginin, sitrülün ve NO'ya endotel kökenli bir enzim olan NO sentaz (NOS) tarafından dönüştürülür. Bu süreç geleneksel kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkili olduğu bilinen endojen molekül ADMA tarafından inhibe edilir. Daha açık bir şekilde ifade edilecek olursa ADMA, NO Sentazı inhibe etmektedir.^{61, 62}



Şekil 7: ADMA ile NO üretiminin düzenlenmesi⁶²

2.2.4. ADMA'nın Endotel ve Kardiyovasküler Sistem İle İlişkisi

Bir endojen molekül olan ve kardiyovasküler hastalıkların risk faktörleri ile ilişkili olduğu bilinen ADMA, karotis arterlerinde ateroskleroza olan hastalarda yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda ADMA miktarlarının hiperkolesterolemik hastalarda da yüksek olduğu saptanmıştır.^{63, 8, 10}

Risk faktörlerinden hiperkolesterolemisi olan hastalarda saptanan ADMA seviyesindeki artıştan, özellikle ADMA'nın metabolize olmasını sağlayan enzim olan (DDAH) aktivitesindeki azalmanın sorumlu olduğu düşünülmektedir.⁶⁴

L-arjinin'in bir türevi olan ve vücutta doğal olarak sentez edilerek plazmada dolaşan ADMA bir aminoasittir ve ADMA, NOS üzerinde inhibitör etkisi ile "bozulmuş endotel fonksiyonuna" katkıda bulunduğu bilinmektedir.^{65, 62}

Klinik ve deneysel çalışmalar DDAH/ADMA/NOS yolu ve kalp damar hastalıkları arasında ilişki olduğunu göstermiştir.⁶⁶ Yine klinik ve deneysel çalışmalar dimetilarjininlerin insülin direnci ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkide önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.^{65, 67}

Ayrıca ADMA seçilmiş hasta popülasyonunda kardiyovasküler olaylar ve ölümün güçlü bir belirleyicisi olarak tarif edilmiştir.^{68, 69} ADMA kronik böbrek hastalığının ilerlemesinin izlenmesinde

de bir marker olarak belirlenmişken ^{70, 71} ADMA'nın yapısal izomeri olan SDMA hücre içine taşınmasında arjinin ile rekabet etmesine rağmen biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir.⁷²

Ayrıca SDMA böbrek fonksiyonunun güvenilir bir göstergesidir ve bu nedenle, kronik böbrek hastalığının çok erken safhalarda tespitinde özellikle GFR ile güvenilir klinik bilgi sağlamakta başarısızlıkların olduğu kimi pediatrik hasta gruplarında yararlı bir araç olarak istihdam edilebilir.⁸

Koroner kalp hastalığı olan hastalarda yapılan birçok klinik çalışmada yüksek bir plazma ADMA konsantrasyonunun koroner arter hastalığı gelişmesinde anlamlı olarak daha yüksek bir risk ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir.^{73, 74} Prospektif çalışmaların büyük bir kısmı, yüksek ADMA düzeyleri ve majör kardiyovasküler olay ve toplam mortalite arasında güçlü bir ilişki göstermiştir.⁷⁵

Koroner arter hastalığı olan hastalarda stent yerleştirilmesinin ADMA düzeylerini azalttığı gözlenmiştir.⁷⁶ Böylece plazma ADMA ölçümlerinin geçerli risk belirteçleri ve tanı araçları olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.^{74, 21}

2.3. OKSİDE LDL VE PLAZMA LİPOPROTEİNLERİ

Lipoproteinlerin oksidasyonu sonucu organizmada bazı hastalıkların oluştuğu gözlenmiştir. Bunlardan bazıları; ateroskleroz, alzheimer, glomerüloskleroz, vitamin E eksikliği ile olan ataksi ve yaşa bağlı lipofuksin birikimidir.⁷⁷ Okside düşük dansiteli lipoproteinlerin (Ox-LDL) arter duvarında birikmesi ateroskleroz gelişimine, ilerlemesine ve instabilitesine neden olan bir dizi karmaşık biyokimyasal ve patofizyolojik reaksiyonlara yol açtığı bildirilmiştir.⁷⁸

2.3.1.Plazma Lipoproteinleri Hakkında Genel Bilgi

Lipoproteinler, lipit ve proteinlerin bileşiminden oluşan kompleks yapılardır. Lipoproteinler lipitleri çözünür tutma ve plazma içerisinde transportu sağlamakla görevlidirler. Tüm lipoproteinlerin temel yapıları benzerdir; küre şeklindedirler ve iç kısımları hidrofobik olup trigliseritler ve kolesterol esterlerini yer alır. Dışta ise kolesterol, fosfolipit ve apolipoproteinlerden oluşurlar.

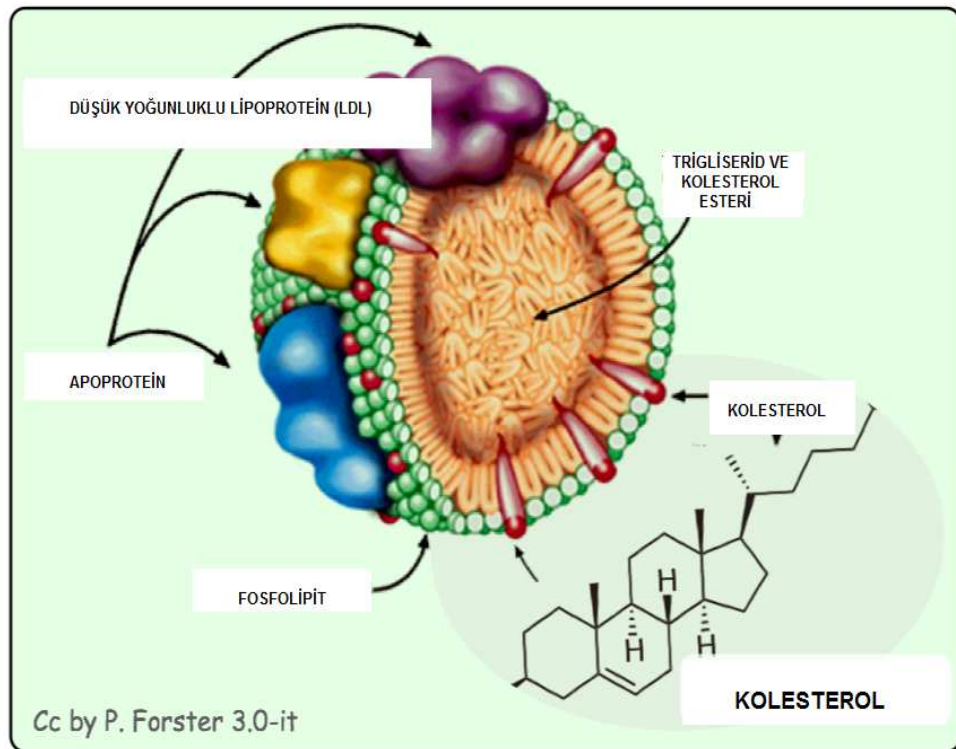
İlk tanımlanan lipoprotein HDL'dir ve 1929'da tanımlanmıştır. Lipoprotein yapısında yer alan proteinler apolipoprotein (apo) olarak adlandırılır. Yaklaşık on değişik protein partikülü çeşitli lipoproteinlerle ilişkilidir ve adlandırılmasında apoA, apoB, apoC gibi harfler kullanılır.⁷⁹

Lipoproteinler; Şilomikronlar, VLDL (Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein), LDL (Düşük Dansiteli Lipoprotein), HDL (Yüksek Dansiteli Lipoprotein) olarak sınıflandırılmaktadır. Lipoproteinler lipidleri plazmada

taşıırken çözünür tutmak ve kendilerinin lipid içeriklerini dokulara verebilmek için etkili bir mekanizma işlevini yerine getirirler.

2.3.1.1. Plazma Lipoproteinlerinin Bileşimi:

Lipoproteinler küresel partiküldür. Dış kısmında hidrofilik lipidler; fosfolipid ve serbest kolesterol bulunurken, iç kısmında ise (veya nötral lipid çekirdek), trigliserid veya kolesterol esterleri veya her ikisi bulunur.



Şekil 8: Lipoprotein Yapısı⁸⁰

Dış kısmı oluşturan lipidlerin polar bölgeleri lipoprotein yüzeyine doğru yerleşirler. Bu yerleşme tarzı lipoproteinleri sulu çözeltilerde çözünebilir kılmaktadır. Küresel partiküldeki proteinler apolipoproteinlerdir. Bu apolipoproteinlerin bazıları dış kısımda bulunur ve

gevşek olarak bağlıdır. Ayrıca diğer lipoproteinler arasında da yer değiştirebilir, (ApoC = Periferik Apoproteindir). Bazı proteinler ise lipid kısımların içine gömülüdür. Bunlara integral proteinler denir. ApoE gibi. Apoproteinler lipid metabolizması ile ilgili enzimlerin aktivatörü yada inhibitörü olabilirler. Örneğin; ApoAI, lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) enziminin aktivatörüdür. ApoCII, lipoprotein lipaz'ın (LPL) aktivatörüdür.⁸¹

2.3.1.2.Şilomikronlar:

Şilomikronlar intestinal enterositlerden sentezlenirler. Şilomikronlar bağırsak lenfasınca salınırlar ve torasik kanal aracılığıyla da dolaşıma geçerler.⁸² Dolaşıma geçen plazmadaki şilomikronların yapısında Apolipoprotein B-48, A-I, A-II mevcuttur. Dolaşımdaki şilomikronlar LPL etkisiyle trigliseridden fakir, kolesterolden zengin şilomikron artıklarına dönüşürler. Serbest yağ asitleri trigliserid olarak depolanmak, enerji kaynağı olarak oksitlenmek veya yeniden trigliserid yapımında kullanılmak üzere çeşitli dokular tarafından alınırlar.^{83, 81}

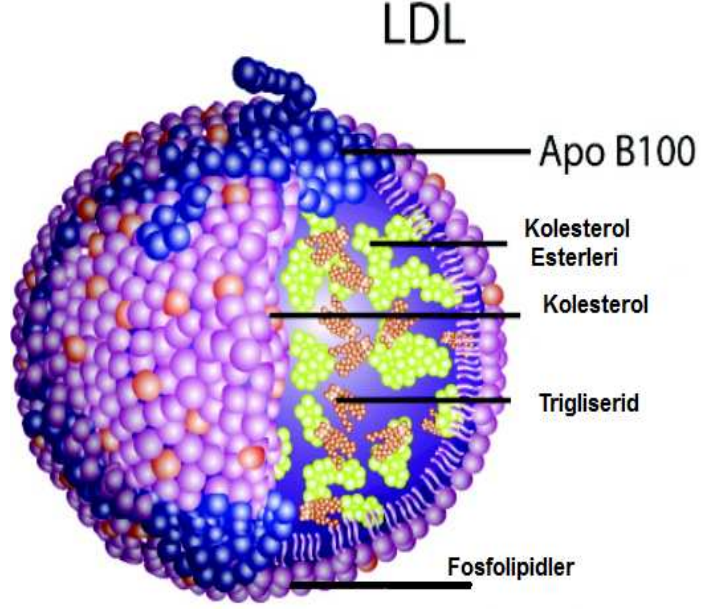
Diyetle alınan TAG, kolesterol ve kolesterol esterlerini (ayrıca bu hücrelerde yapılan ilave lipidleri) dokulara taşırlar. ŞM'ların %2'si protein, %98'i ise lipidlerce oluşturulur. Bu lipidlerin çoğu da TG'lerdir (%80-85). ŞM'lar bağırsak mukoza hücrelerinden salındığında "Nascent ŞM" olarak adlandırılır ve ApoB48 içerir. ŞM plazmaya ulaştığında ApoE ve ApoC'leri alarak değişikliğe uğrar ve karaciğer reseptörleri tarafından tanınır. ApoC'lerden biri ApoCII'dir. Bu Apoprotein LPL'in aktivasyonu için gereklidir. Lipoprotein lipaz, ŞM'ların yapısındaki TAG'leri parçalayan bir enzimdir. ŞM'ların aldığı bu Apoproteinlerin kaynağı dolaşımdaki HDL'dir.⁸¹

2.3.1.3. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (VLDL):

Yağ asidi hepatositlere geldiğinde karaciğerde VLDL üretimi uyarılır. Karaciğere yağ asidi girişini yağlı diyet, çeşitli metabolik bozukluklar ve açlık nedeniyle yağ dokusundan yağ asidi salınımı artırır. VLDL yapımında kullanılacak trigliserid ve fosfolipidlerin yapımı kaba ve düz endoplazmik retikulumda olur. VLDL kolesterolü de novo sentez edilir ya da lipoprotein yıkımından elde edilir. VLDL'ler disse aralığına salınır, oradan da dolaşıma geçerler. VLDL plazmada HDL'den apoC-I, CII, C-III ve apoE proteinlerini alır. VLDL trigliseridleri lipoprotein lipaz (LPL) ve daha az oranda hepatik lipaz (HL) etkisiyle hidrolize edilir. VLDL, trigliseridlerin kaybı ve apoC'nin HDL'ye transferi sonucu giderek küçülen partiküllere dönüşür ve kolesterolden zengin orta yoğunluklu lipoproteini (IDL) oluşturur. ⁷⁹

2.3.1.4. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL):

ŞM ve VLDL gibi bağırsak veya karaciğerde sentez edilmeyip VLDL'nin metabolik ürünü olarak meydana gelirler. LDL karaciğerden sentezlenen kolesterolün transportunda rol alır. Kolesterolün ekstrahepatik dokulara taşınması için kolesterol VLDL'nin yapısına katılır ve VLDL, IDL'ye dönüşür ve ardından LDL'ye dönüşür. LDL yapısında apo B-100 içermektedir. ⁸⁴



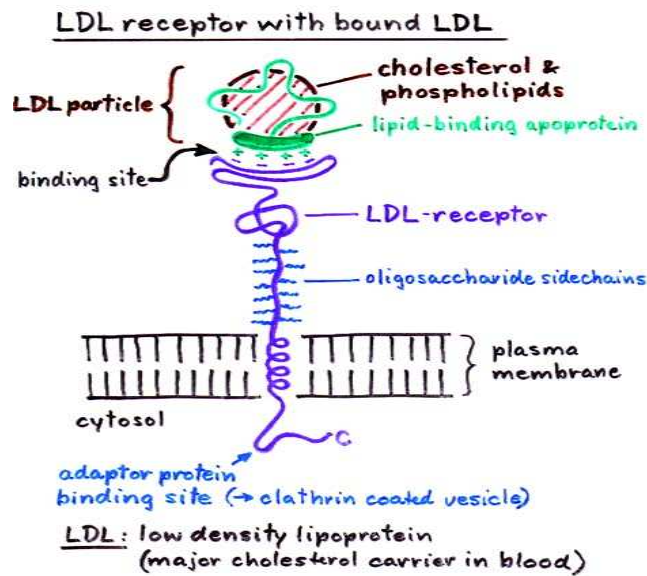
Şekil9 : LDL'nin biyokimyasal yapısı ve içeriğinde bulunan moleküller ⁸⁵

Apo B-100 LDL'nin yapısal olarak omurgasını oluşturur. Ve trigliserid açısından zengin lipoproteinlerin yapımı ve salgılanması için gereklidir.⁸⁶ LDL kolesterol (LDL-K) plazmada ki total lipoproteininin yaklaşık %50'sini oluşturur. İçeriğini % 80 lipid, %20 proteinler oluşturur. İçeriğin deki lipid miktarının yarısı kolesteroldür. Daha detaylı bakacak olursak, LDL'de diğer lipoproteinlere göre protein oranı daha fazladır (%21-23). Lipidlerin çoğunu ise kolesterol oluşturur. Ester kolesterol %48, serbest kolesterol %8-10, fosfolipit %28, TAG %10-13, serbest yağ asidi %1 oranındadır. Partikül büyüklüğüne göre LDL-K alt grupları tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar küçük, yoğun LDL partiküllerinin büyük LDL partiküllerine oranla daha aterosjenik olduğunu göstermiştir. Kolesterol hipotezi aterosklerozun hem başlangıcının hem de ilerlemesinin yüksek LDL seviyeleriyle ilişkili olduğunu net bir şekilde ortaya koymuştur. LDL kolesterolün disfonksiyone endotelyumu infiltre etmesi aterosklerozun en erken basamaklarından biridir. ^{87, 88}

LDL partiküllerinin ana işlevi dokulara kolesterol sağlamaktır. Bunu hem hücre membranları üzerine serbest kolesterolü bırakarak hemde ApoB100'ü tanıyan hücre membranlarındaki reseptörlere bağlanarak yaparlar.

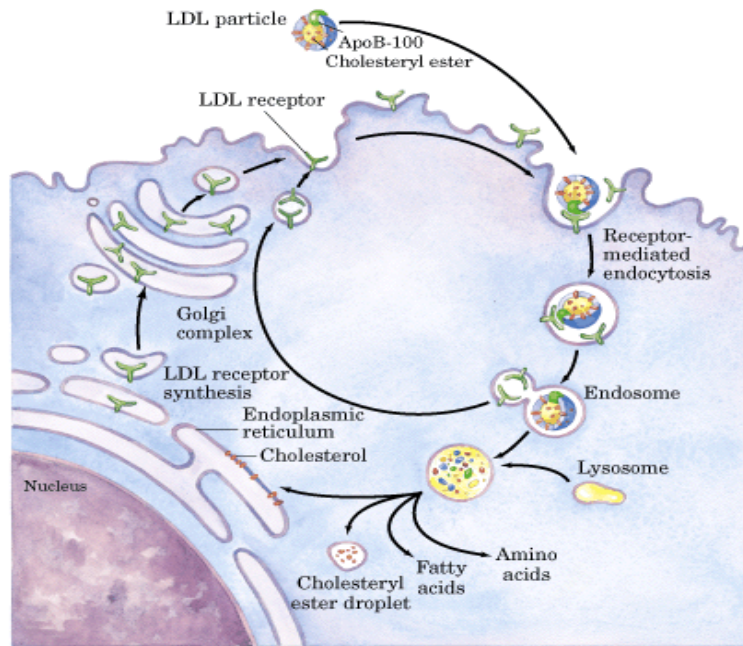
2.3.1.4.1. LDL'nin hücre içine alınması;

LDL reseptörleri hücre membranındaki çukurlarda toplanmış negatif yüklü glikoprotein molekülüdür. Çukurun sitozolik tarafı çukurun şeklini koruyan klatrin denen bir proteinle kaplanmıştır.



Şekil 10: LDL reseptörü⁸⁹

LDL'nin bağlanması sonrasında LDL endositoz yolu ile hücre içine alınır. Hücre içinde LDL içeren vezikül, klatriin kaplamasını kaybeder ve diğer veziküllerle birleşir. Sonuçta endozom denen daha büyük veziküller oluşur. Endozom içeriğinin pH'ı düşer (endozomal ATPaz'ın proton pompalama aktivitesinden dolayı) bu durum LDL'nin reseptöründen ayrılmasına olanak sağlar. Reseptörler daha sonra endozomun bir kenarına göçerler, LDL'ler ise vezikülün içinde serbest olarak kalır. Reseptörler yeniden kullanıma girerler.



Şekil 11: Kolesterolün reseptör aracılı endositozla hücre içine alınması ve LDL reseptörünün tekrardan kullanıma alınması ⁹⁰

Veziküldeki lipoproteinler lizozomal enzimlerce parçalanırlar. Parçalanma sonucunda; kolesterol, aminoasitler, yağ asitleri, fosfolipitler salıverilir ve bu bileşikler hücreler tarafından yeniden kullanıma alınırlar.⁸¹

2.3.1.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL):

Karaciğerde sentezlenir ve kana salınırlar. HDL'nin protein oranı %50 civarındadır. Lipidlerden ise en fazla oranda fosfolipid ve kolesterol (ester ve serbest kolesterol) bulunur. Agresif statin tedavisiyle LDL-K seviyelerinde belirgin azalmalar olmasına rağmen KAH riskinin hala yüksek olması dikkatleri HDL kolesterol (HDL-K) komponentine çevirmiştir. Birçok epidemiyolojik çalışmada düşük HDL-K seviyelerinin kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Örneğin Framingham Kalp çalışmasında koroner olayların yaklaşık %44'ü HDL-K'sı 40 mg/dl'nin altındaki hastalarda meydana geldi. HDL-K seviyesi 35 mg/dl'den az olanlar HDL-K seviyesi 65 mg/dl'nin üzerinde olanlarla kıyaslandığında KVVH insidansı 8 kat daha fazla idi. Anjiyografik ve ultrasonik çalışmalar düşük HDL-K seviyelerinin KAH riski ve ciddiyetiyle ilişkili olduğunu belirtmektedir. Gözlemsel çalışmalar HDL-K seviyesindeki her 1 mg/dl azalmanın KVVH riskinde %2-3 artışa neden olduğunu göstermiştir.⁸⁷

HDL üç ayrı mekanizma ile antiaterojenik rol oynar. Bunlardan birincisi aşırı kolesterolü periferel hücrelerden karaciğere taşır. LDL'nin oksidatif modifikasyonunu azaltır. Endotelial hücrelerdeki sellüler adezyon moleküllerinin ortaya çıkmasını engeller.⁹¹

2.3.1.6. Lipoprotein (a)

İlk olarak tanımlanması 1963 yılında Berg tarafından olmuştur. İnsan plazmasında beta-lipoproteinin bir varyantı olarak tanımlanmıştır.⁹² LDL partikülü ile yapısal olarak hemen hemen aynıdır. Ayırt edici özelliği, apolipoprotein (a) adında ilave bir apolipoprotein molekülünün yapısında yer almasıdır. Lipoprotein (a), ApoB100 molekülü disülfid bağı (S-S) ile Apo(a)'ya bağlı bir LDL partikülüdür. Apo(a) yapısındaki aminoasitlerin yaklaşık %80'i plazminojeninkilerle aynıdır. Bu yüzden plazminojenle kompetisyona girer ve bunun sonucunda lipoprotein (a) nın artmış düzeyleri koroner arter hastalıkları için risk teşkil eder.⁸¹

Lipoproteinler lipidleri plazmada taşıırken çözünür tutmak ve kendilerinin lipid içeriklerini dokulara verebilmek için etkili bir mekanizma işlevini yerine getirirler. İn vitro ve hayvan çalışmalarında Lipoprotein(a)'nın trombozis ve köpük hücre oluşumunu indüklediğini göstermiştir. Retrospektif ve çapraz-kesitsel çalışmalar lipoprotein(a) ve vasküler risk arasında ılımlı pozitif ilişki olduğunu belirtse de bu ilgi ilk prospektif çalışmalarla desteklenmemiştir. Yakın zamanda yayımlanan bir meta analizde Lp(a) ve KAH arasında ılımlı bir ilişki saptanmıştır. Lp(a) için uluslararası bir standardın bulunmaması KVH risk değerlendirmesinde rutin kullanımını engellemektedir.⁸⁷

2.3.2. OKSİDE LDL

Düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonunun ateroskleroz patogenezinde merkezi bir rol oynadığı bilinmektedir. Aterojenik plaklardaki LDL'nin oksitlendiği ve negatif yükün artmasına neden olarak, scavenger reseptörlerine bağlandığı ve in vitro köpük hücre oluşumuna neden olduğu bilinmektedir.⁹³

Bazı hiperlipidemik tavşanlar ve mini domuzlarda koroner aterosklerotik lezyonlarda biriken okside LDL miktarının, bu lezyonlarda progresyonla kuvvetli korole olduğu gösterilmiş ve bu hayvanların okside LDL'ye karşı oto antikorlar oluşturduğu gözlenmiştir.⁹⁴ Okside LDL'nin muhtemel bir marker'ı olan "lizin aldehit" kalıntıları, makrofajdan zengin insan ve tavşan aort lezyonlarında monoklonal antikorlar ile gösterilmiştir.⁹⁵ Makrofajların okside LDL'yi hücrel kolesterol içeriği ile regüle edilen bir mekanizma ile hücre içine almayacağı ve böylece köpük hücre oluşumuna sebep olacağı bildirilmiştir.⁹⁶

Doğal antioksidanların alınması invitro olarak LDL'nin oksidatif modifikasyonunu engeller ve böylece efektif olarak aterosklerotik lezyon boyutlarını azaltır.⁹⁷

LDL peroksidasyonunun göstergesi yağ asidi peroksidasyonu sonucu oluşan aldehidleri içeren tiyobarbitürik asit reaktif maddesinin olduğu bilinmektedir.⁹⁸

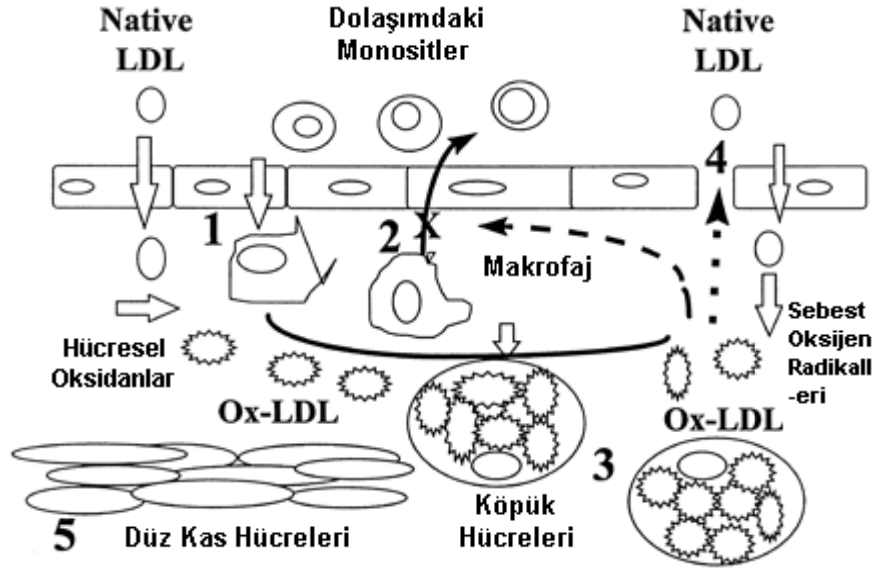
2.3.2.1. LDL Oksidasyonunun Mekanizması

LDL oksidasyonu LDL partikülünde çeşitli değişiklikler içeren komplike bir durumdur. Bunlar; LDL'nin bakır iyonu ile inkübasyonu sonucu olan oksidasyonu, lipoprotein lipid peroksidasyonu, LDL ApoB100 fregmentasyonu ve LDL kolesterol parçacıklarının oksisterollere oksidasyonunu içerdiği daha önceki yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.^{99,100}

Okside LDL'nin kimyasal kompozisyonu; lipoprotein esterifiye kolesterol düzeyinde azalma, kolesterol/protein, fosfolipit/protein oranlarında azalma, lipoproteinin elektroforetik mobilitesinde artış ile karakterize olduğu bilinmektedir.¹⁰¹

Okside LDL'nin, LDL'ye oranla fosfatidil kolin içeriğinin azaldığı paralel olarak lizofosfatidil kolin içeriğinin arttığı saptanmıştır. LDL yüzeyindeki fosfolipitlerde, fosfolipaz A₂ benzeri aktivite gözlenmiştir. İn vivo LDL oksidasyonu hakkında ileri sürülen mekanizmalarda Lipoksijenaz, NADPH oksidaz, Myeloperoksidaz, Sitokrom P450 gibi hücresel oksijenazların aktivasyonu ve metal iyonlarının konsantrasyonlarının artmasının LDL oksidasyonunu indüklediği gösterilmiştir.^{102, 103, 104, 105, 106}

Arter duvarındaki üç major hücre LDL'yi okside edebilir. Bu hücrelerin makrofajlar, endotelial hücreler, aortik düz kas hücreleri olduğu bilinmektedir.^{107, 108, 109}



Şekil 12: LDL'nin oksidasyonunun hücresel mekanizması¹¹⁰

Hücre aracılı LDL oksidasyonu, NADPH Oksidaz, lipoksijenaz, myeloperoksidaz gibi hücresel prooksidanlarla, Glutasyon ve Süperosit Dismutaz gibi antioksidan sistemler arasındaki dengeye ve aynı zamanda lipoproteinin oksidatif durumuna bağlı olduğu bilinmektedir. Ayrıca, aterosklerozun erken dönemlerinde makrofajlarda okside kolesterol esteri olan seroid birikimi olduğu gösterilmiştir.¹¹¹ Oksidatif stres altında makrofajlar, yüksek düzeyde LDL oksidasyonuna yol açan reaktif oksijen türleri (ROS) oluştururlar.¹¹² Aterosklerozun erken evrelerinde; Makrofaj aracılı LDL oksidasyonu dominant iken, aterosklerozun ilerleyen evrelerinde; düz kas aracılı LDL oksidasyonu daha önemli hal alır.¹¹³ Arter duvar hücreleri, LDL partikülüne peroksitleri yönlendirerek LDL oksidasyonunu başlatabilirler, fakat metal iyonlarının varlığı ve Peroksidaz benzeri aktivitenin zorunlu olduğu bilinmektedir.¹¹⁴

Okside LDL'nin aterojenik özellikleri arasında makrofaj kolesterol birikimi, aterosklerozis gelişiminde major öneme sahiptir. LDL reseptörlerinin aksine okside LDL reseptörleri kolesterol seviyeleri ile regüle edilmezler. Ve bu sebeple kolesterol birikimine ve köpük hücre oluşumuna sebep olabilirler.^{115, 116}

2.3.2.2. Makrofaj Scavenger Reseptörleri (Okside LDL Reseptörleri)

Okside LDL'yi bağlayan bölümlerden ilk tanımlananı makrofaj scavenger reseptörleridir (MSR). Bu reseptörler ilk olarak homozigot familial hiperkolesterolemi hastalığı olanlarda tanımlanmıştır.

Bu hastalarda LDL reseptörleri eksikliği olsa bile aterosklerotik plaklarda makrofajların kolesterol esterleri biriktirdiği gözlenmiştir. Bu reseptörler, Brown ve Goldstein tarafından bulunmuştur. Normal LDL'yi bağlamayan fakat kimyasal asetilasyon sonrası oluşan LDL'yi bağlayabilen ve makrofaj yüzeyinde bulunan bu reseptörlere LDL'nin uğradığı reaksiyon nedeni ile "asetil LDL reseptörü" de denmiştir. MSR'leri makrofaj yüzeyinde bulunurlar. Okside LDL'nin MSR'lerine bağlandığı ve yeterli miktarda kolesterolü köpük hücre oluşumuna yönlendirdiğinden bu reseptörler için okside LDL'nin, fizyolojik ligand olabileceği öne sürülmüştür.^{117, 118, 119, 120, 121} Scavenger reseptörtleri üçe ayrılır; A ve B scavenger reseptörleri okside LDL'yi bağlarlar. C scavenger reseptörlerinin okside LDL'yi bağlamadığı bilinmektedir.^{122, 123}

2.3.2.3. LDL'nin Okside LDL'ye Dönüşümü

LDL'nin oksidasyonla modifikasyonu sonucunda, LDL reseptörleri tarafından tanınmayı engelleyen fakat scavenger reseptörleri tarafından tanınmayı artıran bir durum meydana geleceği bilinmektedir. Bu durum LDL ApoB100 üzerindeki "lizin kalıntılarının pozitif yükünü (+)" ortadan kaldırır ve bu modifikasyonla modifiye LDL'ler MSR'lerce tanınır hale gelir. Lizin rezidüleri ApoB100'ün ana komponenti olduğu ve oksidasyon sürecinde aldehitlerle reaksiyona girebildikleri bilinmektedir.

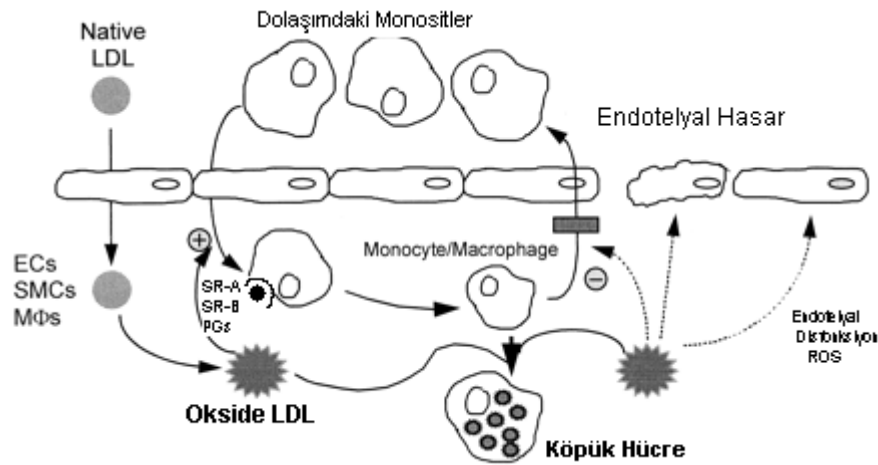
Lizin rezidüleri proteinin pozitif yükünü oluşturdukları için aldehitlerle olan reaksiyon bu pozitif yükü azaltır. Ayrıca proteine net bir negatif (-) yük yükler ve partüküle elektronegatif karakter kazandırır. Lizin gruplarının yaklaşık %20'sinin eliminasyonu bağlanan parçayı LDL reseptörlerince tanınmayacak şekilde değiştirmeye yeter. Bu partikülün scavenger reseptörleri tarafından bağlanabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.^{124, 125, 126, 127, 128}

2.3.2.4. Okside LDL'nin Makrofaj Üzerindeki Bağlanma Bölgeleri

Makrofaj yüzeyinde, okside LDL'nin bağlanması amacıyla farklı bölgeler vardır. Makrofajlar doğal LDL'yi Ox-LDL'ye çevirebilen ROS'ni oluşturabilirler. Makrofajlarca hücresel Ox-LDL uptake'i scavenger A,B reseptörleri ve proteoglikanlar aracılığı ile olabilir. LDL reseptörlerinin aksine, Ox-LDL reseptörleri intrasellüler kolesterol içeriği ile regüle edilmezler. Böylece masif kolesterol birikimine sebep olabilirler. Bu bölgeler ilk olarak; hem okside LDL hem de asetillenmiş LDL'nin her ikisini

de tanıyan bölgeler, hem de sadece okside LDL'yi tanıyan bölgeleri gösteren çapraz yarışmalı çalışmalarda gösterilmiştir.^{129, 130, 131}

CLASS A (Kollajen benzeri) Scavenger Reseptörleri (SR-As); Hem okside LDL'yi hem de asetile LDL'yi tanıyan bölgelerdir.¹³² CLASS B Scavenger Reseptörleri (SR-Bs) ise; Okside LDL'yi tanıyan bölgelerdir. (Özellikle CD36)¹³³ Diğer bir klasifikasyon ise; Scavenger Reseptör A ve B, Okside LDL'yi bağlarken, Scavenger Reseptör C; Okside LDL'yi bağlamaz.¹³⁴



Şekil 13: Ox-LDL ve Köpük Hücre oluşumu, Makrofajlarda SR-A ve SR-B reseptörleri¹⁰⁸

2.3.2.5. Aterosklerozda immünopatogenez ve Okside LDL Antikoru

Ateroskleroz gelişiminde okside LDL'ye karşı oluşan hem IgM hemde IgG tipindeki otoantikorların antiaterojenikmi yoksa proaterojenikmi olduğu konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Sonuçlar genellikle plazmada bulunan otoantikorların antiaterojenik özellikte olduğu yönündedir.¹³⁵

Aterosklerotik sürecin oluşması ve ilerlemesi ile birlikte endotelial hasar ve bu hasarında hızlandırdığı arteriyel intima da LDL'nin geçişi olur. Dokuda LDL modifiye olarak özellikle de okside olarak yapısı değişir ve scavenger reseptörlerince tanınır hale gelir. Ve doğal bağışıklık sistemi uyarılmış olur. Bu durum MHC-II üzerinden gerçekleşmiş olur. MHC-II aracılığıyla modifiye olmuş LDL'ler T hücrelerine sunulur. Ve doğal bağışıklık devreye girmiş olur.¹³⁶

Aterosklerotik süreçte arter intimasına okside LDL girerek aterogenezisde aktif rol oynar ve aterosklerotik lezyonlarda okside LDL mevcuttur. LDL modifikasyonlara uğrayabilmektedir ve bu değişimler molekülde immünojenik yapıda bazı değişiklikler meydana getirmektedir. Özellikle glikozilasyon, metilasyon gibi reaksiyonlar bu değişimlere örnek olarak verilebilir. Ayrıca MDA apoprotein B de bulunan lizin kalıntılarına etki ederek değişimlere neden olarak yeni bileşikler meydana getirdikleri ve antijenik özellik kazandıkları gösterilmiştir.¹³⁷

Örneğin yapılan bir çalışmada diyabetli hastalarda LDL'nin oksidasyon ve glikozilasyon yolları ile her ikisi tarafından modifikasyona tabi oldukları gösterilmiştir. Okside LDL'nin aksine, glikozile LDL biyolojik etkileri okside LDL kadar iyi karakterize edilememiştir. Lam ve ark. yaptıkları çalışmada glikozile LDL'nin köpük hücre oluşumunu başlatmasında ve DM'li hastalarda ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynadığını ortaya koymuşlardır.¹³⁸

Yapılan birçok çalışmada CD+4 T hücreleri ile CD+8 T hücreler, makrofajlar ile dendritik hücreler, okside LDL ile ısı şok proteinleri HSp 60 ve 65 gibi oto antijenlerin aterosklerozis gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir.¹³⁹

Son on yılda anti-okside LDL antikorlarının kardiyovasküler hastalık belirteci veya koruyucuları olup olmadıkları konusunda birçok çalışma ve bilimsel tartışma olduğu gözlenmiştir.^{140, 141}

Perkütan koroner girişim geçiren diabetik hastalar non-diabetik hastalardan daha kötü bir prognoza sahiptir. Anti-okside LDL antikorlarının kısa bir süre önce diyabetin gelişmesine karşı koruyucu olduğu ileri sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı ve karbonhidrat metabolizması bozukluğu olan bir grup hastada IgG anti-okside LDL antikorlarının normoglisemik hastalara göre çok daha düşük seviyeleri olduğu saptanmıştır.¹⁴² Bu antikorların, makrofajların köpük hücrelerine dönüşümünü sağlayan okside LDL alımına engel olduğu fikrini destekleyen pek çok kanıt olduğu gözlenmektedir.¹⁴³ Gerçektende, deneysel modellerde bu antikorların aterosklerotik süreci yavaşlattığı gözlenmiştir.¹⁴⁴

Son yıllarda yapılan bir çalışmada anti-okside LDL antikor düzeyi düşük olan kadınların, diyabet gelişme riskinin daha olası olduğunu göstermektedir. Anti-okside düşük dansiteli lipoprotein (LDL) antikorları plazma oksidatif kapasitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir ancak diyabetten korumak içinmi yoksa geliştirmek içinmi etki ettikleri bilinmemektedir. Şu anda, anti-okside LDL antikor seviyesi daha düşük olan kadınların diyabet için daha büyük bir risk içerdiği düşüncesi merak konusu olmakla birlikte Sanchez ve ark. anti-okside LDL

antikorları ve diyabet arasındaki bağlantının, oksidatif stres ile ilişkili olduğunu düşünmekteler.¹⁴⁵

2.3.2.6. Ox-LDL'nin aterojenik proinflamatuvar özellikleri;

Ox-LDL'nin makrofajlardaki kolesterol birikimini indüklemesi major proaterojenik özelliği olarak düşünülmektedir. Aynı zamanda Ox-LDL'nin aterojenik özelliği ile ilgili olarak birkaç proinflamatuvar özelliğide tanımlanmıştır; Ox-LDL monositler için kemoatraktandır, minimal olarak Ox-LDL, kan akımındaki monositlerin subendotelyal boşluğa adherans ve penetrasyonunu arttırabilir, LDL'nin orta dereceli oksidasyonu monositlerin endotelyal hücrelere bağlanmasını indükler. Ayrıca endotelyal hücrelerin okside lipidlerle oksidasyonu monosit bağlanmasının üç aşaması olan tethering, aktivasyon ve bağlanma aşamalarını etkileyen moleküllerde değişikliklere sebep olur. Okside LDL ile tethering proteini ve P-Selektin düzeyleri insan lezyonlarında arttığı gözlenmiştir.^{146, 147}

Monositlerin endotelyal hücrelerine adezyonu intrasellüler hücre molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1)'i de içeren hücre adezyon molekülleri aracılığı ile olduğu bilinmektedir.^{148, 149}

Ox-LDL'nin ICAM-1 ve VCAM-1'i indüklediği gösterilirken, ICAM-1 ve VCAM-1'e karşı olan monoklonal antikorların endotelyal hücrelere oxide LDL ile stimüle edilen monosit adezyonunu kısmi olarak bloke ettiği bilinmektedir. Ox-LDL aynı zamanda endotelyal hücrelerden potent monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) üretimini indükleyerek

monositlerin subendotelyal boşluğa penetrasyonunu indüklediği bilinmektedir. Aynı zamanda okside LDL'nin etkilerini MCP-1 için olan endotelyal hücre genlerinin upregülasyonu ile ortaya koyduğu gösterilmiştir. MCP-1 için olan mRNA seviyeleri artmış transkripsiyonunun sonucu olarak okside lipitler tarafından arttırıldığı gösterilmiştir.^{150, 151, 152, 153, 154}

Ox-LDL makrofaj Scavenger Reseptörlerine bağlandıktan sonra ürokinaz ve IL-8, IL-1, IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu gibi birkaç hücre içi olayı başlatır. Sitokinlerin üretilmesi aterosklerozdaki inflamatuvar olayda major öneme sahip olduğu bilinmektedir.^{155, 156, 157, 161}

Subendotelyal boşlukta monositler, makrofaj koloni stimüle eden faktör (MCSF) etkisi altında makrofajlara diferansiye olurlar. Minimal Ox-LDL, endotel hücrelerinden MCSF salınımını arttırabilir. Bu durum daha sonra monositlerin doku makrofajlarına diferansiasyonunu ve yağlı çizgilenmenin oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir.¹⁵⁸

2.3.2.7. Okside LDL Proinflamatuvar Mediatörlerin Makrofajlardan Sekresyonunu İndükler

Sitokinlerin üretilmesi aterosklerozdaki inflamatuvar olayda major öneme sahip oldukları bilinmektedir.

İnterlökin-8'in (IL-8) Etkisi

T lenfositler ve nötrofiller için kemotaktik bir faktör olan IL-8, monositlerin endotelyal hücrelere yapışmasını arttırır. Damar duvarı medyasından intimasına düz kas hücresinin emigrasyonu içinde

kemotaktiktir.¹⁵⁹ Aterosklerotik dokudan izole edilen makrofaj kaynaklı köpük hücrelerinden, insan kan monositleri ile karşılaştırıldığında yüksek seviyede IL-8 oranları ölçülebilir. Oksisteroller, IL-8 üretimini regüle eden Ox-LDL komponentini gösterirler ve 25 OH Sterol'ün potent bir stümulator olduğunu göstermiştir.¹⁶⁰

İnterlökin-1'in (IL-1) Etkisi

Özellikle LDL oksidasyonu sırasında oluşan oksisterollerin IL-1 sekresyonunu indüklediği bilinmektedir. 7 Beta OH sterol ve 7 Ketokolesterolün IL-1 Beta sekresyonunu indükleyebileceği ve bunun da apoptozise yol açabilen bir fenomen olduğu bildirilmiştir.¹⁶¹

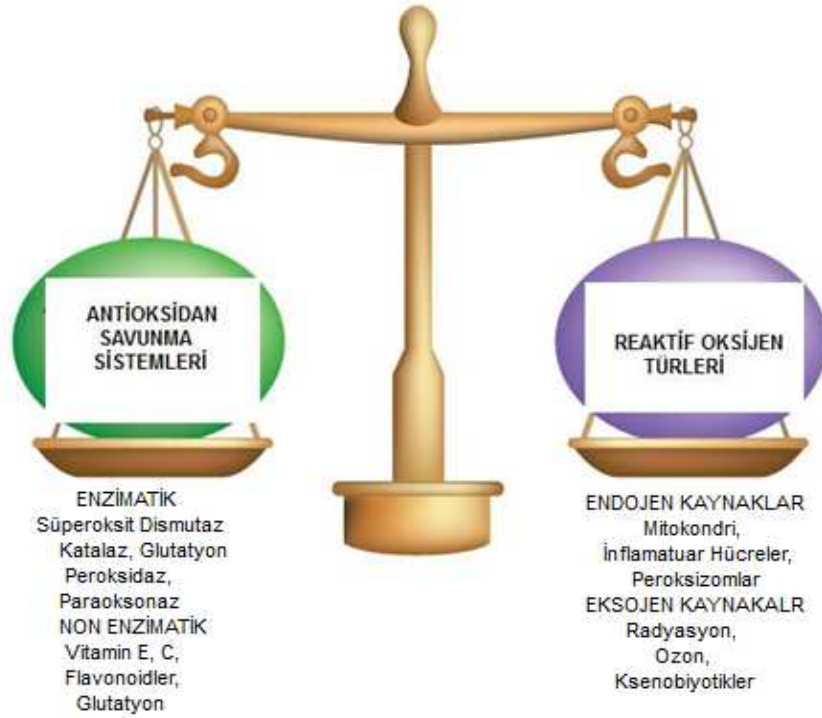
İnterlökin-6'nın (IL-6) Etkisi

IL-6, akut faz proteinlerinin sentezinin stimülasyonu, protrombik faktörlerin indüksiyonu (plazminojen aktivasyon inhibitörü-1), matriks enzimlerinin stimülasyonu (metalloproteinazlar) gibi çeşitli fizyolojik rolleri vardır.¹⁵⁹

Ox-LDL makrofajlardaki kolesterol birikimini ve köpük hücre formasyonunu indüklediği ve inflamatuvar olayları stümüle ettiği için aterojenik olduğu bilinmektedir. LDL invivo olarak belirgin aterojenik durumlarda okside edilmektedir. Arteryal hücrelerde biriken LDL flavonoidler, karatonoid veya vitamin E gibi besinsel antioksidanlarla lipid peroksidasyonuna karşı korunabilir. Böylece ateroskleroz yavaşlatılabilir. Ayrıca HDL ilişkili paraoksonaz-1'in (PON-1), Ox-LDL'deki lipidleri hidrolize ederek, nonaterojenik LDL benzeri bir partikül oluşmasına neden olabildiği gösterilmiştir.^{162, 163, 164}

2.4.OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER

Serbest radikallerin protein, nükleik asit ve diğer hücresel unsurlara verdiği hasarın oldukça önemli bir yaşam riski oluşturduğu günümüzde bilinmektedir. Lipit peroksidasyonunun da serbest radikallerden kaynaklanan bir mekanizma ile başladığını ve “pozitif feed back” ile serbest radikallerin artışına sebep olan bir döngü oluşturduğu gösterilmiştir. Serbest radikallerin tahrip edici bu özelliklerinin ortaya koyduğu genel tablo organizma için bir oksidatif stres oluşturmaktadır. Oksidatif stresle mücadelede ise antioksidanların rolü çok önemli bulunmuştur. Serbest radikaller yaşam riski oluştururken antioksidanlar yaşam kaynağı olarak görülmüşlerdir. Bu açıdan oksidan-antioksidan denge ve korunması önemli olduğu bilinmektedir.¹⁶⁵



Şekil 14: Oksidan ve antioksidan sistem ^{166, 167}

Süperoksit, nitrik oksit (NO), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asid (HOCl), hidroksil, alkoksil ve peroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin üretimi ile onlara karşı oluşan antioksidan savunmalar arasındaki dengenin bozulması, doku hasarının artmasına sebep olan oksidatif stresi oluşturduğu bilinmektedir.¹⁶⁸

2.4.1. Serbest Radikaler

1950'li yılların sonlarında serbest radikaller klinik ve biyolojik bilimlerde neredeyse hiç duyulmamıştı. Oksidatif stres vücutta serbest radikallerin toksik etkilerinin antioksidan sisteme karşı daha baskın geldiği bir süreçle oluşmaktadır. Serbest radikallerin neden olduğu oksijen toksisitesinin ilk olarak gösterildiği çalışma 1954 yılında, Rebecca Gerschman ve Daniel Gilbert tarafından yayınlanmıştır.^{169, 170}

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen yörüngelerde dönerler. Orbitalerde bulunan elektronlar normalde birbirine zıt yönde dönerler. Dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal olarak bilinir.^{171, 172} Bu tip maddeler ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiflerdir.¹⁷³

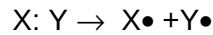
Oksijen kimyada en önemli unsur olarak kabul edilebilir. Oksijenin özellikleri önemlidir çünkü sadece bizim vücudumuzdaki oksidasyon reaksiyonlarında değil bütün uygarlıkta oksidasyon reaksiyonlarında önemli bir role sahiptir. Oksijen organik molekülleri okside ettiği zaman kendisi redüksiyona uğrar. Tek elektron eklenmesiyle süperoksit oluşur. Aerobik solunum yapan canlılarda tüketilen oksijenin % 3'lük bir kısmı süperoksit anyonuna dönüşür. Süperoksit anyonu oksijen

kaynaklı diğer serbest radikallerin öncüsüdür. Serbest radikaller başta kanser, yaşlanma dahil olmak üzere birçok hastalığın nedeni olarak gösterilmektedirler.^{174, 175}

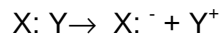
2.4.1.1. Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

Ortaklanmamış elektron genel olarak üst kısma yazılan bir nokta ile gösterilir.

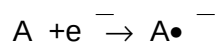
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomlarının birinde kalırlar. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelirler.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} ve Mo^{2+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar.

Hücreler serbest radikallere dönüşen moleküller ve spontan olarak radikallerle ilişki kuran kimi yapıları kendi bünyelerinde bulundururlar. Radikaller olumsuz etkilerine rağmen aerobik organizmaların kaçınılmaz bileşikleri olup hücrelerde aslında birçok enzimin sentezi ve çoğu organizmanın antibakteriyel savunmasında önemli rollere sahiptirler.^{176, 177}

Hücrelerde ve organizmalarda gelişen bu radikallerin oluşturduğu reaksiyonlarının belli sınırların üstünde olduğu durumlarda antioksidan sistemler aşılar ve antioksidan kompensasyon sınırı aşılsa geri dönüşümsüz hasarlanma meydana gelebilir.¹⁷⁸

2.4.1.2. Serbest Oksijen Radikalleri Ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksid, hidrojen peroksid, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonuncusu meydana gelir.

Oksijenin elektronları o şekilde dağılmışlardır ki bu elektronlardan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir 'diradikal' olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Serbest oksijen radikalleri oksijenin suya indirgenmesi sırasında meydana gelen ve oldukça toksik etkileri olan, reaktif kimyasal maddelerdir. Oksijen en son suya indirgenir. Bu arada kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilirler.^{176, 179}

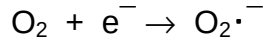
Endotel, vasküler hemeostazın sağlanmasında endotel kaynaklı NOS (eNOS) sentezini sağlamak suretiyle bir kontrol merkezi gibidir. Vasküler serbest oksijen radikallerinin artmış üretimi hipertansiyon, diyabet ve ateroskleroz da dahil olmak üzere endotelyal disfonksiyonun olduğu çeşitli vasküler hastalıklarda gözlenmektedir. Hasta insanlardan izole edilmiş arterlerde öncelikle de damar düz kas ve endotel hücrelerinde artan düzeyde süperoksit anyonların ($O_2^{\cdot-}$) olduğu gösterilmiştir. Böylece serbest oksijen radikalleri doğrudan endotel kaynaklı NO'yu inaktive edebilir, protein disfonksiyonunu artırabilir ve anormal hücre sinyalizasyonunu artırabilir ve bu durumların etkisi ile endotelyal disfonksiyonunun başlamasında ve ilerlemesinde rol alabilirler. Memeli hücrelerinin serbest radikal olan nitrik oksit (NO) sentez yeteneği olduğunun keşfi, biyoloji ve tıbbın tüm alanlarında bilimsel araştırma için olağanüstü bir ivme artışına neden olmuştur.^{180, 181}

Tablo 3: Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikler ¹⁷²

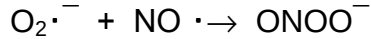
Serbest radikaller	Simgesi	Kısa açıklaması
Hidrojen	H•	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	O ₂ • ⁻	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	•OH	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet Oksijen	O ₂ ⁻	Yarılma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	HO ₂ •	Lipidlerle hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikal	ROO ⁻	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil	CCl ₃	CCl ₄ metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Alkoksil	RO•	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L-Arjinin aminoasitinden in vivo üretilir
Nitrojen dioksit	NO ₂	NO'nin oksijen ile reaksiyonundan üretilir

2.4.1.3. Süperoksid Radikali:

Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksid radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir.



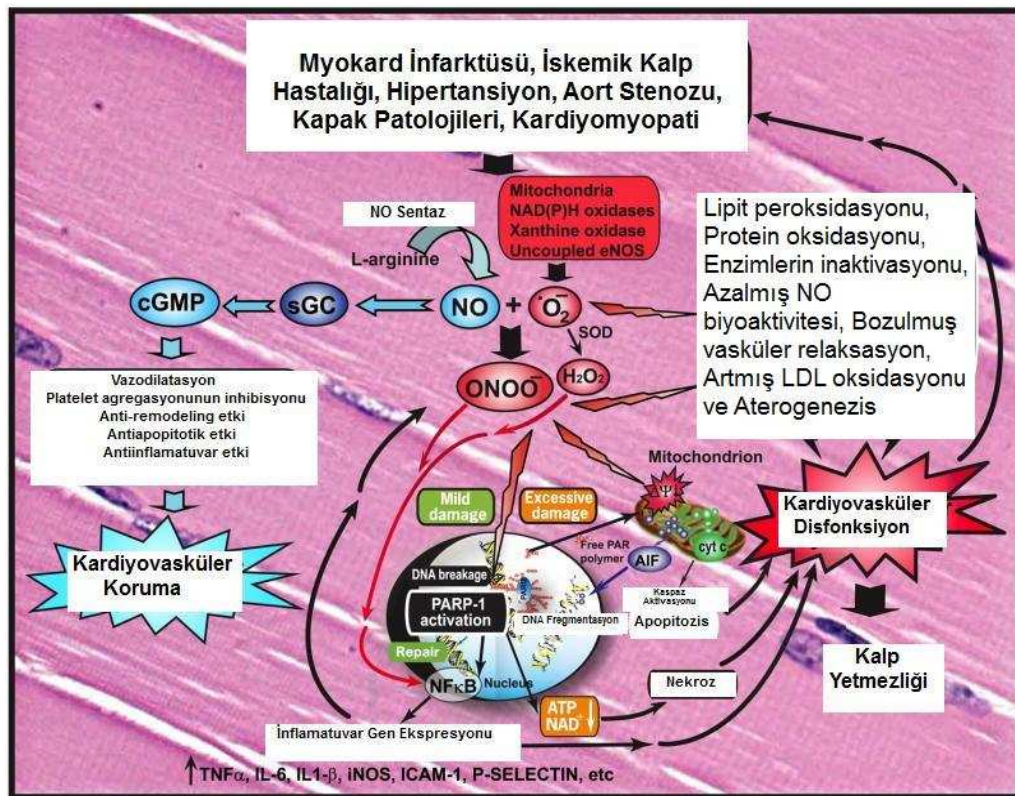
Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksid kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir.



Böylece $NO \cdot$ 'in normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca peroksinitritlerin, doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ($NO_2 \cdot$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler.¹⁷⁶

Nitrik oksit tüm omurgalıların kan akımı modülasyonunda, tromboz ve nöral aktivitenin devamında hazır olan hücreler arası habercisidir. NO biyolojik üretimi nonspesifik konak savunmasında da önemlidir. NO son derece zehirli ve reaktif olarak tanımlanıyor olsa da, öyle değildir. Düşük konsantrasyonlardaki inhaler gaz NO'nun yenidoğan persistan pulmoner hipertansiyon tedavisi için Amerikan Gıda Ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmıştır. Örneğin çalışmalar inhale NO'nun pulmoner vasküler yatağın vazodilatatör kapasitesini belirlemek için güvenli ve etkili bir ajan olduğunu düşündürmektedir.¹⁸²

Buna ek olarak NO belirgin bir toksisitesi olmadan insan beyindeki nöronlar tarafından 80 yıl için üretilmiş olabilir. Paradoksal olarak, aynı molekülün üretimi aynı patolojik zorluklarla birkaç dakika içinde nöronların serebral iske mi sonrasında meydana gelen bir durumla son derece yıkıcı olabilir. Bu durum ise NO'nun süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ile tepkimesi sonrasında daha güçlü bir oksidan olan peroksinitrit'in ($ONOO^-$) oluşumu ile ilgilidir. Peroksinitrit NO'nun fizyolojik ve patolojik zıt rollerinin oluşumuna bu anlamda katkı sağlamaktadır. ^{181, 183}

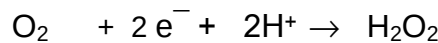
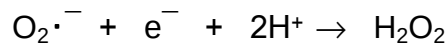


Şekil 15 Nitrik oksit ve kardiyovasküler patofizyolojisinde peroksinitritin rolü ¹⁸¹

2.4.1.4. Hidrojen Peroksid

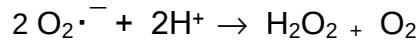
Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksid oluşur. Peroksid molekülü iki H molekülü ile birleşirse H_2O_2 oluşur. H_2O_2 süperoksidin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak da üretilebilmektedir. H_2O_2 aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksitle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksid başka bir şekilde de serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur, Bu durum ise doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lökosit defansının diğer bir komponentidir.¹⁸⁴

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur.

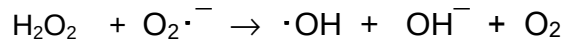


Ancak, biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksid molekülü iki proton

olarak peroksid ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.

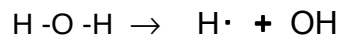


Hidrojen Peroksid bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksid ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.

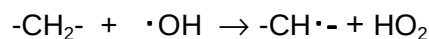
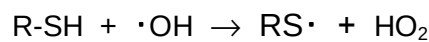


2.4.1.5. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali($\cdot\text{OH}$),hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile)meydana gelir.Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur.



Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştugu yerde büyük hasara sebep olur. Aşağıda gösterildiği gibi tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur.



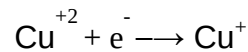
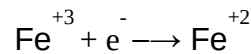
2.4.1.6. Singlet Oksijen

Singlet oksijen(¹O₂), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur. ¹⁷⁶

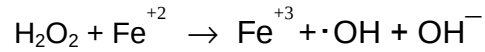
2.4.1.7.NO (Nitrik Oksid)

NO, nitrik oksid sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Vasküler tonun regülasyonunda guanilat siklazı aktive eden NO major rol oynar. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücresel solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur. Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından (tartışmalı olmakla birlikte) endoteldeki nitrik oksid üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. Ancak diyabette NO'nin artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır. ¹⁸⁴

2.4.1.8.Geçiş Metalleri



Yukarıdaki reaksiyonlarda olduğu gibi bir elektronun alınması ve verilmesi durumlarında bu serbest metal iyonları radikal reaksiyonunu hızlandırır. Metal iyonları lipid peroksidasyonu esnasında rol oynarlar. Oluşmuş lipid hidroperoksitlerin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalize eder. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler. Fenton reaksiyonu olarak bilinen reaksiyonda Fe⁺² iyonlarının H₂O₂'yi indirgeyip OH oluşturabildikleri bilinmektedir.



Seruloplazmin Fe⁺²'ni Fe⁺³'e oksitler ve Fe⁺³'ün transferrine bağlanmasını kolaylaştırır. Seruloplazminin antioksidan aktivitesi: Ferroksidaz aktivitesi, askorbat oksidaz aktivitesi, oksijen radikali temizleyici aktivitesi ve GSH-bağımlı peroxidaz aktivitesi şeklinde 4 yolla olur. Transferrin de H₂O₂'den demir iyonu bağımlı hidroksil oluşumunu inhibe eder.¹⁸⁴

2.4.1.9. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada devamlı olarak serbest radikaller oluşmasının yanında güçlü savunma sistemleri de vardır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı yani oksidatif denge sağlandığı sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Antioksidan savunma sistemleri yeterince etkili olmadığında, organizmada serbest radikal üretimi artar ve doku hasarı meydana gelir. Bu duruma "oksidatif stres" adı verilir

I. Antioksidan Enzim Sistemleri

- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz
- Glutasyon Peroksidaz (GPX)
- Glutasyon Redüktaz (GRd)

II. Endojen Non-Enzimatik Antioksidan Ajanlar

- Askorbik Asit (Vitamin C)
- Vitamin E (α -Tokoferol)
- Vitamin A (β -Karoten)

Ürik Asit

Ürik asit, hemoglobini peroksit oksidasyonundan ve kırmızı hücreleri lipid peroksidasyonundan korur. Bunu OH veya singlet oksijenle reaksiyona girerek yapar. Ürat etkin bir hücre dışı radikal tutucudur ve plazmanın total antioksidan kapasitesinin % 25 'inden sorumludur.

Albümin

Her bir molekülünde bir sülfidril grubu içeren albümin, bakır ve demiri bağlayan, LOOH ve HOCL tutucu olarak görev yapan hücre dışı bir antioksidandır.

Selenyum

Sülfhidril Bileşikleri

III. Eksojen Non-Enzimatik Ajanlar

- Barbitüratlar
- Fenotiazinler
- Ksantin Oksidaz İnhibitörleri ¹⁸⁵

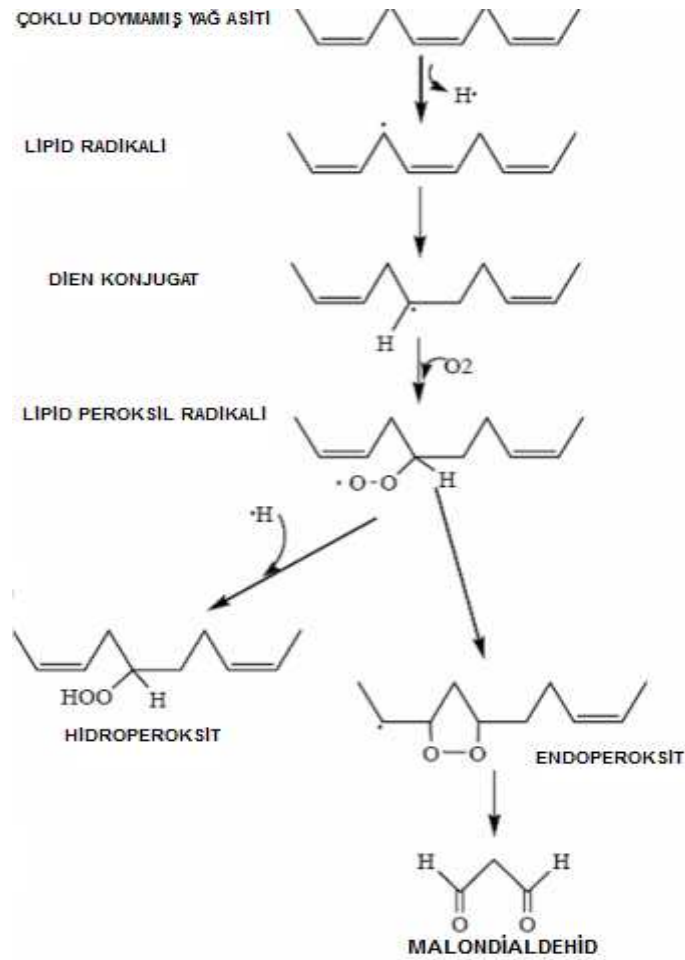
2.5.LİPİD PEROKSİDASYONU VE MALONDİALDEHİD

2.5.1. Malondialdehid:

Serbest radikallerin üretimi artarak antioksidan sistemle arasındaki dengede daha baskın hale geldiğinde serbest radikaller, organizma için pekde olumlu olmayan birçok reaksiyona girer. Özellikle hücrelerin membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve DNA, karbonhidratlar, enzimler ve sitoplazmada bulunan moleküller üzerinde bu reaksiyonları gerçekleştirebilirler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır. Serbest radikallerin savunma sistemlerinin kapasitesini aşarak organizmada bulunan biyomoleküllerde oluşturdukları bozukluklardan en çok etkileneni lipidlerdir. ¹⁸⁶

Lipid peroksitler de oksijenin serbest radikalleri gibi benzer hücresel komponentler üzerinde toksik etkilerini gösterirler. Lipid radikallerin hidrofobik yapıları nedeni ile reaksiyonların büyük çoğunluğu membrana bağlı moleküller ile meydana gelecektir. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonundan sonra ortamda kısa zincirli yağ asitlerinin varlığı membran permeabilitesini ve mikroviskoziteyi ciddi boyutlarda etkileyebilir. Lipid peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit, membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi determinantlarının agregasyon durumu gibi intrinsek membran özelliklerine sahip olduğu için DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bu özellikleri ile malondialdehit, mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir.

Poliansatüre yağ asidlerinin (PUFA) oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Bu reaksiyonlar sonucunda membran lipid yapısı değişmekte ve hücrenin yapısında bozulmalar oluşmaktadır. Lipit peroksidasyonunun başlaması ile birlikte lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden malondialdehid (MDA) bu sürecin değerlendirilmesinde en çok kullanılan belirteçtir. Oksidatif sistemin oluşturduğu hasarın incelenmesinde MDA lipid peroksidasyon sürecinde kullanılmakta ve bu reaksiyonun şiddeti ile orantılı olarak artış göstermektedir.^{187, 188}



Şekil 16: Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu¹⁸⁹

Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerin etkinliğinde oluşan oksidasyonu ile öncelikle lipid hidroperoksitler meydana gelir. Ardından siklik peroksitler meydana gelir.^{190, 191}

Serbest radikal üretimi normal hücresel fonksiyonun bir parçası olarak tüm hücrelerde sürekli oluşur. Ve oluşan bu radikaller lipidlerle de reaksiyona girerek yapılarında bozulmalara yol açabilmektedir. Lipidler üç farklı mekanizma tarafından oksitlenir. Bunlar lipitlerin enzimatik oksidasyonu, non-enzimatik serbest radikal aracılı oksidasyon ve non-enzimatik radikal aracılı olmayan oksidasyon. Her oksidasyon mekanizması belirli ürünler vermektedir.

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar. Serbest radikallerin lipid peroksidasyonuna yol açtığını ve bu şekilde çeşitli hastalıkların oluşmasında rol oynadığını gösteren çalışmalar vardır.¹⁹²

Lipid peroksidler daha sonra malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA

oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid ile reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir.^{184, 193}

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı ile ortaklaşa yürütülen bu çalışmaya endikasyonu dahilinde koroner anjyografisi yapılan ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan hastalar dahil edilmiştir. Hastalardan alınan kanlar koroner anjiyografi sonuçlarına göre tasnif edilerek kontrol grubu da dahil olmak üzere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Araştırma Laboratuvarında çalışılmıştır. Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulundan bilimsel araştırma izni alınmıştır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi (01/2009-03 No'lu proje) tarafından desteklenmiştir.

3.1.Çalışmaya Alınacak Hastaların ve Hasta Gruplarının Belirlenmesi:

Çalışmaya alınan hastalar Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Polikliniğine iskemik kalp hastalığını düşündüren semptomlarla başvuran ve yapılan klinik değerlendirmeye ve/veya non-invaziv test sonuçlarına göre bir kardiyoloji uzmanı tarafından koroner anjiyografi endikasyonu konulan hastalardan seçilmiştir. Koroner anjiyografi işlemleri Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Koroner anjiyografi ve Hemodinami Laboratuvarında girişimsel kardiyoloji konusunda deneyimli kardiyoloji uzmanları tarafından yapılmıştır.

3.1.2. Anjiyografi işlemi

3.1.2.1. Koroner anjiyografi

Selektif koroner anjiyografi Judkins kateterleri ile femoral yaklaşımla uygulandı (General Electric, 30 kare / sn, 6-7 F diyagnostik kateter). LAD (Left anterior descending) ve circumflex koroner arterleri, en az dört pozda ve sağ koroner arter en az iki pozda değerlendirildi. Koroner referans segment lezyon proksimali ve distalinden seçildi. Diyagnostik kateter kalibrasyonu ile çap ve lümen darlığı ölçüldü. Koroner lümen daralmaları, hastanın klinik durumunu bilmeyen iki farklı kardiyolog tarafından değerlendirildi. Koroner anjiyografiler, KAH ciddiyetini değerlendiren Gensini skoru ile yorumlandı.

Gensini tarafından tanımlanmış olan Gensini skorunda, anjiyografik stenoz derecesine göre; % 0-25 arası darlık için 1 puan, % 25-50 arası darlık için 2 puan, % 50-75 arası darlık için 4 puan, % 75-90 arası darlık için 8 puan, % 90-99 arası darlık için 16 puan, % 100 total lezyon için 32 puan verilir. Sol ana koroner arter 5, proksimal LAD 2,5; proksimal circumflex arter 2,5 (sol dominansi olduğunda 3,5); LAD orta segment 1,5; sağ koroner arter, distal LAD, posterolateral arter, obtus marjinal arter 1; diğerleri 0,5 ile çarpılır. Gensini skorunda kullanılan lezyon yüzdesi ve çarpım faktörleri, daha sonra her bir ana koroner arter ve her bir segment için tanımlanmış olan katsayı ile çarpılır ve sonuçlar toplanır. Gensini skoru 1-20 arasında ise hafif koroner ateroskleroz skor > 20 ise ciddi koroner ateroskleroz olarak kabul edilir.

3.1.3. Hastaların çalışmaya alınma kriterleri

Kardiyolojik muayene ve yapılan kardiyolojik tetkiklerin sonucuna göre koroner anjiyografi endikasyonu konulmuş hastalar.

3.1.4. Hastaların çalışmaya alınmama kriterleri

Böbrek yetmezliği, dekompanse kalp yetmezliği, periferik damar hastalığı, serebrovasküler hastalık, ciddi kalp kapak hastalığı ve ailevi hiperlipidemi sendromu hikayesi olan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır.

Çalışmamızda Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji servisinde yatan ve endikasyonu dahilinde koroner anjiyografisi yapılan hastalardan hasta alınma kriterlerine uygunlukları da gözetilerek koroner anjiyografi sonuçlarına ve Gensini Skorlamasına göre tasnif edilmiş, 29 normal koroner arter saptanan hasta, 32 minimal koroner arter hastası ve 33 şiddetli koroner arter hastası çalışmada yer aldı. Hastalara çalışmaya alınmadan önce tek tek hasta onam formları okunarak ya da bizzat kendileri okuyarak imzaları ve onamları alındı.

3.1.5. Kanların alınması ve serumların hazırlanması

12 saatlik açlık sonrasında hastalar koroner anjiyografi olmadan 30 dk önce alınan kanlar biyokimya tüpüne konuldu. 30 dk içinde 3000 devir/ dk da biyokimya tüpleri santrifüj edildi. Serum kısmı otomatik pipetle alındı. Eppendorf tüplerine 2cc serum konulup -80 °C' de donduruldu.

3.1.5. Hasta Takip ve Muayene Formu

Ad Soyad:

Yaş:

Tarih:

Şikayet

Hikaye

Bilinen kalp hastalığı:

FİZİK MUAYENE

TA:

Nb (Nabız):

Ateş:

Boy:

Kilo:

BMI:

ÖZGEÇMİŞ:

DM (Diabetes Mellitus):

HT (Hipertansiyon):

HL(Hiperlipidemi):

Nefropati:

KAG (Koroner Anjiyografi):

KAH (Koroner Arter Hastalığı) :

KOAH (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı):

PDH (Perifer Damar Hastalığı):

Böbrek hastalığı:

Sigara:

Alkol:

SVO (Serebro Vasküler Olay) :

Kullandığı ilaçlar:

Kollajen Doku Hastalığı:

Hepatit Hikayesi:

Alerji Hikayesi:

SOY GEÇMİŞ:

KAH (Koroner Arter Hastalığı):

DM (Diabetes Mellitus):

HT (Hipertansiyon):

KAG:

LAD:

CX:

RCA:

GENSİNİ SKORU:

ADMA:

TANILAR:

3.2 Çalışmada Uygulanan Deneyler

3.2.1. Deneylerde Kullanılan Araçlar ve Reaktifler

- Santrifüj (Sigma 2-5 Sartorius)
- Soğutmalı santrifüj (Hermle Z 323K)
- Derin Dondurucu (Arçelik 2020D)
- Spektrofotometre (Schimadzu, UV1601)
- Biyokimya araştırma laboratuvarında bulunan deneylerde kullanılan diğer malzemeler.
- Otomatik ve cam pipetler
- Hassas terazi (Schimadzu, UV 1601, Sunrise)
- İzokratik sisteme sahip floresan detektörlü Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (Shimadzu Prominence HPLC Cihazı)
- HPLC cihazı için faz kolonu (C18)
- Vortex
- pH metre (Jenway)
- EDTA
- Trikloroasetik asit,
- Tiobarbitürik Asit
- Distile Su
- Bütanol
- Ox-LDL ELISA Kiti İmmundiagnostik

3.3 Yöntem

3.3.1. ADMA'nın HPLC yöntemiyle ölçümü

ADMA ve SDMA'nın analizi HPLC yöntemiyle floresans dedektör aracılığıyla ölçüldü. Çalışmada Eureka ADMA kiti (100 testlik) kullanıldı.

Tablo 4: ADMA Kitinin İçeriği

Reagent A – Conditioning Solution N°1, 1 x 100 ml
Reagent B – Conditioning Solution N°2, 1 x 100 ml
Reagent C – Conditioning Solution N°3, 1 x 100 ml
Reagent D – Dilution Solution, 1 x 100 ml
Reagent E – Wash Solution N°1, 1 x 100 ml
Reagent F – Wash Solution N°2, 1 x 100 ml
Reagent I – Eluting Solution, 1 x 100 ml
Reagent J – Starter Solution, 1 x 5 ml
Reagent L – Derivatization Solution, 1 x 4,6 mg (5ml asetonitril ile çözünüz)
Reagent N – Buffer Solution N°1, 1 x 20 ml
Reagent O – Buffer Solution N°2, 1 x 20 ml
Reagent M – Mobile Phase, 8 x 500 ml
Reagent P – Chemical Standard Calibrator ADMA, 1 x 5 ml
Reagent Q – Chemical Standard Calibrator SDMA, 1 x 5 ml
Reagent R – Chemical Standard Calibrator Arginine, 1 x 5 ml
Clean-up Columns – 100 ADET

Gerekli Ekipmanlar

100-1000ul pipet

Vorteks

10 ml'lik plastik tüp

10-100ul pipet

Santrifüj

ADMA Kolon Özellikleri: Phenyl Kolon Spherisorb 250 mm x 4,6 mm, 5 µm

ADMA birim : µmol/l ADMA referans aralık: 0,368µmol/l den küçük

3.3.1.1. ADMA'nın HPLC Parametreleri

Tablo 5: ADMA'nın HPLC Parametreleri

Kolon	C18 10 µm
Kolon boyutu	125 mm x 4 mm
Akış hızı	1 ml
Flüoresan detektör	420 nm- Emisyon 483 nm
Voltaj	Orta
İnjesyon	5 saniye
İnjesyon Miktarı	100 µl
Basınç Yaklaşık	120 bar
Çalışma süresi	30 dakika
Referans Aralık	< 0.368 umol/L
Mobil Faz	Geri Dönüşümsüz

3.3.1.2. Analitik Prosedür

Tablo 6: ADMA'nın çalışma prosedürü

10 ml'lik plastik tüplere kimyasal standart kalibratör ve numuneler konur		
Öncelikle ön kolonlardan sırası ile	1ml Reagent A,B,C süzdürüldü,	
1. BASAMAK	Standart	Numune
Reaktif D-solüsyonu seyreltildi	1000 µl	1000 µl
Reaktif P- kimyasal standart solüsyonu seyreltildi	400 µl	/
Numuneler	/	400 µl
2. BASAMAK	Kimyasal standart kalibratör ve örneklerden 1,4 ml önceden hazırlanmış temizleme kolonuna konur.	
3. BASAMAK	Temizleme kolonlarına 1,0 ml reaktif E – yıkama solüsyonu N°1 konur, sıvı süzülerek boşalır. 1,0 ml reaktif F - yıkama solüsyonu N°2 konur, sıvı süzülerek boşalır ve kurulanır.	
4. BASAMAK	Temizleme kolonlarına 1,0 ml Reaktif İderişimi azaltma solüsyonu eklenir.	

5. BASAMAK	200 µl eluate (purifikasyon basamağından) 200 µl reaktif N –tampon solüsyonu 150 µl reaktif O- tampon solüsyonu 30 µl reaktif J –başlama solüsyonu 30 µl reaktif L – türevlendirme solüsyonu (rekonstitüsyondan sonra) 1,5 ml'lik tüplere pipetlenir ve vortekslenir.
6. BASAMAK	30 dakika 20 °C de inkübasyon
7. BASAMAK	150 µl distile su eklenir ve 5 saniye vortekslenir. Basamak 5'te hazırlanan solüsyondan 100 µl sisteme enjekte edilir. Bu basamaktan sonra örnekler 2-8 °C'de 24 saat bekleyebilir.

Numune ve kolon hazırlıklarından sonra analitik prosedürdeki her bir basamağın uygulanışının ardından Shimadzu Prominence HPLC cihazı pompa, otosampler ve sistem kontrol düğmesi açılır. Sistemin ADMA'ya uygun metodunun seçimi için cihazın bilgisayar bağlantısı aktiflenir ve ADMA için metod seçilir. Öncelikle çalışmaya başlamadan yaklaşık 20 dakika kadar metanollü su sistemden geçirilir. Bu işleme yıkama işlemi denilmektedir. Ardından sistem ve pompa durdurularak ADMA mobil fazı takılır, 1 ml/dk akış hızı ile mobil faz atığa aktarılır.

İnjesiyon hacmi yukarıda da aktarıldığı gibi 100 µl olarak kalibratör, normal ve anormal kontroller okutulur ve cihazın ayarlanması yapılmış olur. Ve sonuçta numuneler okutulur. Çalışma bitiminde kolon çıkarılır ve mobil faz yerine metanollü su ile sistemin temizliği yapılır.

ADMA kolonu takılı iken çalışma esnasında çıkan ADMA pikinin ardından hazırlanan yöntemle uygun olarak SDMA piki de gözlenir. Referans aralıkları ADMA için 0.368 µmol/l den küçük, SDMA için 0.29-0,63 µmol/l'dir.

3.3.2. MDA'nın HPLC yöntemiyle ölçümü

NUMUNE HAZIRLAMA PROSPEKTÜSÜ

Tablo 7: Kit içeriği (Malondialdehyde İmmuchrom)

ELU	Mobile Phase	1x1000ml
CAL	Calibrator	5vials
DERIVAT	Derivatisation Solution	1x100ml
REAL	Reaction Solution	50ml

Tablo 8: MDA Metod Parametreleri

METOD PARAMETRELERİ	
ÇALIŞMA SÜRESİ:	4dk
DETEKTÖR TİPİ:	Fluoresan detektör
DALGA BOYU EX:	515nm
EM:	553nm
AKIŞ HIZI:	1 ml
ENJEKSİYON HACMİ:	20ul
NUMUNE TİPİ:	Edalı tüp ya da biyokimya tüpü
NUMUNE TOPLANMASI:	Plazma ve Serum
REFERANS ARALIK VMA:	<1umol/l
MOBİL FAZ:	Geri Dönüşümlü
HESAPLAMA YÖNTEMİ:	External standart

3.3.2.1. MDA Kolon Özellikleri

MDA kolon özellikleri: bischoff prontosil eurobond 125 mm x 4 mm, 5µm

MDA birim: µmol/l

MDA referans aralık: 1 µmol/l den küçük

Tablo 9: MDA Numune Hazırlama

1,5ml'lik ephendorf şeklindeki reaksiyon tüpünün içerisine;
20ul numune, 20 ul kalibratör ve 20ul kontrol çözelti pipetle alındı
Üzerine 1ml DERİVAT çözeltisi eklendi
Tüpler 15sn vortexle karıştırıldıktan sonra
95 derecede 60dk su banyosunda inkübasyona bırakıldı
Daha sonra numuneler 2-8°C'ye kadar soğutuldu
10.000 devirde 5 dk santrifüj edildi
Ayrılan süpernatandan 500ul alındı
Ardından 500ul REAL eklendi ve karıştırıldı
15 sn vortekslendi
20ul süpernatant alınarak HPLC sistemine enjeksiyon yapıldı

Numune ve kolon hazırlıklarından sonra analitik prosedürde bulunan her bir basamığın uygulanışının ardından Shimadzu Prominence HPLC cihazı pompa, otosampler ve sistem kontrol düğmesi açılır. Sistemin MDA'ya uygun metodunun seçimi için cihazın bilgisayar bağlantısı aktiflenir ve MDA için metod seçilir. Öncelikle çalışmaya başlamadan yaklaşık 20 dakika kadar metanollü su sistemden geçirilir. Bu işleme yıkama işlemi denilmektedir. Ardından sistem ve pompa durdurularak MDA mobil fazı takılır, 1 ml/dk akış hızı ile mobil faz atığa aktarılır.

İnjesiyon hacmi yukarıda da aktarıldığı gibi 100 µl olarak kalibratör, normal ve anormal kontroller okutulur ve cihazın ayarlanması yapılmış olur. Ve sonuçta numuneler okutulur. Çalışma bitiminde kolon çıkarılır ve mobil faz yerine metanollü su ile sistemin temizliği yapılır.

3.3.4. Okside LDL'nin Elisa Yöntemi İle Ölçümü

Okside LDL Immundiagnostik ox LDL ELISA kiti (Lot No: K7810-100316) kullanılarak tayin edildi. Bu yöntem EDTA'lı plazma ve serumda direkt okside LDL'yi ölçen sandwich ELISA yöntemidir. Mikroplate kuyucukları yüksek affiniteli antikorlarla kaplanmıştır ve bu kuyucuklara standart, kontrol ve ox-LDL içeren örnekler yerleştirildi. İlk inkübasyon ile kuyucukların duvarına yapışan antikorlar hasta numunelerindeki antijenleri yakalamaktadır. Hasta örneklerindeki bu bağlanmanın olmadığı bileşikler ise yıkama yolu ile uzaklaştırılmaktadır. Bu yıkama işleminden sonra peroksidaz substratı olarak kullanılan tetrametil benzidin (TMB)'den elde edilen konjuge antikorlar her bir plate kuyucuğuna yerleştirildi. Ve en sonunda asidik sonlandırma solüsyonu eklendi ve reaksiyon sonlandırılmış oldu. Meydana gelen sarı renk yoğunluğu ve şiddeti numunelerdeki okside LDL miktarı ile doğru orantılı bir şekilde spekturumal olarak değişim göstermektedir.

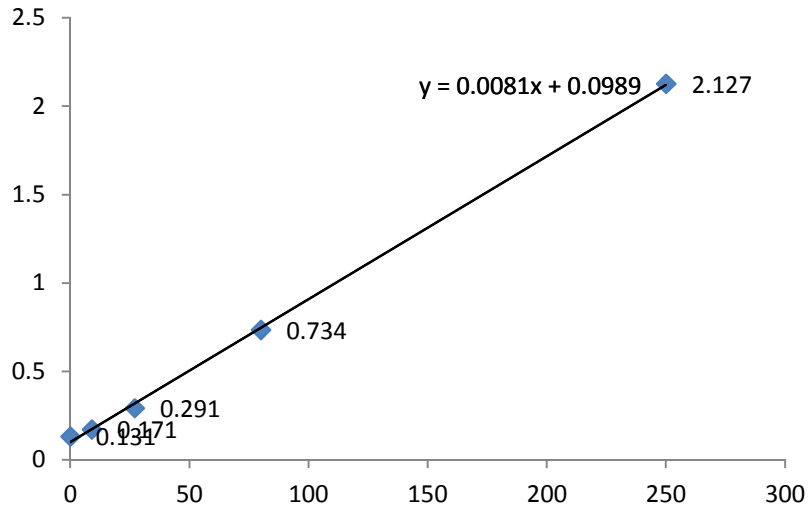
Tablo 10: Ox-LDL Elisa Testi Uygulama Aşamaları

1-BASAMAK	Hasta numuneleri, Kit ve reaktifler oda sıcaklığına (18-26°C) getirildi ve iyice karıştırıldı.
2- BASAMAK	Pleyti numaralandırıldı. Standart, kontrol ve örnekler işaretlendi. Standart, kontrol ve örnekler dublike çalışıldı.
3- BASAMAK	250 µl Wash Buffer ile Plate'nin her bir kuyucuğu dilüe yıkama tamponuyla 5 kez damla kalmayacak şekilde yıkandı.
4- BASAMAK	Standart, kontrol ve örnek seyreltme tamponuyla 1:10 seyreltilen örneklerden 100'er µL ilgili kuyucuğa ilave edildi.
5-BASAMAK	Pleyti kapatıp, horizontal karıştırıcıda oda sıcaklığında 4 saat inkübasyona bırakıldı
6- BASAMAK	Her bir kuyucuk aspire edildi. 250 µl Wash Buffer ile sonra yıkama tamponuyla damla kalmayacak şekilde 5 kez yıkandı.
7- BASAMAK	Her bir kuyucuğa 100'er µL konjugat (peroksidaz konjuge antikor) ilave edildi.
8- BASAMAK	Pleyti kapatıp, horizontal karıştırıcıda oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı.
9- BASAMAK	Her bir kuyucuk aspire edildi. 250 µl Wash Buffer yıkama tamponuyla damla kalmayacak şekilde 5 kez yıkandı.
10- BASAMAK	Her bir kuyucuğa 100 µL substrat olarak tetrametil benzidin ilave edildi
11- BASAMAK	Oda sıcaklığında ve karanlıkta 15-25 dakika inkübasyona bırakıldı
12- BASAMAK	Reaksiyonu sonlandırmak için her bir kuyucuğa 50 µl asidik reaksiyonu durdurma solüsyonu ilave edildi.
13- BASAMAK	ELISA okuyucusunda 620 nm referans alınarak 450 nm'de okuma yapıldı ve sonuçlar hesaplandı.

Tablo 11: Beş farklı standarttan elde edilen Ox-LDL absorbanslarının ortalaması

Konsantrasyon (ng/ml)	Absorbans
0	0.131
9.00	0.171
27.00	0.291
80.00	0.734
250.00	2.127

5 farklı standarttan elde edilen Ox-LDL absorbanslarının ortalaması Y eksenini, konsantrasyonları X eksenini olacak şekilde oluşturulan standart grafik yardımı ile değerler hesaplandı ve grafiğe geçirildi. Standartların absorbans değerleri yukarıdaki tabloda gösterilmiştir. Grafikten ve denklemden faydalanarak numunelerin elde edilen optik dansiteleri denklemden yerine konularak numunelerin Ox-LDL konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 17: Ox-LDL Standart absorbans konsantrasyon grafiği

3.3.5. MDA'nın TBARS Yöntemiyle Ölçümü

Serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA'nın tayini tiobarbitürik asid reaktivitesi kullanılarak ölçüldü. Serum MDA düzeylerinin hesaplanmasında kullanılan yöntem Yoshioka T ve arkadaşlarının uyguladıkları şekilde düzenlendi. Bu yöntemin ana mekanizması serumda bulunan proteinlerin trikloroasetik asid (TCA) ile çöktürülmesinin ardından MDA'nın TBA (Tiobarbitürik asid) ile oluşturduğu kompleksin kolorometrik olarak ölçümüne dayanır. Yağ asidi peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek 532 nm'de maksimum absorbands veren renkli bir kompleks oluşturur.¹⁹⁴

3.3.5.1. MDA'nın TBARS Yöntemiyle Tayininde Kullanılan Reaktifler:

%10 TCA; distile su içinde hazırlandı

%0.67 TBA; distile su içinde hazırlandı

n-butanol

MDA Standartı olarak 1,1,3,3 tetrametoksi propan (0-20 nmol/ml arasındaki konsantrasyonlarda standart olarak hazırlandı)

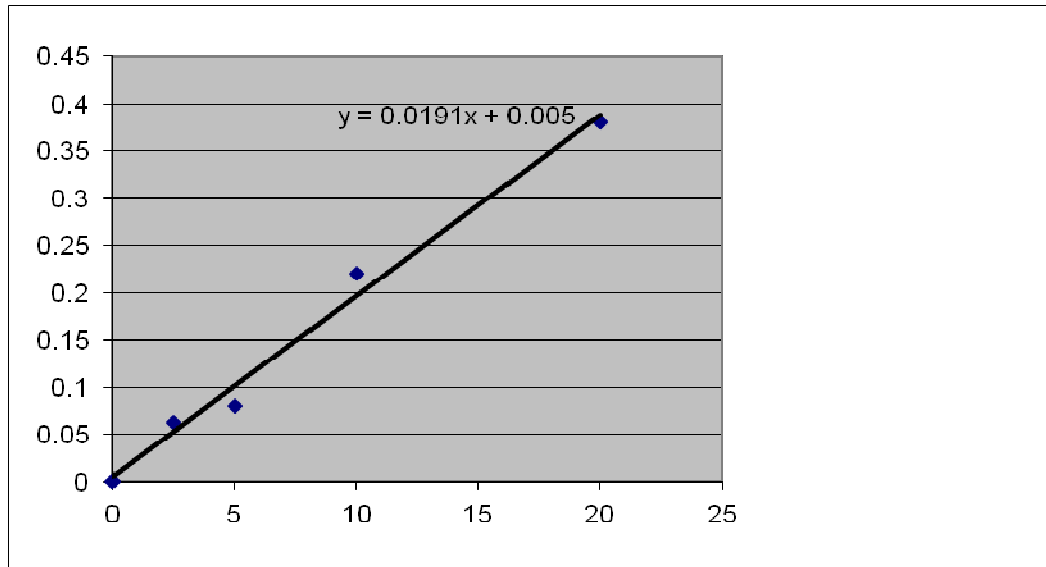
Tablo 12: MDA ölçümünün aşamaları

	Standart	Numune	30 dk sıcak	n-butanol	
TCA	1250 µl	1250 µl	Su banyosunda kaynatılır ve hemen soğutulur	Tüm tüplere 2 ml ilave edilir	Vortekslendi ve 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi
TBA	500µl	500µl			
Numune	—	250µl			
Standart	250µl	—			

Ardından Plate e 250 mikrolitre karışımın üst kısmından konularak 532 nm dalgaboyunda okutuldu.

Hazırlanan MDA standartlarından elde edilen grafik ile örneklerin absorbans değerlerinden yola çıkılarak numunelerin MDA konsantrasyonları nmol/ml cinsinden hesaplandı.

3.3.5.2.MDA'nın Standart Grafiği



Şekil 18: MDA'nın Standart Grafiği

Serum MDA Düzeylerinin Hesaplanması

Grafikte Y=Absorbsiyon değerlerini, X=MDA konsantrasyonlarını ifade etmekte. Y'nin yerine elde edilen numune absorpsiyonları konularak X değerleri yani MDA konsantrasyonları bulundu. Grafikte yatay X eksenini MDA standartlarının nmol/ml cinsinden konsantrasyonlarını ifade ederken, Y eksenini absorpsiyon değerlerini ifade etmektedir. Numunelerin elde edilen absorpsiyonları denklemde yerine konularak numunelerin MDA konsantrasyonları nmol/ml cinsinden aşağıdaki şekilde hesaplandı.

Numunenin MDA Konsantrasyonu (x) (nmol/ml): $(\text{Abs numune} - 0.0051) / 0.0191$

3.4. İstatistik Analizler

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 paket programı (Chicago, IL, ABD) ile değerlendirilmiştir. Verilerin normallik testi sonucunda; gruplar arası farklılık incelenirken ikili gruplarda Mann Whitney U Testi, ikiden fazla gruplarda ise Bonferroni düzeltmeli Kruskal Wallis H Testi uygulanmıştır. Değişkenlerin birbiriyle olan bağımlılık durumları incelenirken Ki-Kare Bağımsızlık analizi ve değişkenler arası ilişkiler incelenirken Korelasyon katsayısından yararlanılmıştır.

Gruplar arası farklılık incelenirken; anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup $p < 0,05$ olması durumunda gruplar arası anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise gruplar arası anlamlı farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

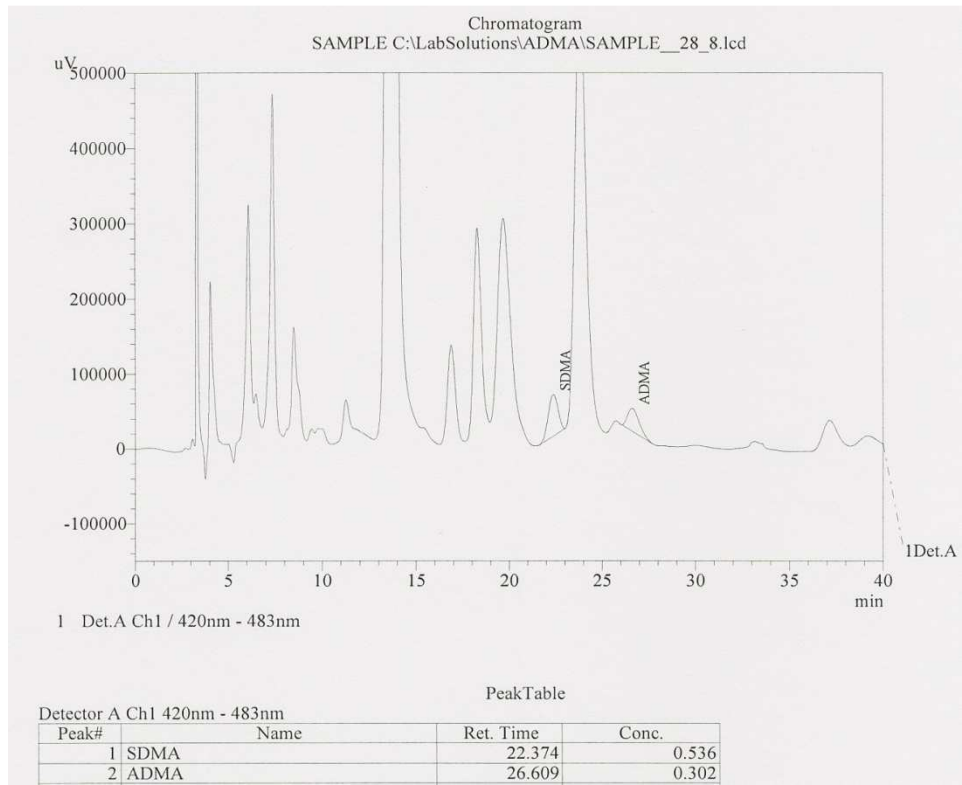
4. BULGULAR

Çalışmamıza alınan toplam 94 kişiden 29 tanesi (çalışmaya alınan toplam kişi sayısının %30'u) koroner arterleri normal saptanan bireylerden oluşurken, 32'si (%34) minimal koroner arter hastalığı saptanan, 33'ü ise (%35) ciddi koroner arter hastalığı saptanan kişilerden oluşturuldu.

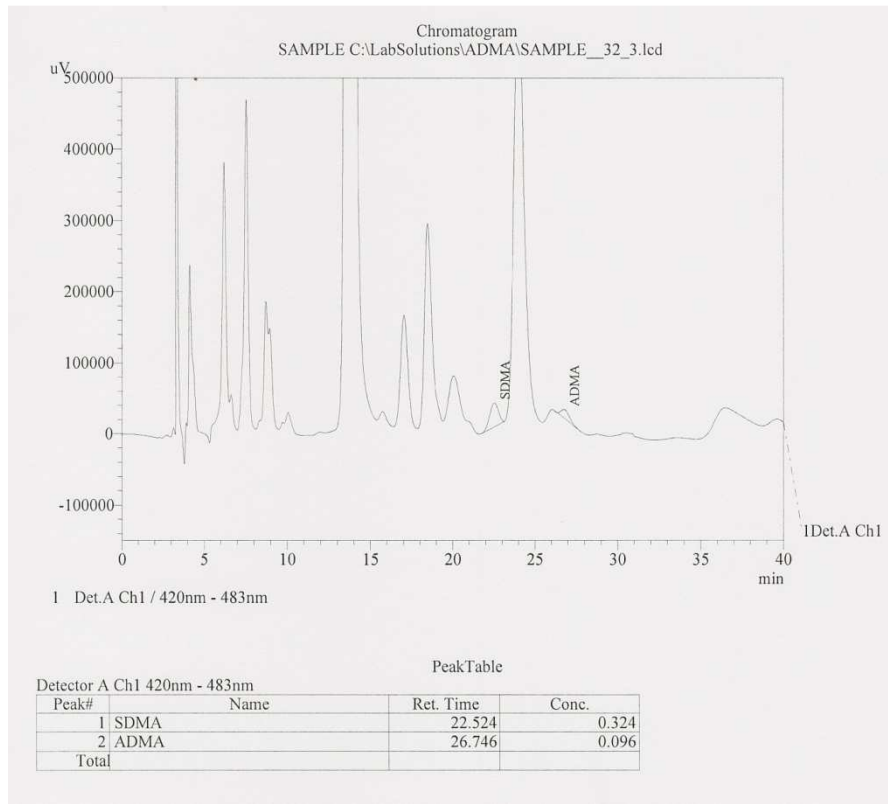
Bu çalışmada koroner anjiogramlara göre hesaplanan Gensini Skoruna göre çalışma popülasyonu koroner arterleri normal saptanan bireyler, minimal koroner arter hastalığı saptananlar ve ciddi koroner arter hastalığı olanlar şeklinde gruplara ayrılmıştır. Bu gruplarda ADMA, SDMA, Ox-LDL, MDA HPLC VE MDA SPK (spektrofotometre) düzeyleri çalışılmış ve koroner arterleri normal tespit edilenler kontrol grubu olarak kabul edilerek, minimal ve ciddi koroner arter hastalığı grupları gerek kontrol grubuna karşı, gerekse de kendi aralarında yukarıda sayılan biyokimyasal parametreler açısından karşılaştırılmıştır.

4.1. Koroner Arterleri Normal Saptanan, Minimal Koroner Arter ve Ciddi Koroner Arter Hastalığı olan Bireylerde ADMA Seviyeleri

Şekil 19'da koroner anjiografi sonrası Gensini skoruna göre ciddi koroner arter hastalığı saptanan bir hastanın ADMA ve SDMA sonuç kromotogramı gösterilmektedir. Şekil 20'de ise normal koroner arter saptanan bir bireyde ADMA ve SDMA kromotogramı gösterilmektedir.

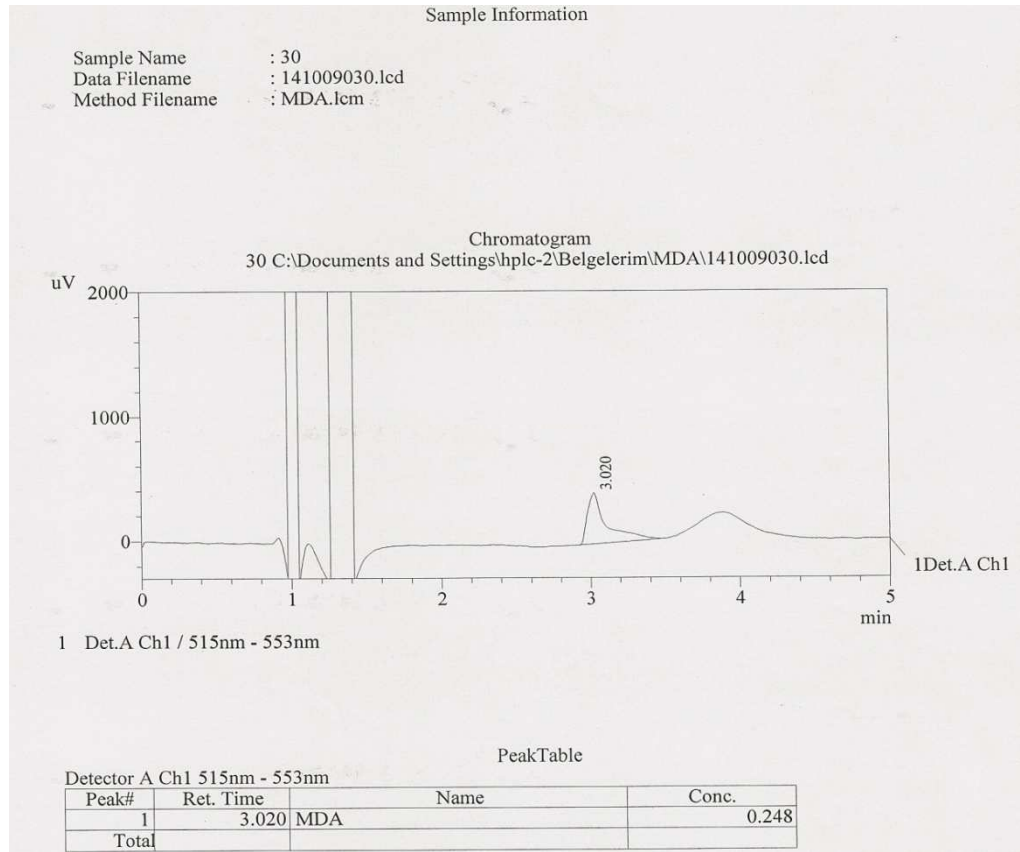


Şekil 19: Ciddi KAH'ı olan hastaya ait ADMA-SDMA kromotogramı

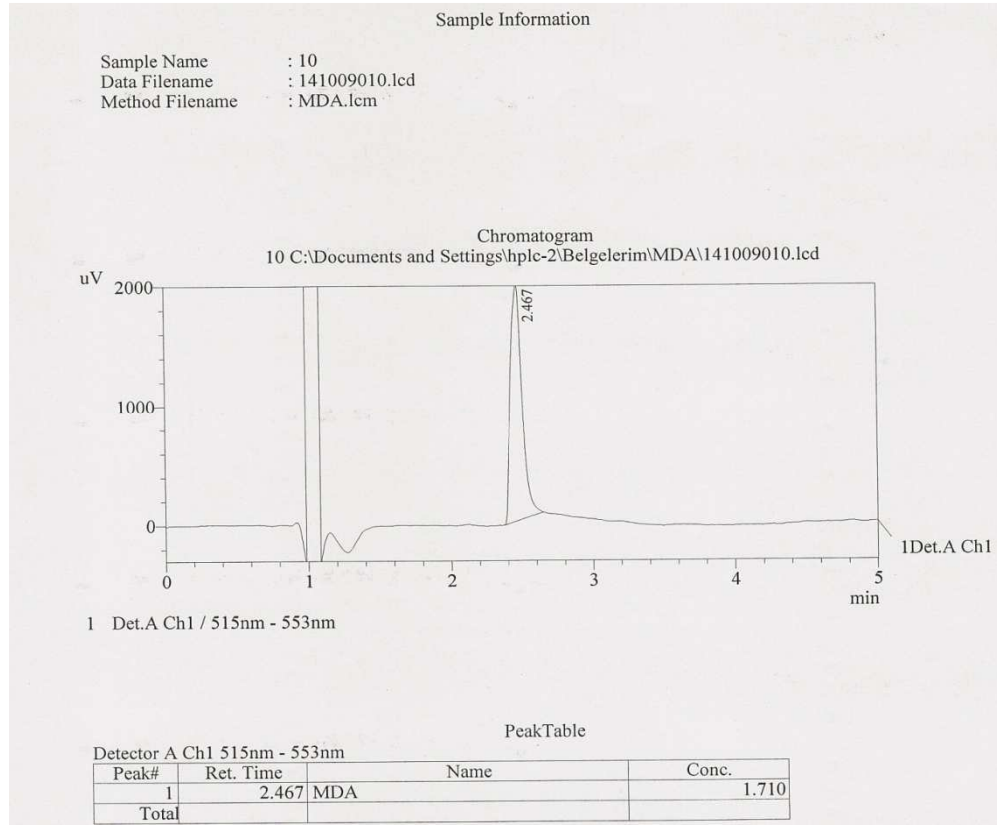


Şekil 20: NKA Saptanan Kontrol Grubundaki Bir Kişiy e ait ADMA-SDMA Kromotogramı

4.2. Normal Koroner Arter, Minimal Koroner Arter ve Ciddi Koroner Arter Hastalığı olan Hastalarda MDA Seviyeleri



Şekil 21: NKA saptanan bir bireyin MDA HPLC ölçüm Kromotogramı



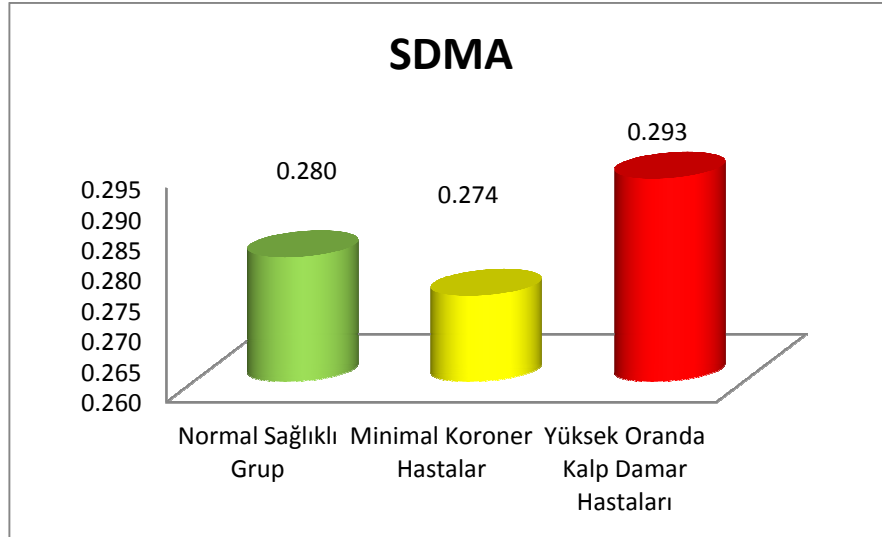
Şekil 22: Ciddi Koroner Arter Hastalığı saptanan Hastada MDA HPLC Kromotogramı

4.3. ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve OKSİDE LDL'nin Gensini Skoruna Göre Üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi

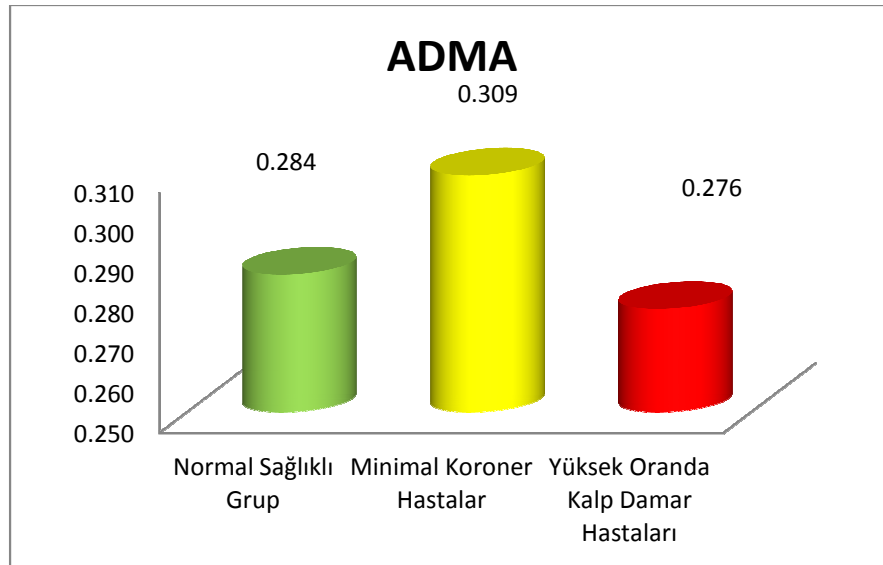
Tablo 13: SDMA, ADMA, MDA HPLC, MDA SPK VE Ox- LDL parametrelerinin Gensini Skoruna göre değerlendirilmesi;

		Grup						Kruskal-Wallis H Testi	
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Ki Kare	P
SDMA µmol/L	A:Normal Sağlıklı Grup	29	0,280	0,277	0,148	0,534	0,095	0,91	0,635
	B:Minimal KAH	32	0,274	0,273	0,117	0,511	0,111		
	C:Ciddi Oranda KAH	33	0,293	0,317	0,005	0,553	0,162		
ADMA µmol/L	A:Normal Sağlıklı Grup	29	0,284	0,280	0,096	0,641	0,103	2,26	0,323
	B:Minimal KAH	32	0,309	0,305	0,116	0,613	0,098		
	C:Ciddi Oranda KAH	33	0,276	0,287	0,041	0,733	0,131		
MDA HPLC mikromol/litre	A:Normal Sağlıklı Grup	29	0,981	0,910	0,248	1,821	0,358	0,16	0,921
	B:Minimal KAH	32	0,980	0,960	0,42	1,678	0,283		
	C:Ciddi Oranda KAH	33	1,008	0,950	0,43	1,710	0,337		
MDA SPK mikromol/litre	A:Normal Sağlıklı Grup	29	2,980	2,717	2,194	5,754	0,858	3,46	0,177
	B:Minimal KAH	32	2,807	2,691	2,246	4,916	0,480		
	C: Ciddi Oranda KAH	33	3,122	2,927	2,194	5,754	0,825		
OKSİDE LDL ng/ml	A:Normal Sağlıklı Grup	29	91,0	36,0	2,3	378,9	113,4	0,25	0,884
	B:Minimal KAH	32	83,4	40,5	2,3	417,2	102,9		
	C:Ciddi Oranda KAH	33	89,3	15,8	2,3	457,8	118,3		

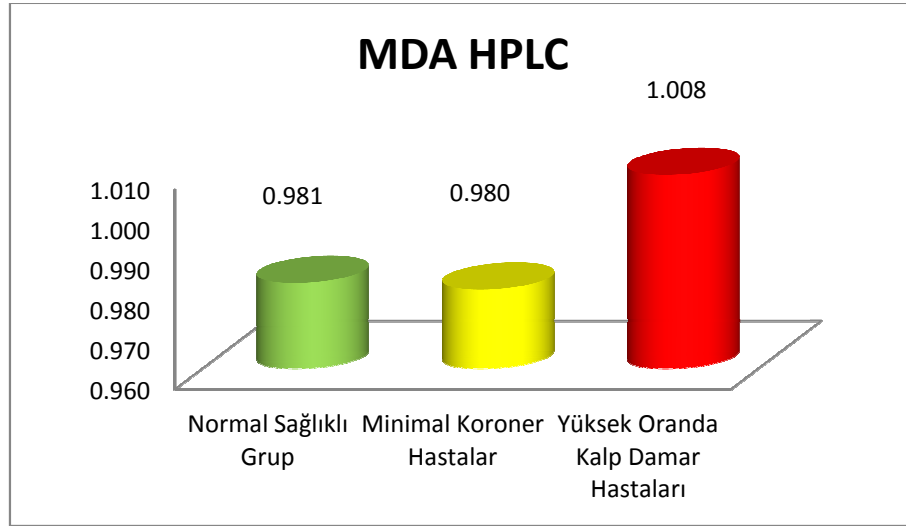
Yukarıdaki tabloda Gensini skoruna göre oluşturulan hasta grupları arasında SDMA, ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve OKSIDE LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemektedir($p>0,05$).



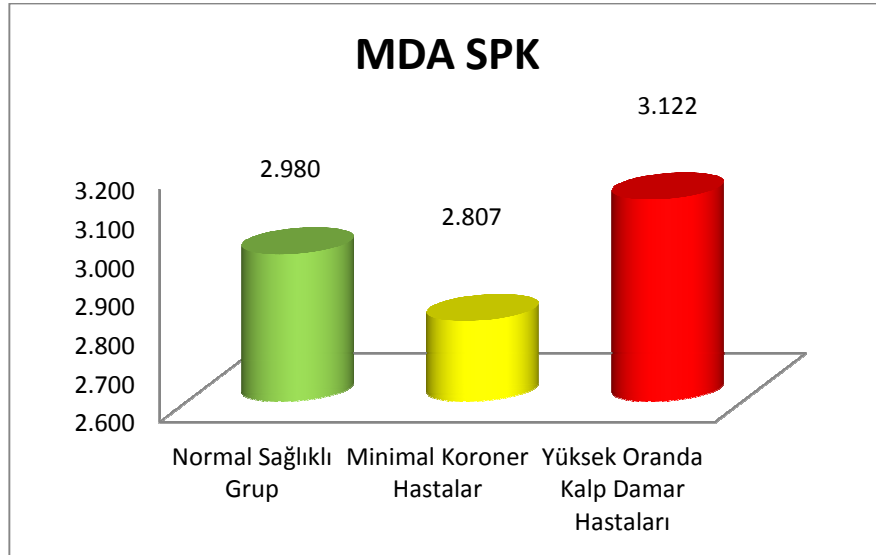
Şekil 23 : Hasta grupları açısından SDMA değerlerinin grafik ile gösterimi.



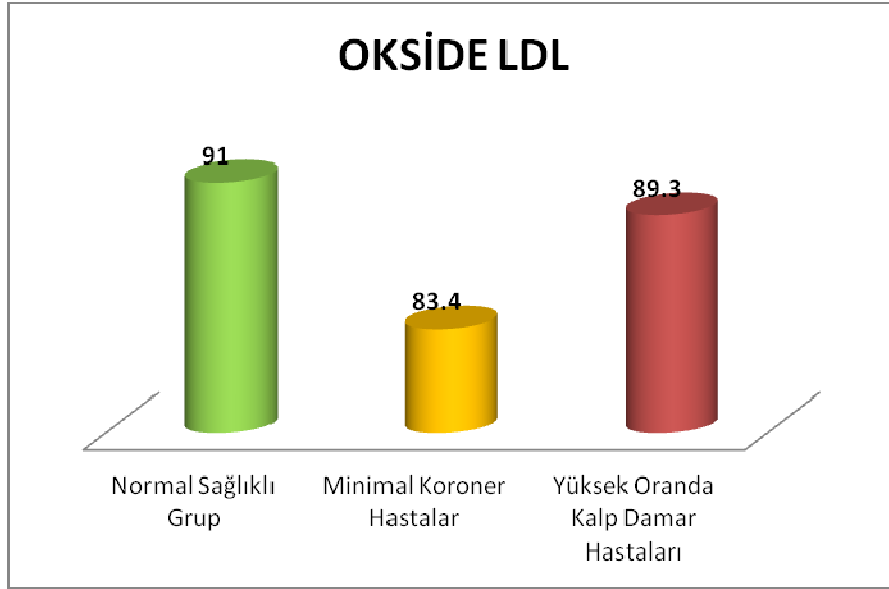
Şekil 24 : Hasta grupları açısından ADMA'nın değerinin grafik ile gösterimi



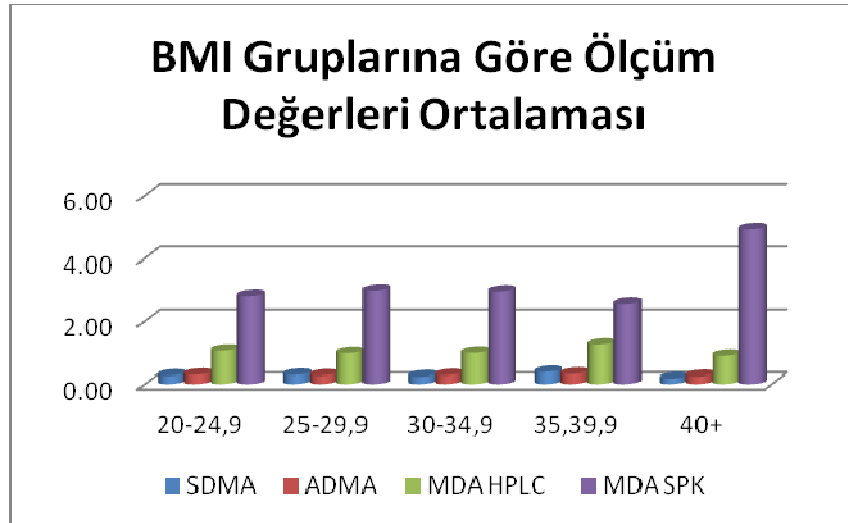
Şekil 25 : Hasta grupları açısından MDA HPLC değerlerinin grafik ile gösterimi.



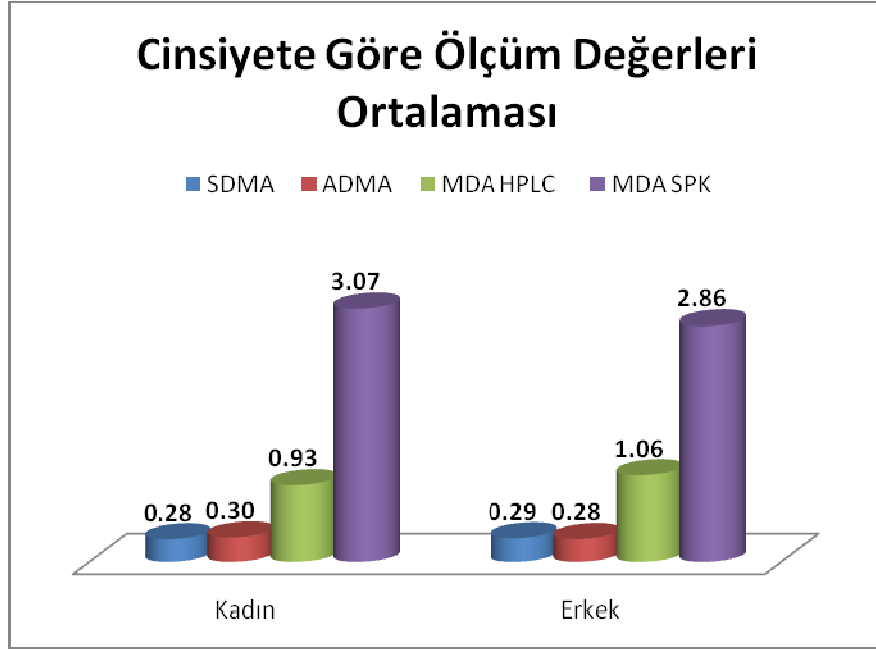
Şekil 26 : Hasta grupları açısından MDA SPK değerlerinin grafik ile gösterimi.



Şekil 27: Hasta grupları açısından OKSİDE LDL değerlerinin grafik ile gösterimi.



Şekil 28: BMI Gruplarına Göre Ölçüm Değerleri Ortalaması



Şekil 29: Cinsiyete Göre Ölçüm Değerleri Ortalaması

4.4. ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve OKSİDE LDL'nin Gensini Skoruna Göre İki Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi

Tablo 14: ADMA, MDA HPLC VE MDA SPK VE OX-LDL'nin Gensini Skoruna göre oluşturulan gruplara göre değerlendirilmesi;

		GRUP1						Mann-Whitney U		
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Sıra Ortalaması	U	p
SDMA µmol/L	Ciddi KAH Olmayan Grup	61	0,277	0,273	0,117	0,534	0,101	33,37	466,5	0,354
	Ciddi KAH olan Grup	33	0,293	0,317	0,005	0,553	0,162	38,06		
ADMA µmol/L	Ciddi KAH Olmayan Grup	61	0,297	0,290	0,096	0,641	0,100	49,16	905,0	0,421
	Ciddi KAH olan Grup	33	0,276	0,287	0,041	0,733	0,131	44,42		
MDA HPLC mikromol/litre	Ciddi KAH Olmayan Grup	61	0,981	0,950	0,248	1,821	0,318	46,68	956,5	0,692
	Ciddi KAH olan G	33	1,008	0,950	0,430	1,710	0,337	49,02		

MDA SPK mikromol/litre	Ciddi KAH Olmayan Grup	61	2,889	2,717	2,194	5,754	0,686	43,70	775,0	0,066
	Ciddi KAH olan Grup	33	3,122	2,927	2,194	5,754	0,825	54,52		
OKSIDE LDL ng/ml	Ciddi KAH Olmayan Grup	61	87,15	36,00	2,30	417,20	107,31	47,53	913,0	0,622
	Ciddi KAH olan Grup	33	89,35	15,80	2,30	457,80	118,26	44,67		

Hastalık grupları arasında SDMA, ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve OKSIDE LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemektedir($p>0,05$).

Bu istatistiksel değerlendirme yapılırken oluşturulan, **Ciddi Koroner Arter Hastalığı olmayan grup (Ciddi KAH Olmayan Grup)**; koroner anjiyografisinde Normal Koroner Arter saptanan kişileri ve Minimal Koroner Arter Hastalarını kapsarken,

Ciddi Koroner Arter Hastalığı Olan Grup (Ciddi KAH Olan Grup); ise Gensini skoruna göre Ciddi Koroner ateroskleroza (skor > 20) olan grubu ifade etmektedir. Gensini skorlamasına göre üç gruba ayrılan bir önceki değerlendirmede de olduğu gibi istatistiksel olarak benzer sonuçlar burada da gözlemlendi.

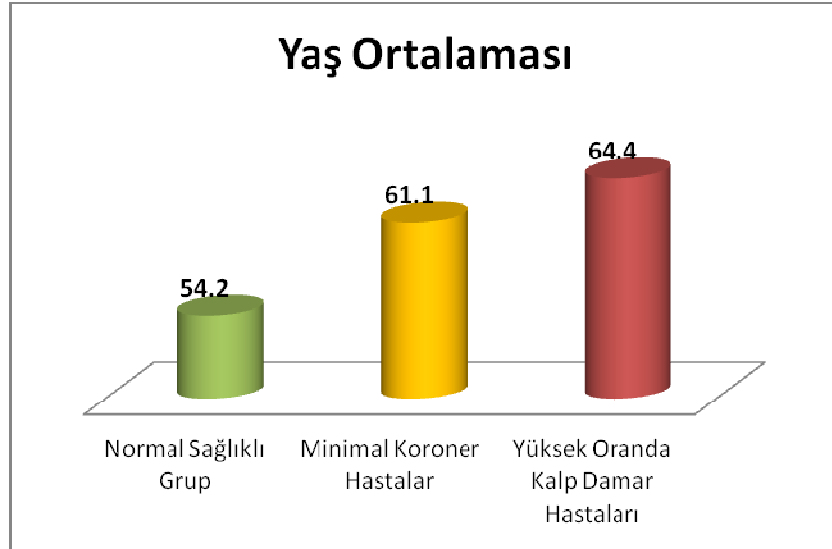
4.5. Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna Göre Üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi

Tablo 15: Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna göre üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi I;

		Grup						Kruskal-Wallis H Testi		
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Ki Kare	p	İkili Karşılaştırma
YAŞ	A:Normal Sağlıklı Grup	29	54,2	56,0	33,0	74,0	11,3	10,29	0,006	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	61,1	62,0	37,0	82,0	11,2			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	64,4	64,0	42,0	84,0	10,6			
BOY(m)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	1,599	1,590	1,520	1,750	0,060	14,69	0,001	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	1,665	1,695	1,490	1,820	0,090			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	1,673	1,700	1,540	1,800	0,067			
KİLO(kg)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	71,8	70,0	58,0	90,0	8,6	6,60	0,037	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	78,0	75,0	55,0	100,0	10,4			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	75,4	78,0	52,0	90,0	8,3			
BKI(kg/m2)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	28,1	27,3	23,4	36,5	3,5	1,48	0,478	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	28,3	27,5	21,8	41,6	4,5			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	26,9	27,0	20,3	33,2	2,7			
AKŞ(normal referans aralığı65-105mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	105,4	99,6	83,4	188,0	25,6	5,93	0,052	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	107,1	95,1	83,4	306,0	42,4			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	132,1	112,5	86,4	370,0	59,7			

BUN (normal referans aralığı 5-25mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	13,7	11,7	6,1	25,4	5,0	9,47	0,009	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	17,5	16,5	8,3	42,0	7,0			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	17,7	18,3	7,9	29,4	4,9			
ÜRİK ASİT(normal referans aralığı 0.01-7.5mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	4,7	4,0	3,4	7,4	1,2	8,04	0,018	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	5,8	5,7	2,9	10,1	1,7			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	5,6	5,4	3,3	8,3	1,3			
GGT(normal referans aralığı 2-49U/L)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	18,6	14,3	7,6	50,4	11,6	11,94	0,003	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	27,2	23,4	10,3	112,0	20,8			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	42,2	32,4	2,8	171,0	36,7			
AST(normal referans aralığı 1-42U/L)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	22,5	19,3	10,9	104,0	17,4	1,01	0,604	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	23,2	18,7	11,1	97,0	15,5			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	22,2	18,3	11,0	108,0	17,8			
ALT(normal referans aralığı 1-41U/L)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	26,5	18,0	10,2	139,0	28,3	2,12	0,346	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	23,9	20,5	12,5	51,7	10,1			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	20,1	19,2	4,1	45,9	8,8			

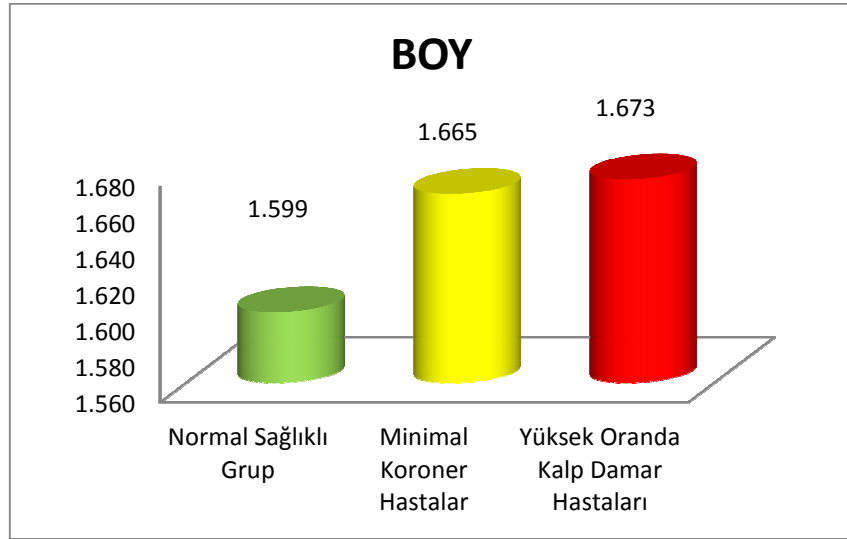
4.5.1. Hasta Gruplarının Yaş Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 30: Yaş ortalamasının hasta gruplarına göre değerlendirilmesi

Hasta grupları arasında yaş açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p<0,05$). Sağlıklı bireylerin yaş ortalaması, minimal koroner ve yüksek oranda kalp damar hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

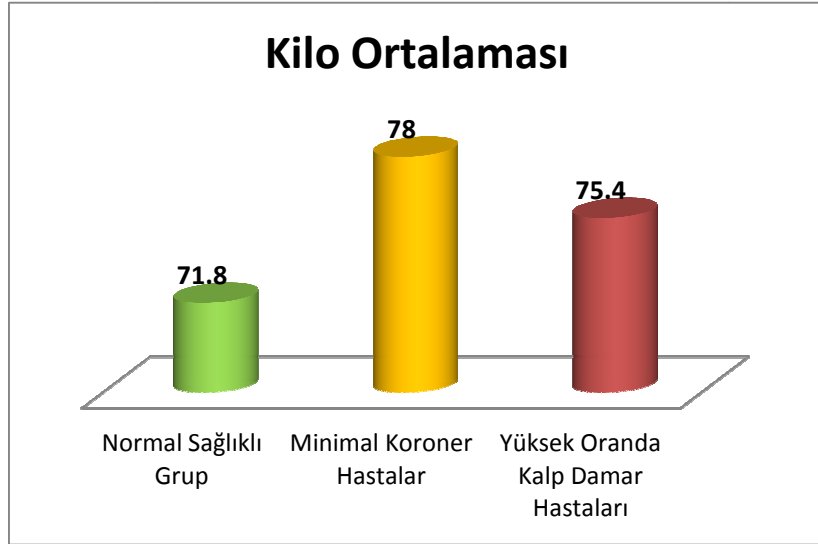
4.5.2. Hasta Gruplarının Boy Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 31: Boy uzunluğuna göre hasta gruplarının değerlendirilmesi

Hasta grupları arasında boy uzunluğu açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir ($p < 0,05$). Sağlıklı bireylerin boy uzunluğu, minimal koroner ve yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

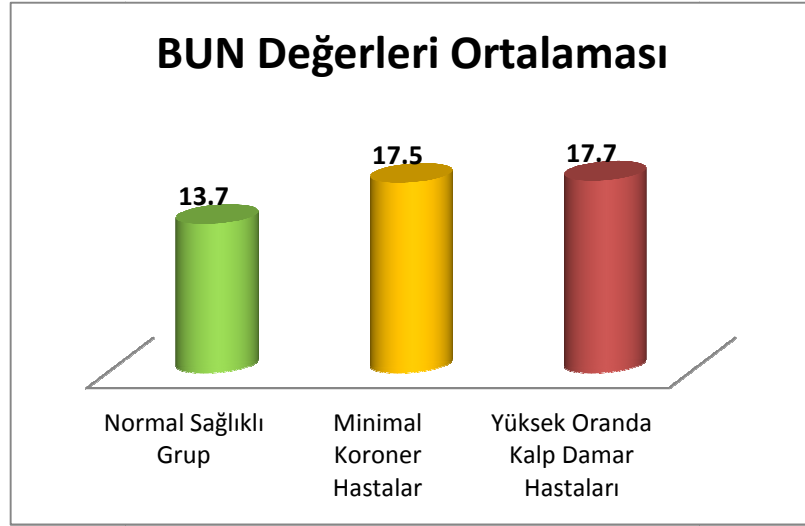
4.5.3.Hasta Gruplarının Kilo Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 32: Hasta gruplarına göre Kilo Ortalamasının Değerlendirilmesi

Hasta grupları arasında kilo değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir.($p<0,05$). Sağlıklı bireylerin kilosu, minimal koroner ve yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

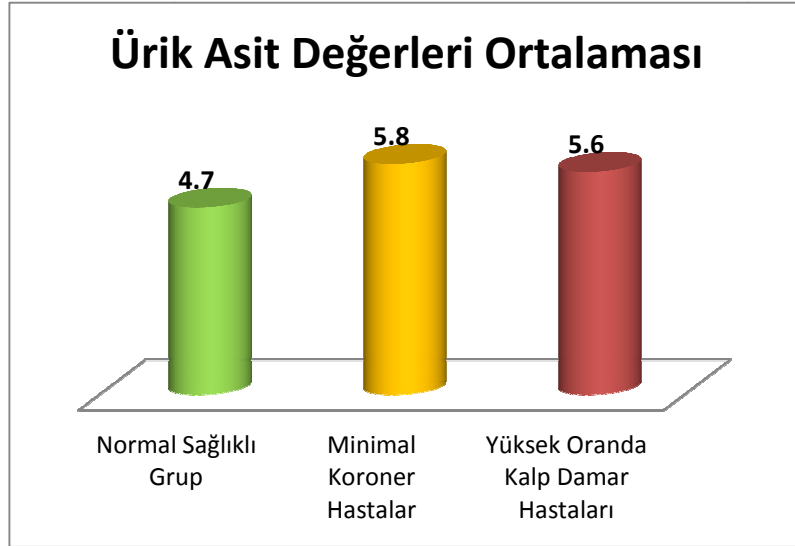
4.5.4. Hasta Gruplarının BUN Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 33: Hasta Gruplarına göre BUN değerleri ortalamasının değerlendirilmesi

Hasta grupları arasında BUN değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir ($p < 0,05$). Sağlıklı bireylerin BUN değerleri, minimal koroner ve yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

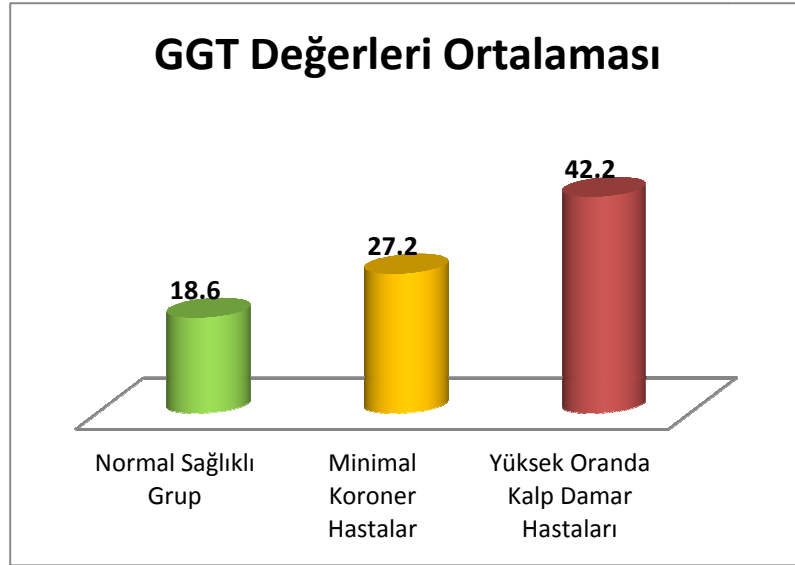
4.5.5. Hasta Gruplarının Ürik Asit Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 34: Hasta gruplarına göre Ürik Asit değerlendirilmesi

Hasta grupları arasında ürik asit değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p<0,05$). Sağlıklı bireylerde ürik asit değeri, minimal koroner ve yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

4.5.6. Hasta Gruplarının GGT Değerleri Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 35: Hasta gruplarına göre GGT ortalamasının değerlendirilmesi

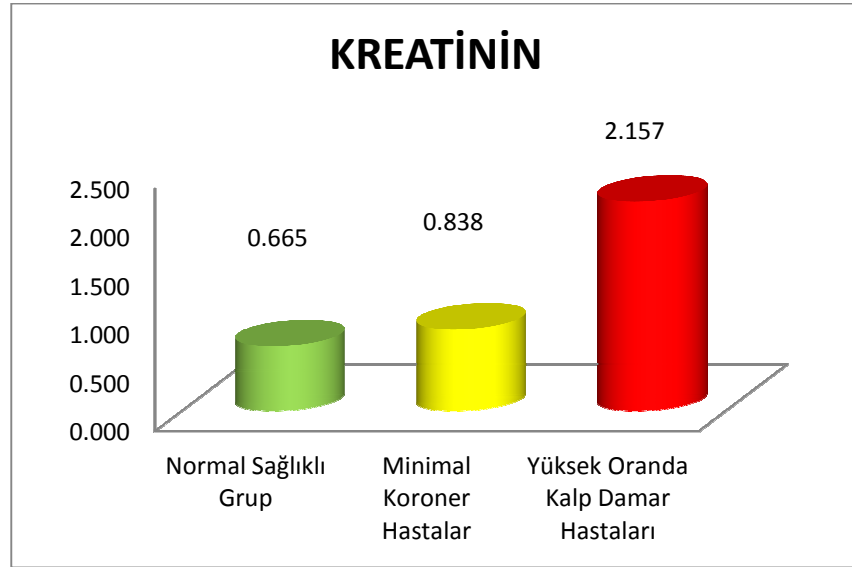
Hasta grupları arasında GGT değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p < 0,05$). Sağlıklı bireylerde GGT değerleri, minimal koroner ve yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

Hasta grupları arasında BKİ, AKŞ, AST ve ALT değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemektedir($p > 0,05$).

Tablo 16: Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna Göre Üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi II;

		Grup						Kruskal-Wallis H Testi		
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Ki Kare	p	İkili Karşılaştırma
KREATİNİN (normal referans aralığı 0.4-1.2mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	0,665	0,640	0,290	0,930	0,147	15,97	0,000	C-A C-B
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	0,838	0,900	0,440	1,100	0,179			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	2,157	0,820	0,580	44,500	7,604			
CRP (normal referans aralığı 0.01-5 mg/L)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	4,3	2,6	0,4	21,2	4,5	3,32	0,190	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	5,8	3,6	0,3	30,4	6,5			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	19,6	7,1	0,4	166,0	36,6			
TK (normal referans aralığı 130-200mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	210,6	202,0	119,5	327,0	38,7	11,10	0,004	C-A C-B
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	204,9	193,0	157,0	313,0	34,0			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	175,5	183,5	89,3	286,0	44,5			

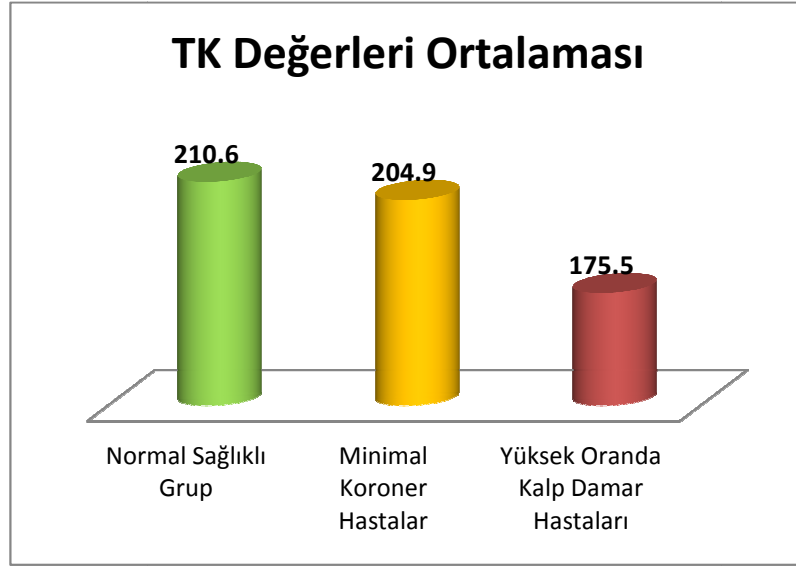
4.5.7.Hasta Gruplarının Kreatinin Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 36: Hasta Grupları arasında Kreatinin'in değerlendirilmesi

Hasta grupları arasında Kreatinin değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p<0,05$). Yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylerde Kreatinin değeri, sağlıklı bireylere ve minimal koroner hasta olan bireylere göre anlamlı derecede yüksek görülmektedir.

4.5.8.Hasta Gruplarının Total Kolesterol Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 37:Hasta Gruplarına Göre TK Değerleri Ortalaması

Hasta grupları arasında TK değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p<0,05$). Yüksek oranda kalp-damar hastası olan bireylerde TK değerleri, sağlıklı bireylere ve minimal koroner arter hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

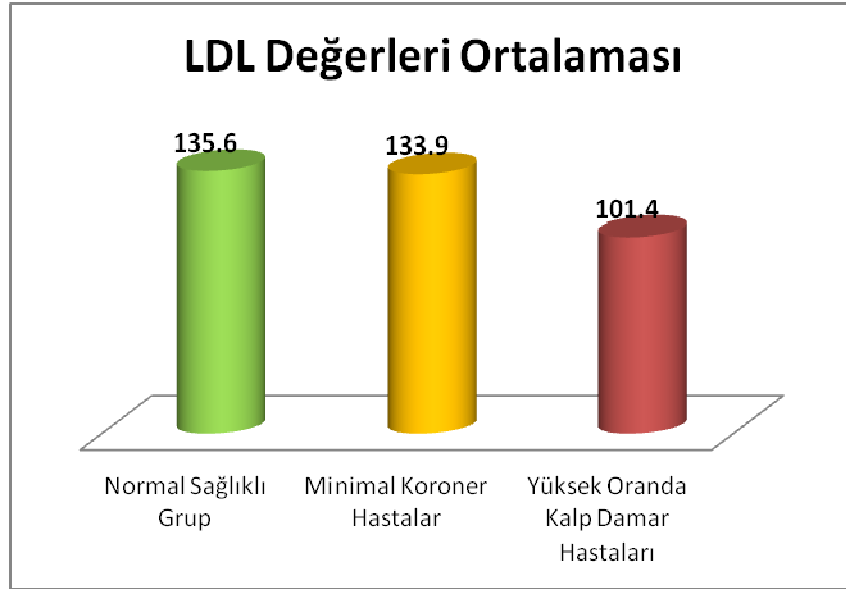
Hasta grupları arasında CRP değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemektedir($p>0,05$).

Tablo 17: Diğer Parametrelerin Gensini Skoruna göre üç Gruba Ayrılarak Değerlendirilmesi III;

		Grup						Kruskal-Wallis H Testi		
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Ki Kare	p	İkili Karşılaştırma
HDL(normal referans aralığı 40-70mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	50,2	49,3	31,6	86,0	13,4	4,80	0,091	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	45,1	43,1	21,7	76,6	12,3			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	42,5	43,4	22,9	65,6	11,5			
LDL(normal referans aralığı 60-130mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	135,6	134,0	76,1	206,0	30,4	14,91	0,001	C-A C-B
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	133,9	129,5	69,0	246,0	32,5			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	101,4	104,0	10,5	178,0	41,1			
TG(normal referans aralığı 50-150mg/dL)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	129,1	102,0	40,8	331,0	68,8	4,66	0,097	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	174,6	151,0	53,6	620,0	117,4			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	132,6	123,0	0,6	404,0	91,3			
PDV(normal referans aralığı 0-99.9)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	16,0	16,0	15,0	17,2	0,5	6,60	0,037	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	16,3	16,2	15,4	18,0	0,5			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	16,3	16,3	10,2	18,4	1,3			
MPV(normal referans aralığı 7.4-104%)	A:Normal Sağlıklı Grup	29	8,7	8,7	7,4	10,9	0,8	6,73	0,035	A-B A-C
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	8,3	8,4	6,7	9,3	0,7			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	8,5	7,9	6,8	20,3	2,4			
MDRD	A:Normal Sağlıklı Grup	29	85,7	90,0	67,0	100,0	16,9	0,00	1,000	-
	B:Minimal Düzeyde KAH	32	88,5	88,5	84,0	93,0	6,4			
	C: Ciddi Oranda KAH	33	90,8	87,5	75,0	113,0	16,0			

Hasta grupları arasında HDL, TG ve MDRD değerleri açısından anlamlı bir farklılık görülmemektedir($p>0,05$).

4.5.9. Hasta Gruplarının LDL Açısından Değerlendirilmesi



Şekil 38: Hasta Gruplarına Göre LDL değerleri

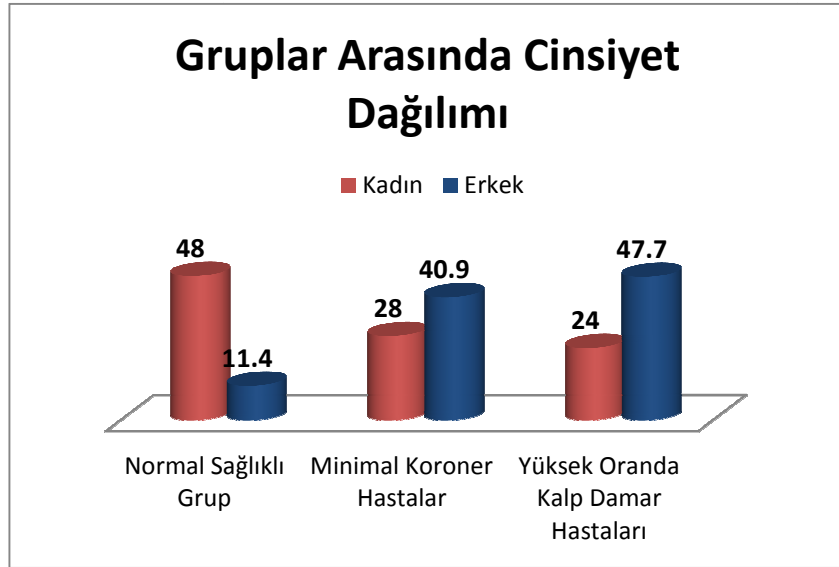
Hasta grupları arasında LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p<0,05$). Yüksek oranda kalp damar hastası olan bireylerde LDL değerleri, sağlıklı bireylere ve minimal koroner arter hastalığı olan bireylere göre anlamlı derecede düşük görülmektedir.

4.6. Hasta Grupları ile Değişkenlerin Değerlendirilmesi

Tablo 18 : Hasta grupları ile değişkenlerin değerlendirilmesi,

		Grup								Ki Kare	
		Normal Sağlıklı Grup		Minimal Koroner Hastalığı		Ciddi Koroner Arter Hastalığı		Total			
		N	%	N	%	N	%	N	%	Ki Kare	p
Cinsiyet	Kadın	24	48,0	14	28,0	12	24,0	50	100	15,08	0,001
	Erkek	5	11,4	18	40,9	21	47,7	44	100		
	Total	29	30,9	32	34,0	33	35,1	94	100		
BMI_GRUP	20-24,9	5	31,3	6	37,5	5	31,3	16	100	-	-
	25-29,9	15	30,6	12	24,5	22	44,9	49	100		
	30-34,9	5	25,0	10	50,0	5	25,0	20	100		
	35,39,9	2	66,7	1	33,3	0	0,0	3	100		
	40+	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	100		
	Total	27	30,3	30	33,7	32	36,0	89	100		
DM	YOK	24	34,3	24	34,3	22	31,4	70	100	1,69	0,430
	VAR	5	22,7	7	31,8	10	45,5	22	100		
	Total	29	31,5	31	33,7	32	34,8	92	100		

4.6.1.Hasta Grupları Arasında Cinsiyet Dağılımı



Şekil 39: Hasta Grupları Arasında Cinsiyet Dağılımı

Hasta grupları ile cinsiyet grupları arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmektedir. ($p < 0,05$). Kadınların erkeklere oranla daha sağlıklı olduğu görülürken, erkeklerin kadınlara göre daha yüksek oranla minimal koroner ve yüksek oranda kap-damar hastası olduğu görülmektedir.

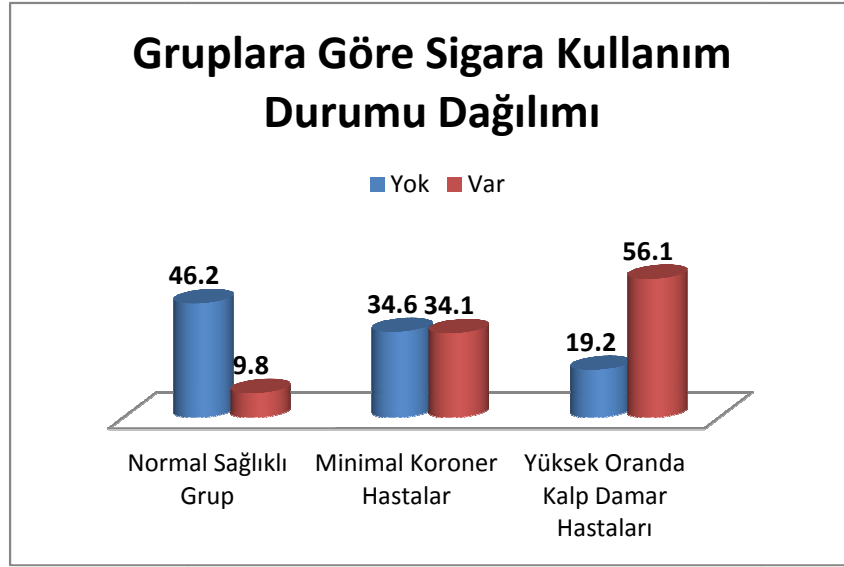
Hasta grupları ile DM varlığı durumu arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmemektedir ($p > 0,05$).

Tablo 19 : Hastalık grupları ile değişkenlerin değerlendirilmesi,

		Grup								Ki Kare	
		Normal Sağlıklı Grup		Minimal Koroner Hastalar		Yüksek Oranda Kalp Damar Hastaları		Total			
		N	%	N	%	N	%	N	%	Ki Kare	p
HT	YOK	10	41,7	9	37,5	5	20,8	24	100	3,21	0,201
	VAR	19	27,1	23	32,9	28	40,0	70	100		
	Total	29	30,9	32	34,0	33	35,1	94	100		
HİPERLİPİDEMİ	YOK	14	43,8	8	25,0	10	31,3	32	100	3,99	0,136
	VAR	15	24,2	24	38,7	23	37,1	62	100		
	Total	29	30,9	32	34,0	33	35,1	94	100		
KAG(Koroner Anjiografi)	YOK	8	88,9	1	11,1	0	0,0	9	100	-	-
	VAR	20	24,1	30	36,1	33	39,8	83	100		
	Total	28	30,4	31	33,7	33	35,9	92	100		
SİGARA KULLANIMI	YOK	24	46,2	18	34,6	10	19,2	52	100	18,87	0,000
	VAR	4	9,8	14	34,1	23	56,1	41	100		
	Total	28	30,1	32	34,4	33	35,5	93	100		
ALKOL	YOK	29	33,0	31	35,2	28	31,8	88	100	-	-
	VAR	0	0,0	1	20,0	4	80,0	5	100		
	Total	29	31,2	32	34,4	32	34,4	93	100		
Statin Kullanımı	YOK	22	45,8	15	31,3	11	22,9	48	100	16,03	0,000
	VAR	4	9,3	17	39,5	22	51,2	43	100		
	Total	26	28,6	32	35,2	33	36,3	91	100		

Hasta grupları ile HT varlığı durumu, Hiperlipidemi varlığı durumu arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmemektedir. ($p>0,05$).

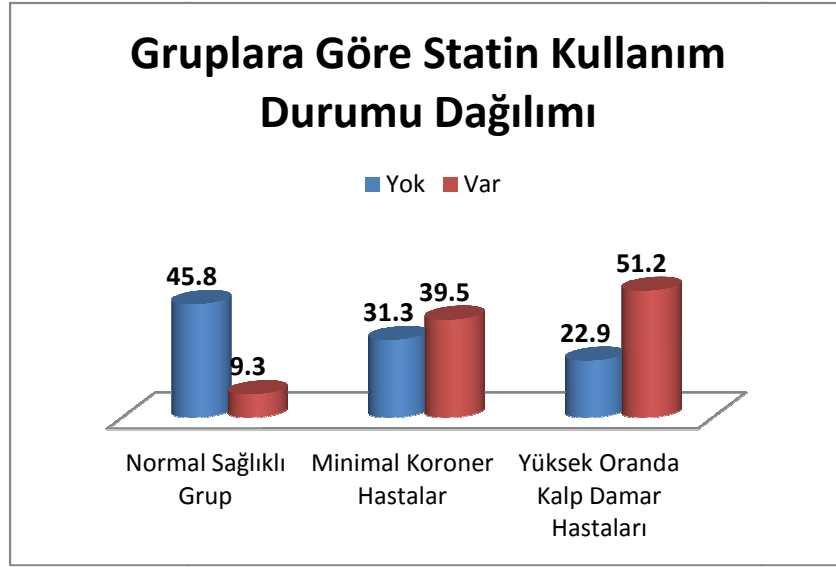
4.6.2. Hasta Grupları Arasında Sigara Kullanım Durumu Dağılımı



Şekil 40: Hasta Grupları Arasında Sigara Kullanım Durumu Dağılımı

Hasta grupları ile sigara kullanımı arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmektedir($p<0,05$).) Sigara kullananlarda %9,8 'inde kalp ve damar hastalıkları görülmezken %56,1 'inde yüksek oranda kalp ve damar hastalıkları görülmektedir.

4.6.2. Hasta Grupları Arasında Statin Kullanım Durumu Dağılımı



Şekil 41: Hasta Grupları Arasında Statin Kullanım Durumu Dağılımı

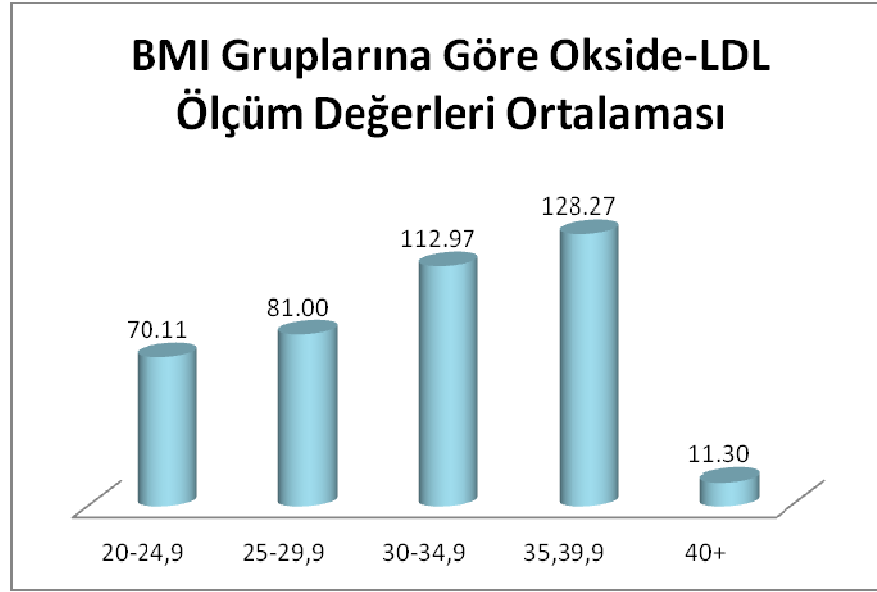
Hasta grupları ile statin kullanımı arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmektedir. ($p < 0,05$) Statin kullanmayanların %45,8 'inde kalp ve damar hastalıkları görülmezken, statin kullananlarda %51,2 'sinde yüksek oranda kalp ve damar hastalıkları görülmektedir.

4.7. Ox-LDL'nin Statin Kullanım Durumuna Göre Değerlendirilmesi

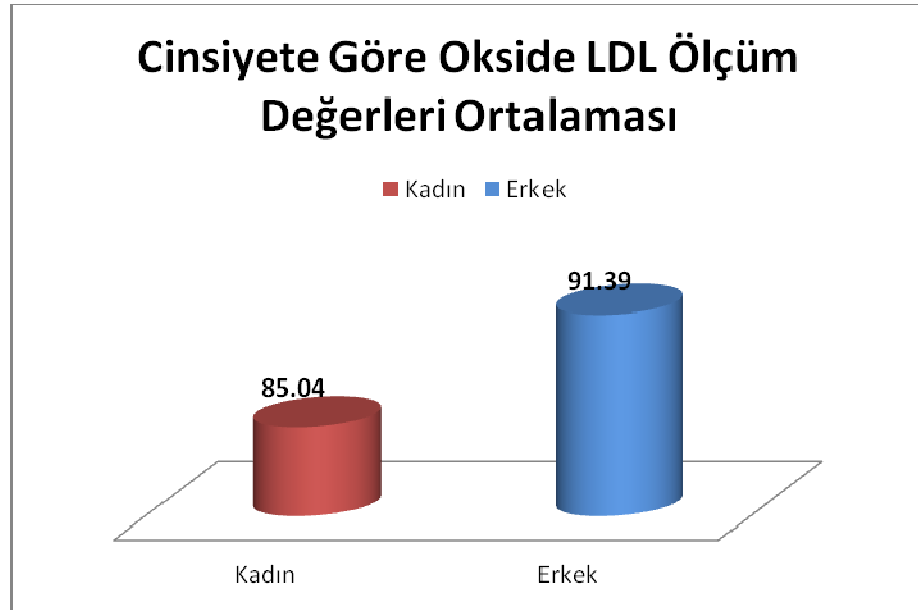
Tablo 20 : Ox-LDL değeri için statin kullanımına göre değerlendirilmesi

	Statin Kullanımı							Mann-Whitney U		
		n	Mean	Median	Minimum	Maximum	ss	Sıra ortalaması	U	p
OKSİDE LDL ng/ml	YOK	48	83,7	20,3	2,3	457,8	112,7	45,65	956,5	0,802
	VAR	43	88,6	27,0	2,3	344,2	104,1	44,27		

Statin Kullanım grupları arasında Okside LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemektedir($p>0,05$). Anlamlı farklılık görülmemekle birlikte Ox-LDL değerleri, Statin kullananlarda kullanmayanlara göre daha yüksek görülmektedir.

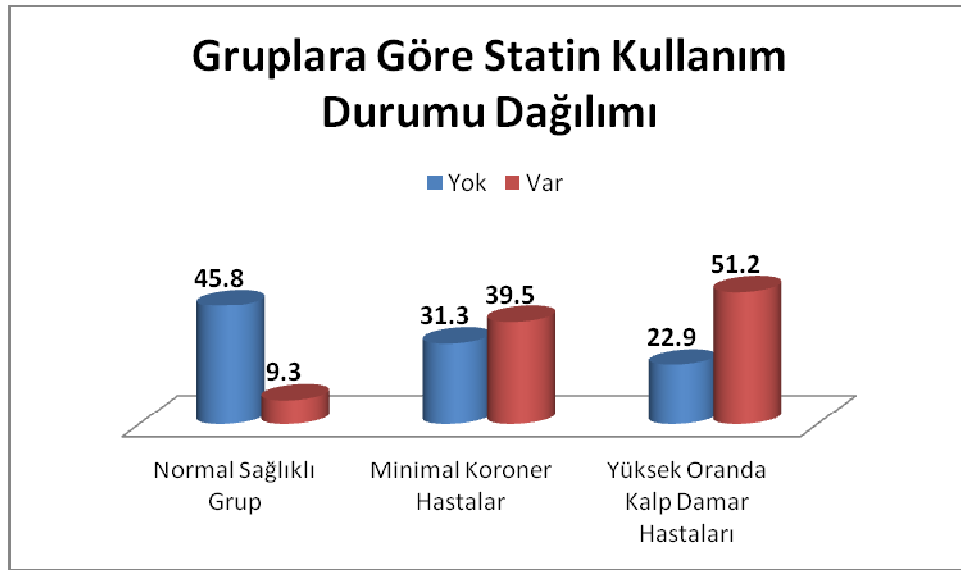


Şekil 42: BMI Gruplarına göre Ox-LDL Ölçüm Değerleri Ortalaması



Şekil 43: Cinsiyete Göre Ox-LDL Ölçüm Değerleri Ortalaması

4.8. Statin kullanımının hasta grupları arasında değerlendirilmesi



Şekil 44: Statin kullanımının hasta grupları arasında değerlendirilmesi

Tablo 21: Statin kullanımının hasta grupları arasında değerlendirilmesi

			Statin		Total
			Kullanan	Kullanmayan	1,00
	Normal	n	4	25	29
		%	13,8%	86,2%	100,0%
	Minimal	n	16	16	32
		%	50,0%	50,0%	100,0%
	Ciddi	n	22	11	33
		%	66,7%	33,3%	100,0%
Total		n	n	52	94
		%	%	55,3%	100,0%
Ki-Kare=19,06 ; p=0,0001<0,05					

Statin kullanımı ile gruplar arasında anlamlı bir bağımlılık bulunmaktadır. ($p<0,05$) Minimal ve Ciddi KAH grubunda statin kullanım oranı normal gruba göre anlamlı derecede yüksek görülmektedir.

Tablo 22: ADMA Ölçüm Değerinin SDMA, MDA HPLC, MDA SPK ve Ox-LDL Ölçüm Değeri İle Korelasyonu,

Korelasyon		ADMA umol/L
SDMA umol/L	r	0,191
	p	0,116
	N	69
MDA HPLC mikromol/litre	r	-0,248
	p	0,016
	N	94
MDA SPK mikromol/litre	r	-0,072
	p	0,488
	N	94
OKSİDE LDL ng/ml	r	-0,033
	p	0,757
	N	92

ADMA ölçüm değeri ile SDMA, MDA-SPK ve Ox-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir($p>0,05$).

ADMA ölçüm değerleri ile MDA-HPCL ölçüm değerleri arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki görülmektedir($p<0,05$). ADMA değerleri arttıkça MDA-HPLC değerleri azalmaktadır.

Tablo 23 : MDA HPLC Ölçüm Değerinin, MDA SPK, ADMA, SDMA ve Ox-LDL Ölçüm Değeri İle Korelasyonu

Korelasyon		MDA HPLC mikromol/litre
SDMA umol/L	r	0,110
	p	0,368
	N	69
ADMA umol/L	r	-0,248
	p	0,016
	N	94
MDA SPK mikromol/litre	r	-0,118
	p	0,258
	N	94
OKSİDE LDL ng/ml	r	0,160
	p	0,127
	N	92

MDA-HPCL ölçüm değeri ile SDMA, MDA-SPK ve OX-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir($p>0,05$).

MDA-HPCL ölçüm değeri ile ADMA ölçüm değerleri arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki görülmektedir($p<0,05$). MDA-HPCL değerleri arttıkça, ADMA değerleri azalmaktadır.

Tablo 24: SDMA'nın ADMA, MDA HPLC, MDA SPK ve Ox-LDL ile Korelasyonu

Korelasyon		SDMA umol/L
ADMA umol/L	r	0,191
	p	0,116
	N	69
MDA HPLC mikromol/litre	r	0,110
	p	0,368
	N	69
MDA SPK mikromol/litre	r	-0,074
	p	0,546
	N	69
OKSİDE LDL ng/ml	r	0,122
	p	0,324
	N	67

SDMA ölçüm değeri ile ADMA, MDA-HPCL, MDA-SPK ve Ox-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir($p>0,05$).

MDA-HPCL ölçüm değeri ile ADMA ölçüm değerleri arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki görülmektedir($p<0,05$). MDA-HPCL değerleri arttıkça, ADMA değerleri azalmaktadır.

Tablo 25: Ox-LDL Ölçüm Değerinin ADMA, SDMA ve MDA Ölçüm Değerleri İle Korelasyonu

Korelasyon		OKSİDE LDL ng/ml
SDMA umol/L	r	0,122
	p	0,324
	N	67
ADMA umol/L	r	-0,033
	p	0,757
	N	92
MDA HPLC mikromol/litre	r	0,160
	p	0,127
	N	92
MDA SPK mikromol/litre	r	-0,185
	p	0,077
	N	92

OX-LDLölçüm değeri ile SDMA, ADMA, MDA-HPCL ve MDA-SPK ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir($p>0,05$).

Tablo 26: Gensini Skor Değeri İle SDMA, ADMA, MDA-HPLC, MDA SPK ve Ox-LDL Ölçüm Değerleri Arasındaki Korelasyon

Korelasyon		GENSİNİ SKORU
SDMA umol/L	r	-0,036
	p	0,767
	N	69
ADMA umol/L	r	-0,184
	p	0,075
	N	94
MDA HPLC mikromol/litre	r	0,043
	p	0,684
	N	94
MDA SPK nanomol/ml= mikromol/litre	r	0,158
	p	0,128
	N	94
OKSİDE LDL ng/ml	r	0,103
	p	0,327
	N	92

Gensini Skor değeri ile SDMA, ADMA, MDA-HPCL, MDA-SPK ve OX-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir($p>0,05$).

Tablo 27: MDA Spektrofotometrik Ölçüm Değeri İle MDA HPLC Ölçüm Değeri Arasındaki İstatistiki İlişki

		Ciddi Oranda KAH Olmayan Grup						Mann-Whitney U		
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Sıra Ort	U	p
MDA	HPLC	61	0,981	0,950	0,248	1,821	0,318	31	-9,528	0,0001
	SPK	61	2,889	2,717	2,194	5,754	0,686	92		

Ciddi oranda koroner arter hastalığı olmayan grupta spektrofotometre ile ölçülen MDA değerleri anlamlı derecede yüksek görülmektedir.($p<0,05$)

		Ciddi Oranda KAH olan Grup						Mann-Whitney U		
		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	SS	Sıra Ort	U	p
MDA	HPLC	33	1,008	0,950	0,430	1,710	0,337	17	-6,985	0,0001
	SPK	33	3,122	2,927	2,194	5,754	0,825	50		

Ciddi oranda koroner arter hastalığı olan grupta spektrofotometre ile ölçülen MDA değerleri anlamlı derecede yüksek görülmektedir.($p<0,05$)

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Ateroskleroz arterleri tutan endotel disfonksiyonu ve vasküler inflamasyonla karakterize bir hastalıktır.¹⁹⁵ ADMA'nın yüksek plazma düzeyinin bireylerde hiperkolesterolemi ve aterosklerozla bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Hiperkolesterolemide ortaya çıkan endotelial vazodilatatör disfonksiyonun ADMA'nın yıkımının azalması neticesinde olabileceği belirtilmiştir. ^{8, 20, 63, 64, 196}

ADMA, NOS inhibitörü olup endotelial disfonksiyonda anahtar rol oynar. Vasküler hastalıklarda NO'nun üretiminin azalması veya oksidatif stres sonucu yıkımındaki artışlar NO miktarlarını etkileyebilmektedir. NO vazodilatatör etkili ve NOS yardımı ile L-Arjinin'den sentezlenen bir moleküldür. ADMA'nın major hidrolazı olan DDAH aktivitesindeki azalma ADMA'nın birikmesine ve ateroskleroz için bir risk faktörü olmasına katkıda bulunur. DDAH ekspresyonunda Ox-LDL'nin etkisinin olmadığı fakat DDAH aktivitesini azalttığı saptanmıştır. Hiperkolesterolemik tavşanlarda DDAH aktivitesinin bozulduğu gösterilmiştir. Ayrıca hiperkolesteroleminin önemli derecede aortik, renal ve hepatik DDAH aktivitesinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir.^{20, 196, 197, 198}

İnsan umbilikal ven hücrelerinin (HUVECs) OX-LDL ile 24 saat boyunca inkübasyonu DDAH'ın intraselüler aktivitesinin ve NO'nun düzeyinin azalmasına neden olduğu tespit edilirken MDA, TNF-alfa, ADMA ve LDH'nin düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. LDL'nin oksidasyonu, endotelial disfonksiyon ve aterogeneze yol açan kritik bir süreçtir. ¹⁹⁸

OX-LDL lipid peroksidasyonu süreci ile birlikte oluşmaktadır. OX-LDL hem ADMA sentezini sağlayan PMRT enzimini indüklemekte hemde ADMA yıkımını gerçekleştiren DDAH enzimini inhibe ederek ADMA düzeylerini artırmakta böylelikle indirekt yoldan NO sentezini azaltmaktadır.^{20, 21}

SDMA, ADMA'nın yapısal olarak izomeridir ve NO'yu inhibe etmediği bildirilmiştir. SDMA'nın hücre içine taşınmasında arjinin ile rekabet etmesine rağmen biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Hücre içine taşınmasında L-Arjinin ile yarışıyor olması dolaylı olarak NO oluşumunu azaltıyor olabilir.^{199, 200, 201}

MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin belirteci olarak kullanılır. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehytlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur.^{202, 203, 204, 205}

Serbest oksijen radikalleri (süperoksit anyonu, O₂⁻) NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturmakta böylelikle hem reaksiyonda tükenen NO düzeyi azalırken hemde damar yatağında oluşan peroksinitritin direkt toksik etkisine maruz kalınmaktadır.²⁰⁶ Lipid peroksidasyonu okside-LDL ile ADMA miktarını artırır. Artan ADMA ise NO'yu inhibe eder ve böylelikle NO'nun miktarı azalmış olur.^{207, 208, 209}

Çalışmamızda Ox-LDL, MDA ve ADMA'nın koroner arter hastalığı saptanan hastalarda birbirleri arasındaki ilişkinin incelenmesi ve normal koroner arter saptanan kişilerde bu parametrelerin hem birbirleri ile ilgili ilişkileri hemde koroner arter hastalığı ile olan ilişkilerini inceledik. Ayrıca koroner arter hastalığı saptanan hastalarda bu parametrelerin hastalığın yaygınlığı ve ciddiyeti (gensini skoru ile belirlendi) ile bağlantısını değerlendirdik.^{21, 22}

Andreas Meinitzer ve ark. yaptıkları bir çalışmada 2543 kişi koroner arter hastalığı açısından koroner anjiyografi yapılarak değerlendirilmiş ve 695 kişide koroner arter hastalığı olmadığı saptanmış, çalışmaya alınanların tümünde ADMA konsantrasyonları ölçülmüş ve bu hastalar 5,45 yıl boyunca takip edilerek bu süreç içerisindeki total ve kardiyovasküler mortalitelerine bakılmış, sonuç olarak; Plazma ADMA düzeyi pozitif olarak yaş, kadın cinsiyet, diabetes mellitus, sigara bağımlılığı, CRP ve karışık olarak HDL kolesterol ve trigliserid ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada ADMA beden kitle indeksi, hipertansiyon, LDL kolesterol veya koroner anjiyografik olarak koroner arter hastalığının varlığı veya yokluğu ile ilişkili bulunmadığı belirtilmiştir. Ayrıca glomerüler filtrasyon hızı ve homosistein'in, ADMA için kuvvetli hazırlayıcı faktör olarak saptandığı belirtilmiştir.²¹⁰ Çalışmamızda da benzer şekilde koroner arter hastalığının varlığı ve yokluğu ile ADMA düzeyleri arasında ilişki gözlenmemiştir.

Ateroskleroz, kökeninde oksidatif ve inflamatuvar bileşenlerin major rol oynadığı karmaşık, multifaktöriyel bir hastalıktır. Özellikle beslenme ve egzersiz olmak üzere yaşam tarzı ve çevresel faktörler ve aynı şekilde genetik faktörler, bu anormal oksidatif ve inflamatuvar

bileşenlerden ve hastalıkla ilişkili lipid anormalliklerinden sorumlu görülmektedir. Yerleşmiş koroner kalp hastalığı ve kanda oksidatif stresin tanımlanmış bir biyobelirteci olan artmış OX-LDL arasındaki yakın ilişki, çok sayıda araştırma grubu tarafından tespit edilmiştir ^{211, 212}

Hannu Paiva ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; LDL'nin oksidatif modifikasyonunun ateroskleroz için önemli bir etken faktör olduğundan aynı zamanda OX-LDL'nin ADMA'nın önemli derecede birikimine neden olduğundan bahsedilerek plazmada hangi ADMA düzeyinin NO yapımı ile ilişkili olduğuna bakılmış. Düşük ADMA düzeyi önemli derecede yüksek LDL oksidasyonu ile birlikte saptanmış ve plazma ADMA konsantrasyonu nitrat düzeyi ile ilişkili bulunduğu bildirilmiştir. Plazma ADMA düzeyinin ikili zıt rolünden bahsedilerek yüksek ADMA düzeyinin LDL yağ asidi oksidasyonunun azaltılmasında rolü olabileceği ve de NO azalması ile oluşan endotelial disfonksiyon için bir risk faktörü olabileceğine vurgu yapılmıştır. ²¹³

Bizim çalışmamızda ciddi KAH olan bireylerde LDL kolesterol değerlerinin sağlıklı bireylere ve minimal KAH olan bireylere göre anlamlı derecede düşük saptandı. Bu durumun ciddi KAH olan kişilerin kullandıkları statin tedavisi ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda Ox-LDL, LDL ve ADMA düzeyleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ADMA'nın düşük saptandığı ciddi KAH grubunda Ox-LDL değerleri minimal gruba göre yüksek, ADMA'nın yüksek olduğu Min KAH grubunda ise Ox-LDL değeri düşük olduğu gözlemlendi. Buda yüksek ADMA düzeyinin LDL yağ asidi oksidasyonunu azaltıcı rolü olduğunu desteklemektedir.

Wei-Zheng Zhang ve ark. yaptıkları çalışmalarda daha önceden arginin uptake'i ve metabolizmasının kalp yetmezliği ve hipertansiyonda endotelial disfonksiyon için major belirleyici olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada endotelial L-arjinin metabolizması ve bunun uptake'i üzerine major proaterojenik molekül olan okside-LDL'nin etkilerini değerlendirerek 24 saat boyunca nativ-LDL veya okside-LDL ile endotelial hücreler bekletilmiş ve sonuç etkilere bakılmış. Sonuç olarak, okside-LDL %56 ile %71 arasında L-arjinin miktarını azalttığı saptanmış ve %205 oranında da ADMA'nın arttığı gösterilmiştir. Ox-LDL'nin, %60 oranında 3H-arjininin endotelial uptake'ini azalttığı gösterilen çalışmada buna karşılık endotelial hücrenin okside-LDL ile inkübasyonu katyonik amino asid taşıyıcı-1'in internalizasyonuna yol açtığı gösterilerek Ox-LDL vasıtası ile L-arjininin transportunun azalmasının genel olarak NO'ya bağlı endotelium yeteneğinde bozulmaya yol açtığını göstermişlerdir.²¹⁴

MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun düzeyinin anlaşılmasında en sık kullanılan testtir. MDA'nın ölçümü çoğunlukla tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemiyle yapılır. Çoğu deneysel sistemlerde TBA yönteminin esas olarak MDA'nın kendisini ölçtüğü gösterilmiştir. Ancak çoğu sistemde bu test MDA için spesifik olmadığından tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddelerin (TBARS) ölçümü şeklinde ifade edilir. Saf lipidlerle yapılan çalışmalar ve hayvanlar üzerinde yapılan denemeler, TBARS ölçümü ile lipid peroksidasyonunu ölçen diğer metotlar arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir. TBARS yöntemi kolay bir ölçüm metodudur. Ve çoğu metoda göre de hızlı bir tekniktir. Fakat bu tekniğin sorunlarından birisi biyolojik materyallere uygulanmasında oluşan çeşitli problemlerdir. Çalışılan numunede var olan ya da reaksiyon esnasında oluşan pigmentler kolorimetrik ölçümü bozabilir. Ayrıca MDA dışındaki aldehitler de tiyobarbitürik asitle (TBA) renkli kompleks oluşturmak üzere

reaksiyona girebilirler. Serbest MDA'nın direkt tayini en güvenilir şekilde yüksek performans likit kromatografisi (HPLC) yöntemiyle yapılır. HPLC çok hassas ve hızlı bir metottur ve az numune gerektirir. Bütün bunların yanında bu teknikte numune hazırlığı aşamasında çok dikkatli olmak gerekmektedir.^{176, 215, 216, 217}

Bizim çalışmamızda MDA'nın iki farklı metodu ile bu ilişkiyi değerlendirmek amacıyla numunelerimizin ölçümü yapıldı ve ciddi oranda koroner arter hastalığı olmayan grupta MDA HPLC ile yapılan ölçümde ortalama değer 0.98 $\mu\text{mol/L}$ çıkarken aynı grupta MDA-TBA yöntemi ile 2.88 $\mu\text{mol/L}$ saptandı. Ciddi oranda koroner arter hastalığı olan grupta ise yine aynı sıralama ile ortalama değerler 1.008 $\mu\text{mol/L}$ ve 3.122 $\mu\text{mol/L}$ saptandı. Bu değer farklılıklarının benzer şekilde MDA ölçümünün her iki metodla karşılaştırıldığı diğer çalışmalarda da saptandığı görüldü. Bu durumun MDA ölçümünde HPLC metodunun hem hızlı ve hassas oluşu hemde numune miktarının spektrofotometrik yöntemle göre daha az oluşu gibi avantajlarından dolayı tercih etmek gerektiği kanaatindeyiz.^{218, 219, 220, 221, 222, 223, 224}

Çalışmamızda hasta grupları arasında SDMA, ADMA, MDA'nın HPLC ve spektrofotometrik (SPK) yöntemler ile ölçülen düzeyleri ve Ox-LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Hasta grupları ile statin kullanımı arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmüştür ($p<0,05$). Ciddi koroner arter hastalığı saptanan grupta statin kullanımı %51.2 iken minimal koroner arter hastalığı saptanan grupta %39.5 ve normal koroner arter saptanan grupta ise %9.3 olduğu gözlemlendi. Hasta grupları arasında TK değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görüldü ($p<0,05$). Ciddi oranda koroner arter

hastası olan bireylerde TK değerleri, sağlıklı bireylere ve minimal koroner arter hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük saptandı. Hasta grupları arasında LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmektedir($p<0,05$). Ciddi koroner arter hastalığı olan bireylerde LDL değerleri, sağlıklı bireylere ve minimal koroner arter hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük olarak bulundu.

Hasta gruplarında statin kullanımının varlığı, TK ve LDL değerleri açısından daha yüksek olmasını beklediğimiz ciddi koroner arter hastalığı saptanan grupta daha düşük ölçülmüş olması statin kullanımının lipit düşürücü etkisine bağlı olabilir.^{225, 226, 227} Aynı zamanda statinlerin serum total kolesterolünü düşürücü etkisinin yanında hiperkolesterolemik tavşanlarda yapılan bir çalışmada endotel disfonksiyonunu tersine çevirici etkisinin olduğu LDL ve Ox-LDL'yi düşürücü etkisi ile birlikte arter duvarında lipit peroksidasyonu düzeyi ile MDA seviyesini de azalttığı bildirilmiştir.²²⁸ Hiperkolesterolemik hastalarda yapılan bir çalışmada ise statin tedavisinin oksidatif stres ve malondialdehid düzeylerini düşürücü etkisi gösterilmiştir.²²⁹ Çalışmamızda da MDA düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak artış görülmemesinin nedeni statinlerin lipit peroksidasyonu üzerindeki etkisine bağlanabilir.

Sonuç olarak yukarıda özetlenmiş olan literatür bilgisi, ADMA düzeyleri ile aterosklerotik plak yükü ve dolayısıyla koroner arter hastalığının anjiyografik yaygınlık ve ciddiyet derecesini gösteren Gensini Skoru arasında pozitif yönde bir korelasyon olması gerektiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda koroner arterleri normal olarak saptanan kontrol grubu, minimal koroner arter hastalığı grubu ve ciddi koroner arter hastalığı grupları arasında ADMA düzeyleri açısından

fark saptanmadığı gibi, ADMA düzeyleri ile Gensini skoru arasında anlamlı bir korelasyon da saptanmamıştır.

Bu durumun bir olası açıklaması, ciddi koroner arter hastalığı grubunda, kontrol grubuna (normal koroner arter grubu) ve minimal koroner arter hastalığı grubuna göre statin kullanımının anlamlı derecede yüksek olmasıdır. Statinler tedavi kılavuzlarında gerek primer koruma, gerekse de sekonder koruma için önerilmektedir. NCEP/ATPIII kılavuzuna göre hastanın risk faktörlerinin sayısı ve risk düzeyi arttıkça, lipid düşürücü tedavi başlanması önerilen LDL eşik değeri düşmektedir. Ciddi koroner arter hastalığı olan bireyler daha yüksek risk profiline sahip oldukları için, tedavi kılavuzları gereği bu hastalara daha yüksek oranda statin tedavisi başlanması kaçınılmazdır. Statinlerin ADMA düzeylerini düşürdüğüne dair yayınlar mevcuttur.^{230, 231, 232}

Dolayısıyla, ciddi koroner arter hastalığı grubunda daha yüksek oranda kullanılmış olan statin grubu ilaçların lipid düzeylerini düşürdükleri gibi, ADMA düzeylerini de düşürmeleri olasıdır. Bunun sonucunda, gruplar arasında ADMA düzeyleri açısından anlamlı fark izlenmemiş olabilir. Aynı şekilde, Gensini skoru ve ADMA arasında gözlemlemeyi beklediğimiz pozitif korelasyonun gözlemlenmemesinin nedeni, ciddi koroner arter hastalığı grubunda daha yüksek oranda statin kullanımı nedeniyle olması muhtemeldir. Bu nedenle ciddi KAH grubunda saptanan düşük ADMA düzeylerinin vasküler yatağa yapacağı olumsuz etkilerin azalmasında etkili olacağını düşünmekteyiz. Bu hipotezin daha büyük ölçekli çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

6.ÖZET

Aterosklerotik koroner arter hastalığı, dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur. Aterosklerozda endotelial disfonksiyon aterosklerozun habercisi bir fenomen olarak kabul edilir ve bu inflamatuvar süreçte birçok mediyatör birbirleri ile etkileşilerek vasküler yatakta gelişen aterosklerozun oluşumunda etkilerde bulunmaktadır.

ADMA vasküler hasara NO miktarlarını azaltarak neden oluyor gibi görünmektedir. Okside-LDL, hem ADMA sentezini sağlayan PMRT enzimini indüklemekte hemde ADMA yıkımını gerçekleştiren DDAH enzimini inhibe ederek ADMA düzeylerini artırmakta böylelikle indirekt yoldan NO sentezini azaltmaktadır. Ox-LDL lipid peroksidasyonu süreci ile birlikte oluşmakta olup biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin belirteci olarak kullanılmaktadır.

Çalışmamızda ateroskleroz zemininde oluşan koroner arter hastalarında, minimal KAH ve NKA saptanan kişilerde ADMA ve SDMA HPLC yöntemi (Eureka Kit), Ox-LDL Elisa Yöntemi (İmmundiagnostik Kit) ile MDA düzeyleri ise HPLC (İmmuchrom Kit) ve Spektrofotometrik yöntemler ile ölçülerek bu parametrelerin hem gruplar arası hemde birbirleri ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Sonuçlarımıza göre ADMA, SDMA, Ox-LDL ve MDA düzeyleri normal koroner arter saptanan kontrol grubu ile minimal ve ciddi koroner arter hastalığı saptanan gruplara göre değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık görülmedi

($p>0,05$). TK ve LDL değerlerinin ciddi KAH grubunda dūřuk saptanması statin kullanımının etkisine bağlanmıştır.

Ciddi koroner arter hastalıęı grubunda kullanılan statin grubu ilaçların lipid dūzeylerini dūřurdıkları gibi, ADMA dūzeylerini de dūřurmeleri olasıdır. Dūřuk ADMA dūzeylerinin ADMA'nın vasküler yataęa yapacaęı olumsuz etkilerin azalmasında etkili olacaęını dūřünmekteyiz. Bu hipotezin daha būyuk olekli çalıřmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: ADMA (Asimetrik Dimetilarjinin), Oksidatif Stres, Koroner Arter Hastalığı, Okside LDL, MDA (Malondialdehid)

7.SUMMARY

Atherosclerotic coronary artery disease is a major public health issue worldwide. Endothelial dysfunction is the harbinger of atherosclerosis and many inflammatory and oxidative pathways interact in an elaborate fashion, culminating in full-blown atherosclerotic coronary artery disease.

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) seems to cause damage to the vascular bed by decreasing nitric oxide (NO) levels and increasing super oxide levels. Oxidized LDL (Ox-LDL) not only induces the PMRT enzyme which catalyzes the synthesis of ADMA, but inhibits the DDAH enzyme which catalyzes the breakdown of ADMA as well. Resultantly, Ox-LDL decreases NO levels by increasing ADMA. Ox-LDL is formed during the lipid peroxidation process, and measurement of MDA levels in biological materials is used as a surrogate of lipid peroxidation.

In subjects with normal coronary arteries, mild atherosclerotic coronary artery disease, and severe atherosclerotic coronary artery disease, serum ADMA and SDMA levels were determined using the HPLC method (Eureka Kit). Ox-LDL levels were determined using the ELISA method (Immundiagnostic kit). MDA levels were determined by using the HPLC method (Immuchrom Kit) and the spectrophotometric method separately.

According to our results, there was no statistically significant difference between the normal coronary arteries group, minimal coronary artery disease group, and the severe coronary artery disease group with regard to ADMA, SDMA, Ox-LDL, and MDA levels ($p>0,05$). The fact that

total cholesterol and LDL-cholesterol levels are low in severe CAD group has been attributed to the higher incidence of statin use in this group.

Statins, which efficiently lowered serum lipid levels in the severe CAD group, may have lowered the ADMA levels as well. Lowering of ADMA levels by statins may result in alleviation of the damage to the vascular wall caused by ADMA. This hypothesis needs to be tested in larger scale studies.

Keywords: ADMA (Asymmetric Dimethylarginine), Oxidative stress, Coronary artery disease, Ox-LDL (Oxidized LDL), MDA (Malondialdehyde)

8.KAYNAKÇA

¹ Landim MB, Casella Filho A, Chagas AC. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. Clinics (Sao Paulo). 2009 May;64(5):471-8.

²Tousoulis D, Kampoli AM, Papageorgiou N, Androulakis E, Antoniadou C, Toutouzas K, Stefanadis C. Curr Pharm Des. Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation. 2011 Dec;17(37):4089-110.

³ Yellon DM, Hausenloy DJ, Myocardial reperfusion injury. N Engl J Med. 2007;307:1121-35.

⁴Murray CJ, Lopez AD. Alternate projections of mortality and disability by cause 1990–2020: global burden of disease study. Lancet. 1997;349:1498–504

⁵ Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet. 1997;349:1436-42.

⁶Ghisi GL, Durieux A, Pinho R, Benetti M. Physical exercise and endothelial dysfunction. Arq Bras Cardiol. 2010 Oct;95(5):e130-7.

⁷Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. Circulation. 2005 Jun 28;111(25):3481-8.

⁸Ivanova M, Artusi C, Boffa GM, Zaninotto M, Plebani M, HPLC determination of plasma dimethylarginines: method validation and preliminary clinical application. Clin Chim Acta. 2010 Nov 11;411(21-22):1632-6.

⁹Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000;20:2032–7.

¹⁰Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode Boeger SM, et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and

increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;33:652–8.

¹¹Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) a novel risk factor for endothelial dysfunction its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:1842–7.

¹²Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Hornig B, Frölich JC, et al. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 2003;57:244–52

¹³Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001;358:2127–8.

¹⁴Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1997;95:2068–74.

¹⁵Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci* 1998;62:2425–30.

¹⁶Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 2001;158:425–30.

¹⁷Gorenflo M, Zheng C, Werle E, Fiehn WHE. Plasma levels of asymmetrical dimethyl-L-arginine in patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;37:489–92.

¹⁸Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schäffer J, Barbey M, Koch KM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:594–600.

-
- ¹⁹Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001;358:2113–7.
- ²⁰Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP, Novel Mechanism for Endothelial Dysfunction: Dysregulation of Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Circulation 1999;99;3092-3095
- ²¹Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B et al. LDL Cholesterol Upregulates Synthesis of Asymmetrical Dimethylarginine in Human Endothelial Cells: Involvement of S Adenosylmethionine Dependent Methyltransferases. *Circ Res.*2000 Jul 21;87(2):99-105.
- ²²Tang WJ, Hu CP, Chen MF, Deng PY, Li YJ. Epigallocatechin gallate preserves endothelial function by reducing the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Can J Physiol Pharmacol.* 2006 Feb;84(2):163-71.
- ²³Negi S, Anand A. Atherosclerotic coronary heart disease-epidemiology, classification and management. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2010 Dec 1;10(4):257-61.
- ²⁴Murray CJ, Lopez AD. Alternate projections of mortality and disability by cause 1990–2220: global burden of disease study. *Lancet.* 1997;349:1498–504.
- ²⁵Keleş İ. Pratik Kardiyoloji, 1. Baskı İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevi, 2007
- ²⁶Onat A. TEKHARF 2009, İstanbul, Cortex İletişim, 2009

²⁷Onat A, Murat S.N, Çiçek G, Ayhan E, Örnek E, Kaya H, et al. Türkiye’de ölüm ve koroner hastalık insidansının bölgesel dağılımları: TEKHARF 2010 taraması sonuçları, Türk Kardiyol Dern Arş 2011; 39: 263-268

²⁸Badak Ö, Koroner Arterlerin Anatomisi, Fizyolojisi ve Koroner Anjiyografinin Değerlendirilmesi, Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2007, 3(42):38-47

²⁹Kumar V, Abbas A.K, Fausto N, Robbins and Cotran Pathologic Basis Of Disease, sevent edition, Philadelphia, Pennsylvania, 2005,Elsevier Saunders, Copyright © 2005, Elsevier Inc. All rights reserved.

³⁰Avşar A. , Akci Ö, Beyter M.E, Aterosklerozun Patogenezi (Aterogenez), Türkiye Klinikleri J Cardiol-Special Topics 2011;4(2):1-15

³¹Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. Br J Anaesth. 2004 Jul;93(1):105-13. Epub 2004 Apr 30.

³²Pries AR, Kuebler WM, Normal Endothelium. Handb Exp Pharmacol. 2006; (176pt 1):1-40

³³Ghisi GL, Durieux A, Pinho R, Benetti M. Physical exercise and endothelial dysfunction. Arq Bras Cardiol. 2010 Oct;95(5):e130-7.

³⁴Forgione MA, Loscalzo J. Oxidant stress as a critical determinant of endothelial function. Drug News Perspect. 2000 Nov;13(9):523-9.

³⁵Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis Circulation. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III27-32.

³⁶Torun E, Bayram F, Endokrin Bir Organ Olarak Endotel Ve Endotelin Hipertansiyondaki Rolü, Erciyes Tıp Dergisi, 2004, 26 (3) 126-131

³⁷Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson JM, Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or

ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors atherosclerosis, *J Am Coll Cardiol.* 1994 Mar 15;23(4):833-43.

³⁸ Pesić S, Radenković M, Grbović L. Endothelial dysfunction: mechanisms of development and therapeutic options *Med Pregl.* 2006 Jul-Aug;59(7-8):335-41.

³⁹ Tousoulis D, Kampoli AM, Papageorgiou N, Androulakis E, Antoniadis C, Toutouzas K, Stefanadis C. Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation. *Curr Pharm Des.* 2011 Dec;17(37):4089-110.

⁴⁰ Van der Wal AC, Das PK, Tigges AJ, Becker AE. Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol.* 1992 Dec;141(6):1427-33

⁴¹ Farmer JA, Gotto A. Risk factor for coronary artery disease. In: Braunwald Heart Disease A Textbook of cardiovascular medicine. 4th ed An HBJ International Edition, 1992; 1:1125-55.

⁴² Al-Benna S, Hamilton CA, McClure JD, Rogers PN, Berg GA, Ford I, Low-density lipoprotein cholesterol determines oxidative stress and endothelial dysfunction in saphenous veins from patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jan;26(1):218-23. Epub 2005 Oct 27.

⁴³ Holvoet P, Jenny NS, Schreiner PJ, Tracy RP, Jacobs DR;. The relationship between oxidized LDL and other cardiovascular risk factors and sub-clinical CVD in different ethnic groups: the Multi- Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis* 2007; 194:245–252.

⁴⁴ Ehara S, Ueda M, Naruko T, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 103:1955–1960.

⁴⁵ Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB: Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *J Am Med Assoc* 1986;256:2835-8

⁴⁶Hasan Gök, Klinik Kardiyoloji, Genşletilmiş 2. Baskı, 2002. Nobel Tıp Kitapevleri

⁴⁷Smith EB. Lipids and plasma fibrinogen: early and late composition of the atherosclerotic plaque. *Cardiologia*. 1994 Dec;39(12 Suppl 1):169-72.

⁴⁸Klaus W.J. Wahle ve Steven D. Heys Ateroskleroz: hücre biyolojisi ve lipoproteinler *Current Opinion in Lipidology* 2008, 19:435–437

⁴⁹Libby P, Theroux P, *Circulation*. 2005 Jun 28;111(25):3481-8. Pathophysiology of coronary artery disease.

⁵⁰Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, Huttunen JK, Valtonen V. *Lancet*. 1988 Oct 29;2(8618):983-6. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction.

⁵¹Melvyn Rubenfire, Eric R. Bates, Koroner Arter Hastalığının Önlenmesi, Çev. Editörü; Keleş İ. Pratik Kardiyoloji, Genel Kardiyovasküler Hastalıkların Değerlendirilmesi Ve Tedavisi, 1. Baskı, İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007(, Sf:88-112)

⁵²*Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation. 1994 May;89(5):2462-78.*

⁵³*Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995 Sep;15(9):1512-31.*

⁵⁴Françoso LA, Coates V, Anatomicopathological evidence of the beginning of atherosclerosis in infancy and adolescence. *Ara Bras Cardiol.* 2002 Jan;78(1):131-142

⁵⁵Rasim Enar, Temel Kardioloji, Semiyoloji Ve Kardiyovasküler Hastalıklar, 1.Baskı, 05/2007, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, sf-689-692.

⁵⁶Nejla Barış, Nevbahar Turgan, Biltan Eröz, Argininin Tıpsal Biyokimyadaki önemi, *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2004; 2(2): 83-90

⁵⁷T. Teerlink, Z. Luo, F. Palm, C.S. Wilcox Cellular ADMA: regulation and action *Pharmacol Res*, 60 (2009), pp. 448–460

⁵⁸Vallance P, Leiper J, Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Jun;24(6):1023-30.

⁵⁹McBride AE, Silver PA.State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell.* 2001 Jul 13;106(1):5-8.

⁶⁰Alaçam H, Dikmen Z.G, Doğan P, Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) metabolizması ve ADMA'nın oksidatif hasar, endotel hasarı ve çeşitli hastalıklarla ilişkisi, *Hacettepe Tıp Dergisi* 2010; 41:75-81

⁶¹Ivanova M, Artusi C, Boffa GM, Zaninotto M, Plebani M. HPLC determination of plasma dimethylarginines: method validation and preliminary clinical application. *Clin Chim Acta.* 2010 Nov 11;411(21-22):1632-6.

⁶²James L, The DDAH-ADMA-NOS Pathway, *Therapeutic Drug Monitoring.* 27(6):744-746, December 2005.

⁶³Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): A novel risk factor for endothelial dysfunction. Its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98:1842-7

⁶⁴Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction. Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99:3092-5

⁶⁵Korandji C, Zeller M, Guillard JC, Collin B, Lauzier B, Sicard P, Time course of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and oxidative stress in fructose-hypertensive rats: a model related to metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2011 Feb;214(2):310-5.

⁶⁶Stühlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA*. 2002 Mar 20;287(11):1420-6.

⁶⁷Zsuga J, Török J, Magyar MT, Valikovics A, Gesztelyi R, Lenkei A, Dimethylarginines at the crossroad of insulin resistance and atherosclerosis. *Metabolism*. 2007 Mar;56(3):394-9.

⁶⁸Dükelmann C, Mittermayer F, Haider DG, Altenberger J, Eichinger J, Wolzt M. Asymmetric dimethylarginine enhances cardiovascular risk prediction in patients with chronic heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Sep;27(9):2037-42.

⁶⁹Krzyzanowska K, Mittermayer F, Wolzt M, Schernthaner G. Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30(7):1834-9.

⁷⁰Fliser D, Kronenberg F, Kielstein JT, Morath C, Bode-Böger SM, Haller H, Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Aug;16(8):2456-61.

⁷¹P. Ravani, G. Tripepi, F. Malberti, S. Testa, F. Mallamaci and C. Zoccali, Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J Am Soc Nephrol*, 16 (2005), pp. 2449–2455.

⁷²Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Förstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y⁺ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide*. 1997 Feb;1(1):65-73.

⁷³Hori T, Matsubara T, Ishibashi T, Ozaki K, Tsuchida K, Mezaki T, et al. Significance of asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentrations during coronary circulation in patients with vasospastic angina *Circ J*. 2003;67:305–311

⁷⁴Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine *Lancet*. 2001;358:2127–2128

⁷⁵Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*. 1992 Mar 7;339(8793):572-5.

⁷⁶Ajtay Z, Scalera F, Cziraki A, Horváth I, Papp L, Sulyok E, et al. Stent placement in patients with coronary heart disease decreases plasma levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA *Int J Mol Med*. 2009;23:651–657

⁷⁷Zingg JM, Ricciarelli R, Azzi A, Scavenger receptors and modified lipoproteins: fatal attractions? *IUBMB Life*. 2000 May;49(5):397-403.

⁷⁸Holvoet P, Davey PC, De Keyser D, et al. Oxidized low-density lipoprotein correlates positively with toll-like receptor 2 and interferon regulatory factor-1 and inversely with superoxide dismutase-1 expression: studies in hypercholesterolemic swine and THP-1 cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1558-1565.

⁷⁹Ekmekci A, Lipoprotein Metabolizması, Türkiye Klinikleri J Cardiol-Special Topics 2011;4(1):1-7

⁸⁰http://www.pforster.ch/ydisp/PT%204_1/Lipidemie/LipoproteinStructure2.png, 15.01.2012 tarihinde okundu

⁸¹Champe P.C, Harvey R.A, Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya,2.baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1997, 20: 213-222

⁸²Xiao C, Lewis GF. Regulation of chylomicron production in humans. Biochim Biophys Acta. 2011 Oct 6.

⁸³Murray R.K, Granner D.K, Mayes PA, Rodwell V.W,,: Lipid Taşınması ve Depolanması. Harper'ın Biyokimyası, Appleton & Lange, Çevirenler: Dikmen N, Özgünen T , Nobel Tıp Kitapevi sf:268-284

⁸⁴Brewer HB, Gregg RE, Hoeg JM, Fojo SS: Apoproteins and lipoproteins in Human Plasma: an overview. Clin Chem 1988; 34(8): B4-B8

⁸⁵http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?D7=0&N5=SEARCH_CONCAT_PNO%7CBRAND_KEY&N4=L8292%7CSIGMA&N25=0&Q S=ON&F=SPEC 16.01.2012 tarihinde okundu

⁸⁶Burnett J.R, Hooper A.J, Common and rare gene variants affecting plasma LDL cholesterol, Clin Biochem Rev. 2008, February; 29(1):11-26

⁸⁷Ayhan S.S, Yazıcı M, Ateroskleroz Risk Faktorleri - II: Hiperlipidemi, Türkiye Klinikleri J Cardiol-Special Topics 2011;4(1):25-30

⁸⁸David L. Nelson; Michael M. Cox, Lehninger Principles of Biochemistry, fourth edition, W H Freeman&Co.2004

⁸⁹<http://www.colorado.edu/MCDB/MCDB1150/ohd/ldl.jpg>, 18.01.2012'de okundu

⁹⁰David L. Nelson; Michael M. Cox, Lehninger Principles of Biochemistry, fourth edition, W H Freeman&Co.2004

⁹¹Brewer HB Jr , Santamarina-Fojo S, clinical significance of high-density lipoproteins and the development of atherosclerosis: focus on the role of the adenosine triphosphate-binding cassette protein A1 transporter, *Am J Cardiol.* 2003 Aug 21;92(4B):10k-16k

⁹²Berg K, A new serum type system in man-the lp system. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1963;59:369-82

⁹³Yoshida H, Kisugi R, *Clin Chim Acta.* 2010 Dec 14;411(23-24):1875-82. Epub 2010 Sep 9, Mechanisms of LDL oxidation.

⁹⁴Palinski W,Rosenfeld ME,Yla-Hertuala S,Gurtner GC,Socher SS,Butler SW,et al.Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo.*Proc Natl Acad Sci USA.*1989;86:1372-6

⁹⁵Yla-Hertula S,Palinki W,Rosenfeld ME, Parthasarathy S,Carew TE,Butler S, Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man .*J Clin Invest* 1989;84:1086-95

⁹⁶Tsimikas S, Miller YI. Oxidative modification of lipoproteins: mechanisms, role in inflammation and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Curr Pharm Des.* 2011;17(1):27-37.

⁹⁷Carmeli E, Harpaz Y, Kogan NN, Fogelman Y, The effect of an endogenous antioxidant glabridin on oxidized LDL, *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2008;19(1):49-63.

⁹⁸Schreier LE, Sanguinetti S, Mosso H, Lopez GI, Siri L, Wikinski RL. Low-density lipoprotein composition and oxidability in atherosclerotic cardiovascular disease. *Clin Biochem.* 1996 Oct;29(5):479-87

⁹⁹Fong LG,Parthasarathy S,Witztum JL,Steinberg D.Nonenzymatic oxidative cleavage of peptide bonds in apoprotein B-100. *J Lipid Res* 1987 ;28:1466-77

-
- ¹⁰⁰Malavasi B,Rasetti MF,Roma P,Fogliatto R,Allevi P,Catapano AL,et al.Evidence for the presence of 7-hydroperoxy cholest -5en-3-beta-ol in oxidized low density lipoprotein .Chem Phys Lipids 1992;62:209-14)
- ¹⁰¹Zhang H,Basra HJK,Steinbrecher UP.Effects of oxidatively modified LDL on cholesterol esterification in cultured macrophages.J.Lipid Res 1990;31:1361-9.
- ¹⁰²Partahasarathy S,Steinbrecher UP.Barnett J,Witztum JL,Steinberg D. Essential role of low density lipoprotein.Proc Natl Acad Sci USA 1985;82:3000-4.
- ¹⁰³Aviram M,Kent UM, Hollensberg PF.Microsomal cytochromes P450 catalyze the oxidation of LDL.Atherosclerosis 1999;143:253-60.
- ¹⁰⁴Savenkova MI,Mueller DM,Heineke JW.Tyrosyl generated by myeloperoxidase:a physiological catalyst for the initiation of lipid peroxidation of LDL.Atherosclerosis 1999;143:253-60.
- ¹⁰⁵Rosenblat M, Aviram M, Oxysterol-induced activation of macrophage NADPH-oxidase enhances cell-mediated oxidation of LDL in the atherosclerotic apolipoprotein E deficient mouse: inhibitory role for vitamin E, Atherosclerosis. 2002 Jan;160(1):69-80.
- ¹⁰⁶Yoshida H, Sasaki K, Hirowatari Y, Kurosawa H, Sato N, Furutani N, Increased serum iron may contribute to enhanced oxidation of low-density lipoprotein in smokers in part through changes in lipoxygenase and catalase. Clin Chim Acta. 2004 Jul;345(1-2):161-70.
- ¹⁰⁷Aviram M,Rosenblat M. Macrophage-mediated oxidation of extracellular low density lipoprotein requires an initial binding of the lipoprotein to its receptor.J Lipid Res 1994;35:385-98.

-
- ¹⁰⁸Keaney JF JR, Simon DI, Freedman JE, Vitamin E and vascular homeostasis: implications for atherosclerosis, FASEB J, 1999 Jun;13(9):965-75
- ¹⁰⁹Tsai KL, Huang YH, Kao CL, Yang DM, Lee HC, Chou HY, A novel mechanism of coenzyme Q10 protects against human endothelial cells from oxidative stress-induced injury by modulating NO-related pathways. J Nutr Biochem. 2011 Jun 16
- ¹¹⁰Benjamin H. S. Lau, Suppression of LDL Oxidation by Garlic, Journal of Nutrition. 2001;131:985S-988S
- ¹¹¹Mithinson MJ, Ball RY, Carpenter KLH, Enright JH. Macrophages and ceroid in human atherosclerosis. Eur Heart J 1990; 11:116-21.
- ¹¹²Lindsted KA. Inhibition of macrophage mediated low density lipoprotein oxidation by rat serosal mast cells. J Biol Chem 1993;268:7741-6.
- ¹¹³Luc G,Fruchart JC. Oxidation of lipoproteins and atherosclerosis. Am J Clin Nutr 1991;53:Suppl:206-9
- ¹¹⁴Parthasarathy S,Santanam N.Mechanisms of oxidation,antioxidants and atherosclerosis.Curr Opin Lipidol 1994;5:371-5.
- ¹¹⁵Steinbrecher UP, Zhang H,Laugheed M.Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. Free Rad Biol Med 1990;9:155-68.
- ¹¹⁶Endemann G,Stanton LW,MaddenKS,Bryant CH,White RT,Protter AA.CD-36 is a receptor for oxidized LDL.J Biol Chem 1993;268:11811-6.
- ¹¹⁷Brown MS, Goldstein JL, Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. Annu Rev Biochem 1983;52:223-61
- ¹¹⁸Steinberg D,Parthasarathy S,Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. N.Engl JMed 1989;320:915-24

¹¹⁹Goldstein JL, Ho YK,Basu SK,Brown MS.Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein,producing massive cholesterol accumulation.Proc Natl Acad Sci USA 1979;76:333-7.

¹²⁰Henriksen T,Mahoney EM, Steinberg D.Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoprotein. Proc Natl Acad Sci USA 1981 ;78:6499-503.

¹²¹Henriksen T,Mahoney EM, Steinberg D.Enhanced macrophage degradation of biologically modified LDL. Atherosclerosis 1983;3:149-59.

¹²²Beisiegel U, St Clair RW. An emerging understanding of the interactions of plasma lipoproteins with the arterial wall that leads to the development of atherosclerosis. Curr Opin Lipidol. 1996 Oct;7(5):265-8

¹²³Pearson A, Lux A, Krieger M. Expression cloning of dSR-CI, a class C macrophage-specific scavenger receptor from *Drosophila melanogaster*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995 Apr 25;92(9):4056-60.

¹²⁴Goldstein JL, Brown MS. Regulation of LDL receptors: implications for pathogenesis and therapy of hypercholesterolemia and atherosclerosis. Circulation 1987;76:504-7

¹²⁵Kesaniemi YA, Kervinen K,Miettinen T.Acetaldehyde modification of low density lipoprotein accelerates its catabolism in man. Eur J Clin Invest 1987;17:29-36

¹²⁶Mahley RW, Innerarity TL, Weisgraber KH,Oh SY.Altered metabolism (in vivo and in vitro)of plasma lipoproteins after selective chemical modification of lysine residues of the apoproteins.J Clin Invest 1979;64:743-50

¹²⁷Aviram M., Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Nelton R, Rosenblat M., Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 13: 1617-1624

¹²⁸Jialal I. Evolving lipoprotein risk factors: lipoprotein (a) and oxidized low-density lipoprotein. *Clin Chem* 1998; 44:1827-1832

¹²⁹Goldstein JL, Brown MS. Regulation of LDL receptors: implications for pathogenesis and therapy of hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circulation* 1987; 76:504-7

¹³⁰Kesaniemi YA, Kervinen K, Miettinen T. Acetaldehyde modification of low density lipoprotein accelerates its catabolism in man. *Eur J Clin Invest* 1987; 17:29-36

¹³¹Mahley RW, Innerarity TL, Weisgraber KH, Oh SY. Altered metabolism (in vivo and in vitro) of plasma lipoproteins after selective chemical modification of lysine residues of the apoproteins. *J Clin Invest* 1979; 64:743-50

¹³²Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SS, Butler SW, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86:1372-6

¹³³Endemann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant CH, White RT, Protter AA. CD-36 is a receptor for oxidized LDL. *J Biol Chem* 1993; 268:11811-6.

¹³⁴ Pearson A, Lux A, Krieger M. Expression cloning of dSrCl, a class C macrophage –specific scavenger receptor from *Drosophila Melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1995; 92:4056-60.

¹³⁵Hulthe J. Antibodies to oxidized LDL in atherosclerosis development--clinical and animal studies. Clin Chim Acta. 2004 Oct;348(1-2):1-8.

¹³⁶ Moore KJ, Kunjathoor VV, Koehn SL, Manning JJ, Tseng AA, Silver JM, McKee M, Freeman MW. Loss of receptor-mediated lipid uptake via scavenger receptor A or CD36 pathways does not ameliorate atherosclerosis in hyperlipidemic mice. J Clin Invest. 2005 Aug;115(8):2192-201.

¹³⁷Witztum JL, Palinski W: Are Immunological Mechanisms Relevant For The Development of Atherosclerosis? Clinical Immunology. 90: 153-156,1999.

¹³⁸Lam MC, Tan KC, Lam KS. Glycooxidized low-density lipoprotein regulates the expression of scavenger receptors in THP-1 macrophages. Atherosclerosis. 2004 Dec;177(2):313-20.

¹³⁹Ohashi R, Mu H, Yao Q, Chen C. Atherosclerosis: Immunopathogenesis and immunotherapy. Med Sci Monit. 2004 Nov;10(11)

¹⁴⁰Karvonen J, Paivansalo M, Kesaniemi YA, Horkko S. Immunoglobulin M type of autoantibodies to oxidized low-density lipoprotein has an inverse relation to carotid artery atherosclerosis. Circulation 2003;108:2107–12.

¹⁴¹Mayr M, Kiechl S, Tsimikas S, Miller E, Sheldon J, Willeit J et al . Oxidized low-density lipoprotein autoantibodies, chronic infections, and carotid atherosclerosis in a population-based study. J Am Coll Cardiol 2006;47:2436–43.

¹⁴² Garrido-Sánchez L, García-Pinilla JM, Jiménez-Navarro M, Fernández-Pastora J, Alonso-Briales JH, Hernández-García JM, Reduced levels of anti-MDA LDL antibodies in patients with carbohydrate metabolism disorders. Clin Lab. 2011;57(11-12):901-7.

-
- ¹⁴³Horkko S, Bird DA, Miller E, Itabe H, Leitinger N, Subbanagounder G et al . Monoclonal autoantibodies specific for oxidized phospholipids or oxidized phospholipid-protein adducts inhibit macrophage uptake of oxidized low-density lipoproteins. *J Clin Invest*1999;103:117–28.
- ¹⁴⁴Zhou X, Caligiuri G, Hamsten A, Lefvert AK, Hansson GK. LDL immunization induces T-cell–dependent antibody formation and protection against atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*2001;21:108–14.
- ¹⁴⁵Garrido-Sánchez L, Cardona F, García-Fuentes E, Rojo-Martínez G, Gómez-Zumaquero JM, Picón MJ, Anti-oxidized low-density lipoprotein antibody levels are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*. 2008 Sep;38(9):615-21
- ¹⁴⁶Berliner JA. Territo MC, Sevanian A,Ramin S,Kim JA,Bamshad B,et al.Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions.*J Clin Invest* 1990;85:1260-6.
- ¹⁴⁷Vora DK,Fang ZY,Parhami F,FogelmanAM,Territo MC,Berliner JA.P-selectin induction by MM-LDL and its expression in human atherosclerotic lesions(abstract),*Circulation* 1994;90:Suppl:I-83.
- ¹⁴⁸Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M, Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) andapolipoprotein E,*Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Aug 29;92(18):8264-8.
- ¹⁴⁹Erl W,Weber PC, Weber C.Monocytic cell adhesion to endathelial cells stimulated by Ox-LDL is mediated by distinct endothelial ligands. *Atherosclerosis* 1998;136:297-303.
- ¹⁵⁰Leake DS. Does an acidic pH explain why low density lipoprotein is oxidised in atherosclerotic lesions? *Atherosclerosis*. 1997 Mar 21;129(2):149-57.

¹⁵¹Witztum JL, response to oxidized LDL, Atherosclerosis. 1997 Jun;131 Suppl:S9-11.

¹⁵² Bork RW, Swenson KL, Mehrabian M, Lusis AJ, Fogelman AM, Edwards PA. Mechanisms controlling competence gene expression in murine fibroblasts stimulated with minimally modified LDL. *Arterioscler Thromb* 1992;12:800-6.

¹⁵³Parhami F, Fang ZT, Fogelman AM, Andalabi A, Territo MC, Berliner JA. Minimally modified low density lipoprotein-induced inflammatory responses in endothelial cells are mediated by clinic adenosine monophosphate. *J Clin Invest* 1993;92:471-8.

¹⁵⁴ Cushing SD, Fogelman AM. Monocytes may amplify their recruitment into inflammatory lesions by inducing monocyte chemotactic protein. *Arterioscler Thromb* 1992;12:78-82.

¹⁵⁵Falcona DJ, McCaffrey TA, Vergilio JA. Stimulation of macrophage urokinase expression by polyanions is PKC dependent and requires protein and RNA synthesis. *J Biol Chem* 1991;266:22727-32.

¹⁵⁶Navab M, Fogelman AM, Berliner JA, Territo MC, Demer LL, Frank JS, et al. Pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1995;76:18-23.

¹⁵⁷Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp 130. *Blood* 1995;86:1243-54.

¹⁵⁸Clinton SK, Underwood R, Hayes L, Sherman ML, Kufe DW, Libby P. Macrophage colony-stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. *Am J Pathol*. 1992 Feb;140(2):301-16.

¹⁵⁹Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp 130. *Blood* 1995;86:1243-54.

¹⁶⁰Liu Y, Hultén LM, Wiklund O. Macrophages isolated from human atherosclerotic plaques produce IL-8, and oxysterols may have a regulatory function for IL-8 production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:317-23.

¹⁶¹Clarke MC, Talib S, Figg NL, Bennett MR. Vascular smooth muscle cell apoptosis induces interleukin-1-directed inflammation: effects of hyperlipidemia-mediated inhibition of phagocytosis. *Circ Res*. 2010 Feb 5;106(2):363-72.

¹⁶²Aviram M, Fuhrman B. LDL oxidation by arterial wall macrophages depends on the oxidative status in the lipoprotein and in the cells: role of pro-oxidants vs. antioxidants. *Mol Cell Biochem* 1998 ;188:149-59

¹⁶³Giugliano D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2000 Feb;10(1):38-44.

¹⁶⁴Serin O, Konukoglu D, Firtina S, Mavis O. Serum oxidized low density lipoprotein, paraoxonase 1 and lipid peroxidation levels during oral glucose tolerance test. *Horm Metab Res*. 2007 Mar;39(3):207-11.

¹⁶⁵ Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, 1.basım, temmuz 2000/Ankara, afyon Kocatepe üniversitesi yayınları, afyon 2000

¹⁶⁶Gordon F, Tomaselli & Andreas S Barth. Sudden Cardio Arrest: Oxidative stress irritates the heart, *Nature Medicine* 16,648–649,(2010)

¹⁶⁷<http://www.benthamscience.com/cmciema/sample/cmciema11/vaya/vaya-a-ms.htm> , 24-12-2011 tarihinde okundu

¹⁶⁸Yeşilkaya A. Oxidative Stress and the Cardiovascular System, *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008;28(Suppl):S35-S37

¹⁶⁹ Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000 A Historical Look to the Future, John M.C. Gutteridge and Barry Halliwell,
http://www.envtox.ucdavis.edu/woodlab/ETX214/Halliwell_ROS_Review.pdf
27.12.2011 de okundu.

¹⁷⁰Castro L and Freeman BA. Reactive Oxygen Species in Human Health and Disease. Science 1954; 119: 623-26.

¹⁷¹Halliwell B, Cross CE, Gutteridge JMC..Free radicals,antioxidants and human disease:Where are we now?J Lab Clin Med.119:598-620,1992

¹⁷²Dündar Y, Aslan R, Hücre molaküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar, İnsizyon Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi,1999, 2(2),134-142

¹⁷³ Frank J Kelly, Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects Occup Environ Med 2003; 60:612-616

¹⁷⁴Dr.Jakubowski,<http://employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/oxphos/oldioxygenchem.html>, 28-11-2011 tarihinde okundu

¹⁷⁵Düzova H, Emre M.H, Karakoç Y, Karabulut A.B, Yılmaz Z, Gürsul C, Orta ve Yüksek Düzeyde Treadmill Egzersizinin Sıçanların Kas ve Eritrosit Oksidan/Antioksidan Sistemine Etkisi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2006-13(1) 1-5

¹⁷⁶ Akkus i, Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri, Konya, Mimoza Yayınları,1995.

¹⁷⁷ Weiss SJ, Tissue destruction by neutrophils. N Engl J Med. 1989 Feb 9;320(6):365-76.

¹⁷⁸ Yu B.P, Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. 1994 Jan; 74(1):139-62

¹⁷⁹ Mc Cord JM: Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. N Engl J Med 312:159-163, 1985.

-
- ¹⁸⁰Thomas S.R, Witting P.K and Drummond G.R, Redox Control of Endothelial Function and Dysfunction: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities, © Mary Ann Liebert, Inc. Antioxidants & Redox Signaling, Volume 10, Number 10, 2008: (1714-1739)
- ¹⁸¹Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007 Jan;87(1):315-424.
- ¹⁸²Ichinose F, Roberts JD Jr, Zapol WM, Inhaled nitric oxide:a selective pulmonary vasodilator: current uses and therapeutic potential, *Circulation.* 2004 Jun 29;109(25):3106-11
- ¹⁸³ Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 612–628.
- ¹⁸⁴Memişoğulları R, Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3: 30-39
- ¹⁸⁵Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A, Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi, *Düşünen Adam*; 2005, 18(3):129-135
- ¹⁸⁶Kavas G, Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri, *Türkiye Klinikleri Cilt 9, Sayı 1*, 1989
- ¹⁸⁷Halliwell B., Chirico S.: Lipid Peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57: 715-725.
- ¹⁸⁸Halliwell B, Reactive Oxygen Species In Living Systems: Source, Biochemistry And Role In Human Disease. *Am J Med*, 1991; 91, 14-22.
- ¹⁸⁹Esterbauer H, Wag G, Puhl H., et al. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull.* 1993 Jul; 49(3): 566-76.
- ¹⁹⁰Yin H, Porter NA. New insights regarding the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Antioxid Redox Signal.* 2005 Jan-Feb; 7(1-2): 170-84.

-
- ¹⁹¹ Brash AR. Lipoxygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *J. Biol. Chem.* 1999; pp. 23679–23682.
- ¹⁹²Freeman B.A., Crapo J.D., et al. *Biology Of Disease: Free Radicals And Tissue Injury. Lab Invest*, 1982; 47: 412-426
- ¹⁹³ Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N: Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 338: 668–676, 2005.
- ¹⁹⁴Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. et al. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol.* 1979 Oct 1;135(3):3726.
- ¹⁹⁵Tousoulis D, Kampoli AM, Papageorgiou N, Androulakis E, Antoniadis C, Toutouzas K, Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation, 2011 Dec;17(37) : 4089-110
- ¹⁹⁶Yu XJ, Li YJ, Xiong Y, Increase of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in serum of high cholesterol fed rabbits, *Life Sci.* 1994;54(12):753-8.
- ¹⁹⁷ Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M, The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 2003 Apr 17;348(16):1546-54
- ¹⁹⁸Tan B, Jiang DJ, Huang H, Jia SJ, Jiang JL, Hu CP, Li YJ, Taurine protects against low-density lipoprotein-induced endothelial dysfunction by theDDAH/ADMA pathway, *vascul Pharmacol.* 2007 May;46(5):338-45.
- ¹⁹⁹ Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Förstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y⁺ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide.* 1997 Feb;1(1):65-73.

-
- ²⁰⁰Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992 ;339(8793):572-5.
- ²⁰¹Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 1991; 266: 4244-4250.
- ²⁰² Esterbauer, H., Schaur, R.J., Zollner, H. Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes, *Free Radical Biology and Medicine* ,Volume 11, Issue 1, 1991, Pages 81-128
- ²⁰³Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract.* 2001 Jul;53(1):33-9.
- ²⁰⁴Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease, 2001 *Clinical Chemistry*, 47 (5) , pp. 887-892.
- ²⁰⁵L.J. Niedernhofer, J.S. Daniels, C.A. Rouzer, R.E. Greene, L.J. Marnett Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells, *J. Biol. Chem.*, 278 (2003), pp. 31426–31433
- ²⁰⁶Holvoet P. Endothelial dysfunction, oxidation of low-density lipoprotein, and cardiovascular disease. *Thromb Apher.* 1999 Nov;3(4):287-93.
- ²⁰⁷ A.A. Horton, S. Fairhurst, Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity, *Crit. Rev. Toxicol.*, 18 (1987), pp. 27–79
- ²⁰⁸F. Nielsen, B.B. Mikkelsen, J.B. Nielsen, H.R. Andersen, P. Grandjean Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors, *Clin. Chem.*, 43 (1997), pp. 1209–1214
- ²⁰⁹H. Esterbauer, G. Wag, H. Puhl, Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis, *Br. Med. Bull.*, 49 (1993), pp. 566–576

-
- ²¹⁰Meinitzer A, Seelhorst U, Wellnitz B, Halwachs-Baumann G, Boehm BO, Winkelmann BR, Asymmetrical Dimethylarginine Independently Predicts Total and Cardiovascular Mortality in Individuals with Angiographic Coronary Artery Disease (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study) Clin Chem. 2007 Feb;53(2):273-83.
- ²¹¹ Klaus W.J. Wahle ve Steven D. Heys, Ateroskleroz: hücre biyolojisi ve lipoproteinler Current Opinion in Lipidology 2008, 19:435–437
- ²¹²D. Steinberg, S. Parthasarathy, T.E. Carew, J.C. Khoo, J.L. Witztum, Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity, N. Engl. J. Med., 320 (1989), pp. 915–924
- ²¹³ Hannu Päivä, Juha Laakso, Inkeri Ruukonen, Mari Luomala, Marika Saarela, Tiina Solakivi, Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA), nitrate and the indices of low-density lipoprotein oxidation Clinica Chimica Acta Volume 371, Issues 1-2, september 2006, Pages 97-101
- ²¹⁴Zhang WZ, Venardos K, Finch S, Kaye DM. Detrimental effect of oxidized LDL on endothelial arginine metabolism and transportation. Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(5):920-8.
- ²¹⁵<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> 16-11-2011 tarihinde okundu
- ²¹⁶Seljeskog E, Hervig T, Mansoor MA, A novel HPLC method for the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). A comparison with a commercially available kit, Clin Biochem. 2006 Sep;39(9):947-54.
- ²¹⁷ Grotto D, Santa Maria LD, Boeira S, Valentini J, Charão MF, Moro AM, Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection, J Pharm Biomed Anal. 2007 Jan 17;43(2):619-24.

²¹⁸Londero D, Lo Greco P, Automated high-performance liquid chromatographic separation with spectrofluorometric detection of a malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct in plasma, J Chromatogr A. 1996 Apr 5;729(1-2):207-10.

²¹⁹Templar J, Kon SP, Milligan TP, Newman DJ, Raftery MJ. Increased plasma malondialdehyde levels in glomerular disease as determined by a fully validated HPLC method. Nephrol Dial Transplant. 1999 Apr;14(4):946-51.

²²⁰Tug T, Karatas F, Terzi S.M, Ozdemir N, Comparison of Serum Malondialdehyde Levels Determined by Two Different Methods in Patients With COPD: HPLC or TBARS Methods, Labmedicine, January 2005, Volume 36, Number 1, 41-44

²²¹ Steghens JP, Combarous F, Arkouche W, Flourie F, Hadj-Aissa A, Influence of hemodialysis on total and free malondialdehyde measured by a new HPLC method, Nephrol Ther. 2005 May;1(2):121-5.

²²²Hong YL, Yeh SL, Chang CY, Hu ML. Total plasma malondialdehyde levels in 16 Taiwanese college students determined by various thiobarbituric acid tests and an improved high-performance liquid chromatography-based method. Clin Biochem. 2000 Nov;33(8):619-25.

²²³Sim AS, Salonikas C, Naidoo D, Wilcken DE, Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal Standard, J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2003 Mar 5;785(2):337-44.

²²⁴Al-Fawaeir S, Akgül EO, Çaycı T, Demirin H, Kurt YG, Aydın İ, Ağıllı M, Özkan E, Yaman H, Çakır E, Erbil MK. Malondialdehid Ölçümünde iki Yöntemin Karşılaştırılması. J Clin Anal Med 2011;2(2):11-4

-
- ²²⁵Stojakovic T, Claudel T, Putz-Bankuti C, Fauler G, Scharnagl H, Wagner M, Low-dose atorvastatin improves dyslipidemia and vascular function in patients with primary biliary cirrhosis after one year of treatment, *Atherosclerosis*. 2010 Mar;209(1):178-83.
- ²²⁶Akalin A, Temiz G, Akcar N, Sensoy B, Short term effects of atorvastatin on endothelial functions and oxidized LDL levels in patients with type 2 diabetes. *Endocr J*. 2008 Oct;55(5):861-6
- ²²⁷Matsumoto T, Fujita M, Sawamura T, Kakino A, Sato Y, Fujita Y, Pitavastatin reduces lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands in hypercholesterolemic humans, *lipids* 2010 Apr; 45 (4):329-35.
- ²²⁸Jorge PA, Almeida EA, Ozaki MR, Jorge M, Carneiro A, Effects of atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, and simvastatin on endothelial function, lipid peroxidation, and aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits, *Arq Bras Cardiol*. 2005 Apr;84(4):314-9
- ²²⁹Nagila A, Permpongpaiboon T, Tantrarongroj S, Porapakham P, Chinwattana K, Deakin S, Effect of atorvastatin on paraoxonase 1 (PON1) and oxidative status, *Pharmacol Rep*. 2009 Sep-Oct;61(5):892-8
- ²³⁰Nishiyama Y, Ueda M, Otsuka T, Katsura K, Abe A, Nagayama H, Statin treatment decreased serum asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in ischemic stroke patients. *J Atheroscler Thromb*. 2011;18(2):131-7.
- ²³¹Lu TM, Ding YA, Leu HB, Yin WH, Sheu WH, Chu KM, Effect of rosuvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hypercholesterolemia, *Am J Cardiol*. 2004 Jul 15;94(2):157-61.
- ²³²Xia W, Yin Z, Li J, Song Y, Qu X. Effects of rosuvastatin on asymmetric dimethylarginine levels and early atrial fibrillation recurrence after electrical cardioversion. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2009 Dec;32(12):1562-6.

9.TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgisi ve tecrübesiyle her zaman yanımda olan ve bana yol gösteren, çalışmalarımnda değerli zamanını ve yardımlarını esirgemedenden akademik gelişimim için bana sunan, tez danışmanım ve çok değerli hocam Prof. Dr. Aysel Arıcıoğlu'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitime başladığım ilk günden itibaren ilgisini ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim, çok değerli hocam, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu'na saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda tüm doktora eğitimim boyunca bilgilerini ve desteklerini esirgemeyen tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalındaki Öğretim Üyesi hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Nedret Kılıç, Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet Rıdvan Yalçın hocalarıma, bilgisini ve desteğini esirgemeyen Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Aycan Fahri Erkan'a ve ayrıca Uzm. Dr. Berkay Ekici'ye teşekkür ederim.

Beni tüm yaşamım ve eğitim hayatım boyunca anlayan, sonsuz desteklerini hiç esirgemedenden ve hiç yorulmadan gelişimim için bana sunan Annem Adike Tuzgöl'e, Babam Bekir Tuzgöl'e ve Ablam Meliha Tuzgöl Dost ile Kardeşim Hatice Tuzgöl'e teşekkür ederim.

Uzun süren çalışmalarımnda bıkmadan usanmadan hep yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen sevgili Eşim Funda'ya ve kendisinden çaldığım oyun zamanlarına sonsuz sabır gösteren biricik Oğlum Alp'e teşekkür ederim.

10.ÖZGEÇMİŞ

Adı :Kamil
Soyadı :TUZGÖL
Doğum Yeri ve Tarihi: :Kütahya, 24.08.1977

Eğitimi:

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, 2002
Yenimahalle Mustafa Kemal Lisesi, Ankara,1994
Namık Kemal Ortaokulu, Ankara, 1991
Hirfanlı İlköğretim Okulu, Kırşehir, 1988

Yabancı Dili :İngilizce

11.EKLER

11.1. ETİK KURUL



T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, GAZİ UNİVERSTY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
İLAÇ DIŞI KLİNİK ÇALIŞMALAR

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"Koroner Arter Hastalarında ADMA (Asimetrik Dimetil Arginin) ve Oksidatif Stres ilişkisinin araştırılması"																																														
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Prof.Dr.Aysel Arıcıoğlu																																														
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe																																													
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ																																															
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 45 Tarih : 19 Ocak 2009																																															
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı araştırma projesine ait dosya; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım, yöntemler ve aydınlatılmış onamın yeterliliği yönünden incelenmiş, bütçe dışında uygun olduğuna karar verilmiştir. Etik Kurul kararı; projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Etik Kurula bildirilmesi gerekmektedir.																																															
ETİK KURUL BİLGİLERİ																																																
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU, HELSİNKİ BELGESİ, BİYOETİK SÖZLEŞMESİ																																															
ÜYELER																																																
Unvanı / Adı / Soyadı Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti																																													
Prof.Dr.Necla BUYAN BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F. Çocuk Sağ ve Hast.A.D.	K																																													
Prof. Dr.Firdevs Aktaş ÜYE	Enfeksiyon	G.Ü.T.F. Enfeksiyon Hast. A.D.	K																																													
Prof. Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F. Tıbbi Biyokimya A.D.	K																																													
Prof.Dr.Fatma ATALAY ÜYE	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	G.Ü.T.F. Fiziksel Tıp ve Reha.A.D.	K																																													
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E																																													
Prof.Dr.Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya Ecz. Fak.	G.Ü.E.F. (Ecz.Fak.) Farmasötik Kimya	K																																													
Prof.Dr.Reha KURUOĞLU ÜYE	Nöroloji	G.Ü.T.F. Nöroloji A.D.	E																																													
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F. Tıp Etiği ve Tıp tarihi A.D.	K																																													
Doç.Dr.Mehmet Ali Ergün ÜYE	Tıbbi Genetik	G.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E																																													
Doç.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F. Tıbbi Patoloji A.D.	K																																													
Doç.Dr.Canan ULUOĞLU ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F. Tıbbi Farmakoloji A.D.	K																																													
Doç.Dr.Münci YAGCI ÜYE	İç Hastalıkları - Hematoloji	G.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E																																													
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E																																													
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E																																													
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">İlişki (*)</th> <th style="text-align: center;">Katılım (**)</th> <th style="text-align: center;">İmza</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">E</td> <td style="text-align: center;">xx</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">x</td> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> </tbody> </table>				İlişki (*)	Katılım (**)	İmza	x	E	xx	x	H	H	x	E	xx	x	H	H	x	E	xx	x	H	H	x	E	xx	x	H	H	x	E	xx	x	H	H	x	E	xx	x	H	H	x	E	xx	x	H	H
İlişki (*)	Katılım (**)	İmza																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														
x	E	xx																																														
x	H	H																																														

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma
