

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA
ENDOTELYAL LİPAZ GEN (LIPG)
POLİMORFİZMİ ve İNFLAMASYON
BELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Solmaz SUSAM

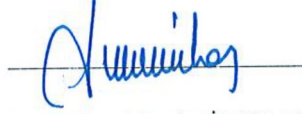
2014

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Nevin İLHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi

olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Necip İLHAN



Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr.

Necip İLHAN



Prof. Dr. İhsan

HALİFBOĞLU



Yrd. Doç. Dr. Ebru

ÖNALAN



.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun seçiminde rehberliğimi üstlenen, tezimin hazırlanması süresince yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Prof.Dr. Necip İLHAN 'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bilgilerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım Anabilim Dalı Başkanımız; Prof.Dr. Nevin İLHAN'a, Prof. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ' a, Prof. Dr. İhsan HALİFEOĞLU' na, Prof. Dr. Ferit GÜRSU'ya Doç. Dr. Dilara KAMAN'a ve Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a, katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışması için gerekli hasta ve kontrol grubunun oluşturulmasında yardımcı olan Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Mehmet AKBULUT, deneysel çalışmalar esnasında yardımlarını gördüğüm Araştırma Görevlisi arkadaşlarım Dr.Hatice KALAYCI ve Dr.Musa YILMAZ ile istatistiksel değerlendirmelerde yardımını esirgemeyen Dr.Mehmet KALAYCI'ya PCR çalışmaları konusunda desteklerini esirgemeyen Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN ve Araştırma Görevlilerine teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın bir bölümünü Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütmeme imkan sağlayan Yeditepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Turgay İSBİR ile anabilim dalı araştırma görevlilerine ve İstanbul Üniversitesi DETAE Öğretim Görevlisi Dr. Bahar TOPTAŞ'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bana bütün sıkıntılarıımı unutturan, zor anlarımda yanımda olan kadim dostlarım Sinem ÇETİNTAŞ ve Özengül DURMAZ' a “Hayatımın her

aşamasında” bana desteğini esirgemeyen ve hep yanımda olan sevgili ablalarım Hatice ÖZÇELİK’e ve Yurdagül TOSUNOĞLU’na, her an yanımda olduklarını hissettiğim Sevgili annem ve babama ve son olarak Yüksek Lisans Eğitime beraber başladığım, tezimin her aşamasında sabır ve yardımını esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili arkadaşım Yusuf DÖĞÜŞ’e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR	ix
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Koroner Kalp Hastalığı	6
3.2. Koroner Kalp Hastalığı Risk Faktörleri	6
3.2.1. Değıştirilemeyen Risk Faktörleri	8
3.2.1.1. Yaş	8
3.2.1.2. Cinsiyet	8
3.2.1.3. Kalıtım (Ailesel Öykü)	8
3.2.2. Değıştirilebilir Risk Faktörleri	9
3.2.2.1 Sigara	9
3.2.2.2 Hipertansiyon	9
3.2.2.3. Plazma Total Kolesterol Düzeyinin Yüksek Olması	10
3.2.2.4. Plazma HDL Kolesterol Düzeyinin Düşük Olması	11
3.2.2.5. Plazma Triglicerid Düzeyinin Yüksek Olması	12
3.3. Endotelyal Lipaz	12
3.4. hsCRP Reaktif Protein (hsCRP)	14
3.5. İnterlökin 10	18
3.6. İnterlökin 6	19
3.7. Endotelyal Lipaz Geni ve İnflamasyon Belirteçlerinin KAH ile İlişkisi	21
4. GEREÇ ve YÖNTEM	23
4.1. Çalışma Gruplarının Tanımı	23
4.2. Biyokimyasal Analizler için Örnek Seçimi	23
4.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	25

4.4. Kullanılan Gereçler	25
4.5. Kullanılan Çözeltiler	26
4.5.1. Tris Baz-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit Tamponu (5X)	26
4.5.2. Tris Baz-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit Tamponu (1X)	26
4.5.3. DNA Marker Çözeltisi	26
4.6. Kullanılan Yöntemler	27
4.6.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	27
4.6.2. DNA Saflık Tayini	27
4.7. Endotelyal Lipaz 584 C/T Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltılması	28
4.7.1. PCR’da Kullanılan Kimyasallar	28
4.7.1.1. Kullanılan Primerler	28
4.7.1.1.1. Primerlerin Sulandırılması	28
4.7.1.2. DNA Taq Polimeraz Enzimi	29
4.7.1.3. 10X DNA Taq PCR Buffer	29
4.7.1.4. dNTP’ler (100 µmol/mL)	29
4.7.1.5. MgCl ₂ (25mM/mL)	29
4.7.2. Uygulanan PCR Programı	30
4.7.2.1. Agaroz Jel Elektroforezi	30
4.7.2.2. EL Polimorfizminin Belirlenmesi için PCR Ürünlerinde Restriksiyon Enzim Analizi	31
4.7.2.3. Restriksiyon Enzim Kesimi	31
4.8. ELISA Yönteminin Genel Prensipleri	32
4.8.1. Plazmada Endotelyal Lipaz ve IL-10 Düzeylerinin Belirlenmesi	34
4.9. İstatistiksel Değerlendirme	39
5. BULGULAR	39
6. TARTIŞMA	51
7. KAYNAKLAR	57
8. EKLER	65
9. ÖZGEÇMİŞ	69

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Hipertansiyonda Kan Basınç Değerlerinin Değişimi	10
Tablo 2.	ABD’ de Uygulanan Kolesterol Kontrol Programına Göre Kolesterol Düzeylerinin Sınıflandırılması	11
Tablo 3.	hsCRP ve Kardiyovasküler Risk	17
Tablo 4.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
Tablo 5.	Kullanılan Gereçler	26
Tablo 6.	PCR Karışımı Miktarları	29
Tablo 7.	EL Polimorfizmi Amplifikasyon Koşulları	30
Tablo 8.	Kesim Protokolü	31
Tablo 9.	Kontrol Grubu ve KAH Grubundaki Bireylerin Demografik Bilgileri ve Biyokimyasal Parametreler.	40
Tablo10.	Endotelyal Lipaz Geni C/T 584 Polimorfizmine Ait Genotip Frekansları	41
Tablo 11.	Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Serum Endotelyal Lipaz, hsCRP, IL-6, IL-10 Düzeyleri	42
Tablo 12.	Çalışma Gruplarının Lipid Sınır Değerlerinin Dağılımı	45
Tablo 13.	Kontrol Grubunda Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizmi Varyantlarının Karakteristik Özellikleri ve Lipid Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi	46
Tablo 14.	Koroner Arter Hasta Grubunda Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizmi Varyantlarının Karakteristik Özellikler ve Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi	46
Tablo 15.	Kontrol Grubunda Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizminin Risk Faktörleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi	49
Tablo 16.	Koroner Arter Hasta Grubunda Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizmi Varyantlarının Karakteristik Özellikler ve Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi	50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Diyetetik Çoklu Doymamış Yağ Asitlerinin Olası Etkileşimleri	14
Şekil 2.	Beş adet Protomerden Oluşan CRP Molekülü.	15
Şekil 3.	IL-10 Gen Yapısı.	18
Şekil 4.	IL-6 Yapısı.	19
Şekil 5.	IL-6 ve Akut Faz Reaktanları.	22
Şekil 6.	Kesim Öncesi 245 bç' lik Bant Görüntüsü.	31
Şekil 7.	Kesim Ürünlerinden Bir Görüntü.	32
Şekil 8.	Eliza Çalışması.	33
Şekil 9.	Endotelyal Lipaz Standart Eğrisi.	35
Şekil 10.	IL-10 Standart Eğrisi.	36
Şekil 11.	hsCRP Standart Eğrisi.	37
Şekil 12.	IL-6 Standart Eğrisi.	38
Şekil 13.	Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma Endotelyal Lipaz Düzeyleri.	43
Şekil 14.	Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma hsCRP Düzeyleri.	43
Şekil 15.	Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma, IL-6 Düzeyleri.	44
Şekil 16.	Kontrol Ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma IL-10 Düzeyleri.	44
Şekil 17.	Kontrol ve KAH grubunda Plazma Endotelyal Lipaz Düzeylerinin 584 C/T Gen Polimorfizm Varyantlarına Göre Dağılımı.	47
Şekil 18.	Kontrol ve KAH grubunda plazma IL-10 düzeylerinin 584 C/T gen Polimorfizm varyantlarına göre dağılımı.	47
Şekil 19.	Kontrol ve KAH Grubunda Plazma hsCRP Düzeylerinin 584 C/T Gen Polimorfizm Varyantlarına Göre Dağılımı.	48
Şekil 20.	Kontrol ve KAH Grubunda Plazma IL-6 Düzeylerinin 584 C/T Gen Polimorfizm Varyantlarına Göre Dağılımı.	48

KISALTMALAR

Ab	: Antikor
ABC	: Avidin Biotin Peroksidaz Kompleksi
Ag	: Antijen
BSF-2	: Beta Hücre Stimule Edici Faktör-2
C	: Sitozin Bazı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EL	: Endotelyal Lipaz
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
hsCRP	: Yüksek Duyarlılıklı C-Reaktif Protein
HT	: Hipertansiyon
IL-1	: İnterlökin-1
IL-10	: İnterlökin-10
IL-6	: İnterlökin-6
K₃-EDTA	: Potasyum- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
kDa	: Kilodalton
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LIPG	: Lipaz Geni
MgCL₂	: Magnezyum Klorür
MI	: Miyokard İnfarktüsü
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
T	: Timin Bazı
TBE	: Tris Borat EDTA
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü- α
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

1. ÖZET

Koroner arter hastalığı (KAH) birçok toplumda ölüm nedenlerinin başında yer alan genetik ve çevresel faktörlerin neden olduğu kompleks bir hastalıktır.

Endotelyal Lipaz (EL) endotelyal hücreler tarafından salgılanan bir lipazdır. EL'in aşırı ekspresyonu HDL Kolesterol düzeylerini azaltır ancak EL'nin inhibisyonu ters etki yapar. EL; bu etkisi ile HDL Kolesterol düzeylerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynayarak aterosklerozun başlaması ve ilerlemesine karar verir.

Çalışmaya 88 Koroner Arter Hastası ve 88 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Plazma örneklerinde, İnterlökin 6, İnterlökin 10, Endotelyal Lipaz ve hsCRP düzeyleri ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir. Endotelyal Lipaz gen polimorfizmi (LIPG) PCR yöntemi ile saptanmıştır.

EL -584C/T genotipine ait frekanslar hasta grubunda, CT 52 (%59,1), CC 34 (%38,6), TT 2 (%2,3) iken, kontrol grubunda CT 34 (%38,6), CC 51 (%58,0), TT 3 (%3,4) olarak saptanmıştır.

Koroner arter hasta grubu ve kontrol grubu demografik özellikler açısından karşılaştırıldığında; koroner arter hasta grubunda; yaş ve total kolesterol düzeylerinin arttığı ($p<0.001$) buna karşılık sigara kullanımı, sistolik kan basıncı, ve LDL kolesterol düzeylerinin azaldığı saptanmış ($p<0.05$) olup bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Cinsiyet, diyastolik kan basıncı, hipertansiyon, trigliserid, HDL kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Plazma EL, IL-10, IL-6 ve hsCRP düzeyleri kontrol ve koroner arter hasta grubunda karşılaştırıldığında; IL-10, IL-6 ve hsCRP düzeyleri istatistiksel olarak

anlamli bulunmuştur. ($p<0.05$). Plazma EL düzeylerinin ise istatistiksel olarak anlamli olmadığı görülmüştür. ($p>0.05$)

Sonuç olarak; Endotelyal Lipaz -584 C/T gen polimorfizminin koroner arter hastalıkları açısından önemli bir parametre olduğu hastalığın genetik temelini araştırılması ve prognozunu takibi açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Koroner Arter Hastalığı, Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizmi, İnflamasyon Belirteçleri

2. ABSTRACT

The Relationship Between Endothelial Lipase Gene Polymorphisms (LIPG) and Inflammation Markers in Persons with Coronary Arter Disease

Coroner Artery Disease (CAD) is a complex disease, which is the leading cause of mortality in many populations and is caused by various genetic and environmental factors.

Endothelial lipase (EL) is a lipase which is secreted by endothelial cells. Overexpression of endothelial lipase reduces HDL cholesterol levels, otherwise lack of endothelial lipase increases HDL cholesterol levels. By this effect EL; playing a critical role in regulating the levels of HDL cholesterol decides initiation and progression of atherosclerosis.

88 Patients with atherosclerosis and 88 healthy individuals were included in the study. In plasma samples, the levels of interleukin-6, interleukin-10, endothelial lipase and hsCRP were evaluated by ELISA. Endothelial lipase gene polymorphism (LIPG) was determined by the PCR method.

The frequencies EL -584 C/T genotypes were detected as ; CT 34 (%38,6), CC 51 (%58,0), TT 3 (%3,4) in the control group and as CT 52 (%59,1), CC 34 (%38,6), TT 2 (%2,3) in the patient group.

When comparing coronary artery disease and the control group in terms of demographic characteristics; age and total cholesterol levels in coronary artery group were increased ($p < 0.001$), whereas smoking, systolic blood pressure, and LDL cholesterol levels were decreased ($p < 0.05$), and the differences were found statistically significant. Gender, diastolic blood pressure, hypertension,

triglycerides, HDL cholesterol, and VLDL cholesterol levels were not found statistically significant between the groups.

Plasma EL, IL-10, IL-6 and hsCRP levels in the patient group compared with the control and coronary artery; IL-10, IL-6 and hsCRP levels were determined statistically significant ($p < 0.05$). There were statistically significant difference in plasma EL levels ($p > 0.05$).

To sum up; we suggest that EL -584 C/T gene polymorphism is a important parametre the evaluating of coronery artery diseases and the follow up of prognasiss and clarifiyng of genetic background.

Keywords: Coronary Artery Disease, Endothelial Lipase Gene Polymorphism, Inflammation markers

3. GİRİŞ

Koroner Arter hastalığı (KAH), genetik ve çevresel risk faktörlerinin neden olduğu hastalıklardan biridir. Koroner Arter Hastalığının ortaya çıkmasında hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı, diabetes mellitus, obezite ve yaş gibi farklı risk faktörleri sorumlu tutulmaktadır. Koroner Arter Hastalığı, ateroskleroz ve onun trombolitik komplikasyonlarını içeren bir hastalık olup özellikle gelişmiş toplumlarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenidir (1).

KAH; dünyadaki tüm ölümlerin % 33-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise % 50-75'inin nedeni olarak gösterilmektedir. Türkiye'de de koroner arter hastalıkları ölüm nedenlerinin başında yer almakta ve yaklaşık olarak 2 milyon kişide KAH bulunduğu tahmin edilmektedir (2).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Endotelyal Lipaz (LIPG) polimorfizmi ve miyokard infarktüsü arasında HDL düzeylerinden bağımsız bir ilişki olduğu gösterilmiştir (3). Yapılan farklı çalışmalarda LIPG polimorfizminin farklı allellerinin yüksek HDL konsantrasyonları ile ilişkili olduğu ve LIPG'nin 584. pozisyonda bulunan C/T tek nükleotid polimorfizminin özellikle koroner kalp hastalıkları ile ilişkisi olabileceği ileri sürülmüştür (4). Yapılan çeşitli çalışmalarda Endotelyal Lipaz'ı kodlayan LIPG geninin farklı allelleri olduğu saptanmıştır. LIPG geninin yüksek HDL Kolesterol düzeyleri ile bağlantılı olduğunu gösteren çok sayıda genetik varyantları tanımlanmıştır. Tanımlanan 17 genetik varyant arasında, ekzon 3'de 584. pozisyonda yer alan C/T, tek nükleotid polimorfizminin treoninden izolösin'e dönüşmesine yol açtığı ve bu yüzden farklı intravasküler EL aktivitesine neden olabileceği görüşü ileri sürülmüştür (5,6).

Lipoproteinlerin metabolizmasında rol oynayan Endotelyal Lipaz enzimini kodlayan LIPG polimorfizmi ve inflamasyon belirteçlerinin koroner kalp hastalıkları için potansiyel risk faktörü olarak incelenmeleri büyük önem taşımaktadır (7).

Bu çalışmada; koroner arter hastalıklarında Endotelyal Lipaz gen polimorfizminin rolünün belirlenmesi, gen polimorfizmi ile inflamasyon arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

3.1. Koroner Kalp Hastalığı

Organların canlılığını koruyabilmeleri ve görevlerini yapabilmeleri için besin maddelerine ve oksijene gereksinimleri vardır. Bunlar organlarımıza kan ile ulaştırılmaktadır. Kan ise organlara atardamarlar (arter) yolu ile taşınmakta ve kanın atardamarlara pompalanması işini kalbimiz yapmaktadır. Her organ gibi kalbin de beslenmesi gereklidir. Kalbin kendisini besleyen damarlara “koroner damar denmektedir. Koroner damarlarda olabilecek hastalıklar doğrudan kalbin çalışmasını ve verimini etkileyeceğinden dolayı hayati öneme sahiptir. Koroner damarlarda yer yer, başta kolesterol olmak üzere bir takım maddeler birikmekte ve buralarda darlıklar veya tıkanıklıklar oluşmaktadır. Plak dediğimiz bu yapılar zaman içinde büyüyerek damar boşluğunu daraltmaktadır. Damarlardaki daralma, içinden geçen kan miktarını azaltacağından dolayı kalbin beslenme bozukluğuna bağlı problemler geliştirmektedir (8). Oluşan bu durum koroner kalp hastalığına yol açar.

3.2. Koroner Kalp Hastalığı Risk Faktörleri

Koroner kalp hastalığı (KKH), çok etkenli (multifaktöriyel) hastalıklardandır. Yani, hastalığın oluşmasında birden fazla faktör rol

oynamaktadır. Bu faktörlere “risk faktörleri” denilmektedir. Bunların bazıları ile KKH arasındaki ilişki daha güçlü ve daha belirgin, bazıları ile zayıf ve çok belirgin değildir. Faktörlerin bazıları önlenabilir, kontrol altına alınabilir ya da değiştirilebilir faktörlerdir. Bazılarının ise değiştirilmesi mümkün değildir.

KKH oluşmasındaki rolü belirgin olan ve kontrol altına alınabilen faktörlere “major risk faktörleri”, diğerlerine de “minör risk faktörleri” adı verilmektedir (9).

Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri (10)

A)Değiştirilemeyen (önlenemeyen) risk faktörleri:

- Yaş
- Cinsiyet
- Kalıtım (Ailesel Öykü)

B)Değiştirilebilir (önlenebilir) risk faktörleri:

- Sigara
- Hipertansiyon
- Hiperglisemi / Diabetes Mellitus
- Plazma Total Kolesterol düzeyinin yüksek olması
- Plazma HDL Kolesterol düzeyinin düşük olması
- Plazma Trigliserid düzeyinin yüksek olması
- Obezite
- Fiziksel inaktivite
- Aşırı alkol alımı
- Sosyal ve psikolojik faktörler
- Fazla tuz alımı
- Beslenme alışkanlığı

3.2.1. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

3.2.1.1. Yaş

Koroner kalp hastalığı görölme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır (11). Erkeklerde 45 yaş, kadınlarda 55 yaş üzeri kardiovasküler hastalık için güçlü bir risk faktörüdür (12). KKH, her yaşta erkekte daha fazla görölmektedir. Ancak yaş ilerledikçe cinsler arasındaki farklılık da azalmaktadır (13). Hastalık halen 35-64 yaş grubunda erkeklerde majör ölüm nedenidir. Erkeklerde bütün yaş gruplarında ölümlerinin %35' inin nedeni KKH' tır (14).

3.2.1.2. Cinsiyet

Östrojen hormonunun koruyucu etkisi ile kadınlar menopoz dönemine kadar KKH açısından şanslı gruptadırlar. Ancak menopoz döneminin devreye girmesi ile varolan risk faktörlerinin (obezite, diyabet, fiziksel aktivitenin azlığı vb.) KKH ye zemin hazırlaması dikkat edilecek husustur. Akut miyokard infarktöslü kadınların erkeklere oranla daha yaşlı olmasının sebebi bu duruma bağlanmaktadır (15). Kadınların alışma hayatına katıldıkları dönemden sonra ve sigara tüketiminin kadınlarda da yaygınlaşması ile post menapozal dönemdeki KKH'ya yakalanma riski açısından cinsiyet farkının kalmadığı belirtilmiştir(16).

3.2.1.3. Kalıtım (Ailesel Öykü)

KKH'de genetik yapının önemi küçümseyecek kadar büyüktür. Diğer risk faktörlerinin de katılımı, kalp hastalıklarında önemli temel oluşturmaktadır. Koroner arter duvarlarındaki bazı konjenital defektlerin ailevi hiperlipoproteinemi gibi otozomal ressesif bir durumun KKH oluşumu ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir (17). Babada veya birinci derecede erkek akrabalarında 55 yaş, anne

veya birinci derece kadın akrabalarında 65 yaştan önce miyokard infarktüsü veya ani ölüm olması ve ailesinde koroner kalp hastalığı bulunması, koroner kalp hastalığı görülme riskini olmayanlara göre 4 kat arttırmaktadır (18). Erken yaşta miyokard infarktüsü geçiren erkeklerin birinci derece akrabalarında koroner kalp hastalığı daha sık tespit edilmiştir (19).

3.2.2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri

3.2.2.1 Sigara

Halen koroner arter hastalığı için düzeltilebilen en önemli risk faktörüdür. Sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında sigara içenlerde yükselmiş LDL ve VLDL ile azalmış HDL düzeyleri görülür. Bu olay artmış aterosklerotik risk ile beraberdir. Nikotin epinefrin salınımını attırarak trombosit oluşumunu ve agregasyonunu artırdığı açıklanmıştır (20). KKH için bir risk faktörü olarak kabul edilen plazma fibrinojenin sigara içimi ile arttığı gösterilmiştir (21).

3.2.2.2 Hipertansiyon

Kan basıncı; kalbin kanı pompalarken damar duvarında oluşturduğu basınçtır. Kan basıncı sistolik ve diyastolik olarak adlandırılır. Normal kan basıncı değerleri; sistolik için en çok 130 mmHg, diyastolik için ise en çok 85 mmHg olmalıdır. Hipertansiyon (HT) ise; diyastolik basıncın 90 mmHg ve sistolik basıncın 140 mmHg ve üzerinde olmasıdır (22). Hipertansiyona eşlik eden risk, beyin, kalp, çevresel damarlar ve böbrekleri etkileyen vasküler hastalıklardan kaynaklanır. Her yaştaki kadın ve erkeklerde sistolik kan basıncındaki her 10 mmHg'lık artış için, önemli kardiyovasküler hastalık gelişme riski yaklaşık % 30

artış göstermektedir (23). Hipertansiyonda kan basınç değerlerinin değişimi aşağıda Tablo 1’de gösterilmiştir (24).

Tablo 1. Hipertansiyonda Kan Basınç Değerlerinin Değişimi (24)

Kategori	Sistolik Kan Basıncı		Diyastolik Kan Basıncı
Normal	<120	ve	<80
Prehipertansiyon	120-139	ya da	80-89
Evre 1 hipertansiyon	140-159	ya da	90-99
Evre 2 hipertansiyon	>160	ya da	>100

Hipertansiyonun uzun süreli tedavi amacı, KAH oluşumunu engellemektedir. Hipertansiyon KAH gelişimi için major bir risk faktörüdür. Kan basıncı ne kadar yüksekse risk o kadar fazladır. KAH oluşmuşsa hem sistolik hem de diyastolik basıncın iyi kontrolü gerekir (25).

3.2.2.3. Plazma Total Kolesterol Düzeyinin Yüksek Olması

Kolesterol; 4 halkalı steroid nükleusu ve bir hidroksil grubu olan bir steroldür. Hücre membranlarının temel öğelerindendir. Hücre membranının stabilitesi ve transmembran transportunda önemli rol oynar ve yapım yeri karaciğerdir. Eğer kanda fazla miktarda kolesterol varsa kan damarlarında birikir ve sertleşmeye yol açar. 35-37 yaşları arasında 36000’den fazla kişinin izlendiği Multiple Risk Faktörleri (MRFİT) araştırmasında elde edilen bulgulara göre serum kolesterol düzeyi 6.5 mmol/L’ yi aşanlarda KKH riski belirgin bir şekilde artmakta, 7.8 mmol/L’ye ulaştığında ise daha da dik bir artış çizgisi vermektedir.

Türk toplumu genel olarak total kolesterol düzeyleri görece olarak düşük ancak trigliserid düzeyleri ise oldukça yüksek bir toplumdur. Total kolesterolün en yüksek olduğu yaş döneminde bile (40-55 yaşları arası) ortalama total kolesterol değeri erkekte % 188 mg/dl, kadınlarda %196 mg'dır. Bu değer batılı toplumların değerinden düşüktür (26).

Tablo 2. ABD’ de Uygulanan Kolesterol Kontrol Programına Göre Kolesterol Düzeylerinin Sınıflandırılması (27)

	Total kolesterol	LDL Kolesterol	HDL kolesterol
İstenen	<200	<130	>35
Sınırdan yüksek	200-239	130-159	80-89
Yüksek	>240	>160	

3.2.2.4. Plazma HDL Kolesterol Düzeyinin Düşük Olması

HDL; karaciğer, bağırsaklar ve lipoliz yoluyla düşük dansiteli lipoprotein ile şilomikronlardan sentez edilir. Ateroskleroz oluşumunu engelleyen majör lipoprotein komponentidir. Çapları küçük olmasına rağmen (100 Angström) dansitelerinin yüksek oluşu bu lipidlerin kan damarlarına tutunmasını engeller. Yüksek dansiteli lipoproteinlerin yaklaşık %20’sini kolesterol oluşturur. Diğerlerini ise fosfolipid ve apoproteinler teşkil eder (28). HDL kolesterolün 60mg/dl üzerinde olması hastalık riskini azaltmakta ve risk hesaplamalarında bir risk faktörünün düşülmesini sağlamaktadır. HDL kolesterol düşüklüğü bulunan bireylerde, özellikle aterojen artık lipoproteinleri yansıtabilen ılımlı trigliserid yüksekliği (150-200 mg/dL) eşlik ediyorsa, total kolesterolün hedeflenen seviyesi 200 mg/dL’nin hayli altında olmalıdır (29, 30).

3.2.2.5. Plazma Trigliserid Düzeyinin Yüksek Olması

Trigliseridler enerjiden zengin lipidlerdir. Bir molekül gliserole 3 yağ asidinin birleşmesi ile oluşur. Kasların önemli enerji kaynaklarından biridir. Kasların enerji ihtiyacından fazlası dokularda depo edilir. Bitkisel ve hayvansal yağlarda bol miktarda bulunur. Diyetle alınanlarla ek olarak endojen yolla karaciğerde sentez edilir (31). Trigliserid düzeyleri artınca pıhtılaşma sistemi aktive olmakta, bu da koroner tromboz yolu ile koroner arter riskini artırabilmektedir. Aynı zamanda trigliseridlerin yükselmesi HDL-Kolesterolü düzeyini düşürmektedir. Hipertrigliseridemi tanısı koyabilmek için trigliserid değerlerinin 200 mg/dL üzerinde olması gerekmektedir. Sınır yüksek değerden sonra koroner kalp hastalığı riski artmaktadır. TG düzeyinin düşürülmesinde ilaç dışında, kilo verilmesi, alkol alınmaması ve fizik aktivitenin artırılması önerilmektedir. Hipertrigliseridemi türk erkeklerinin %14,5' in de, kadınların ise %9,8'in de saptanmıştır (32).

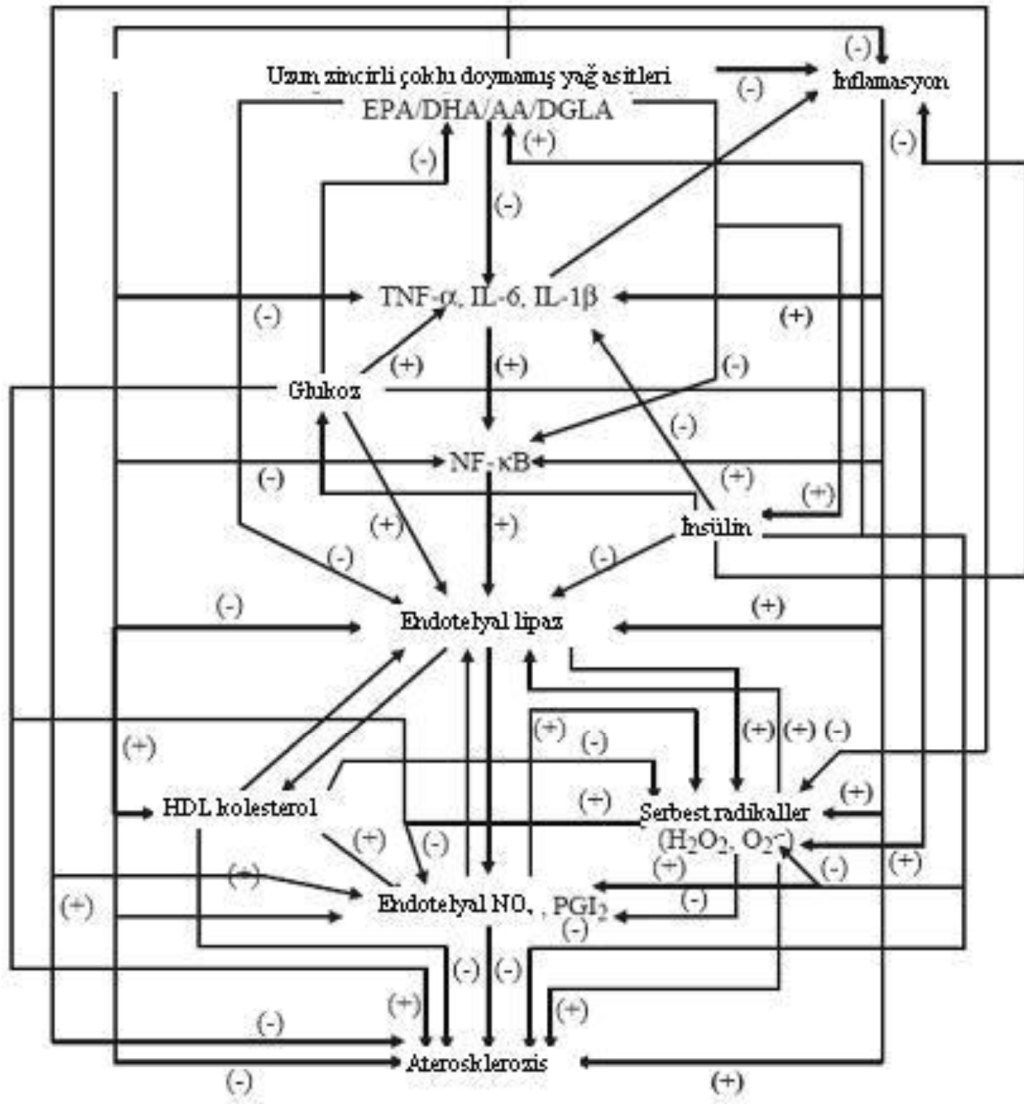
3.3. Endotelyal Lipaz

Endotelyal lipaz; trigliserid lipaz gen ailesinin yeni bir üyesidir ve LIPG geni tarafından kodlanır. Gen, 11 eksondan oluşur ve 71,4 kb uzunluğundadır. Endotelyal Lipaz 500 aminoasit kalıntısından meydana gelmiştir (33). Endotel hücreler tarafından sentezlenir. Endotelyal Lipaz; Hepatik Lipazla % 40, Lipoprotein Lipazla ise % 45 oranında benzerlik göstermektedir (34). Endotelyal Lipazın isimlendirilmesi endotelyal hücrelerin yüzeyindeki bulunuşu baz alınarak yapılmıştır. Bu isimlendirme Endotelyal Lipazı; Hepatik Lipazdan ve Lipoprotein Lipazdan ayırır (35).

Proteinin, alternatif uç birleştirmeden (*splicing*) kaynaklanan üç izoformu vardır. **EDL1a** olarak adlandırılan formu tam uzunluktadır (36). **EDL2a** ve **EDL2b**'nin ilk 80 aminoasidi eksiktir. Ayrıca EDL2b'nin 74 aminoasitlik bir bölümü daha eksiktir, bu bölüm aktif bölgenin üstünü örten kapak bölgesidir (37). EL'nin başlıca Fosfolipaz aktivitesi vardır, trigliserid hidroliz aktivitesi göreceli olarak daha azdır (38).

Endotelyal Lipaz; Lipoprotein ve Hepatik Lipazlara hem yapı hem de fonksiyon olarak benzemektedir. Endotelyal Lipaz primer olarak endotelyal hücrelerden salgılanarak hücre yüzeyinde fonksiyonel olarak Fosfolipaz A1 aktivitesi gösterir. EL'in aşırı ekspresyonu HDL Kolesterol düzeylerini azaltırken EL'nin inhibasyonu ters etki yapar. Proinflamatuvar sitokinler; plazma HDL Kolesterol düzeyini EL aktivitesini artırarak baskılar. EL; bu etkisi ile HDL Kolesterol düzeylerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynayarak aterosklerozun başlaması ve ilerlemesine karar verir (39).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Endotelyal Lipaz (LIPG) polimorfizmi ve miyokard infarktüsü arasında HDL düzeylerinden bağımsız bir ilişki olduğu gösterilmiştir (40). Yapılan farklı çalışmalarda LİPG polimorfizminin farklı allellerinin yüksek HDL konsantrasyonları ile ilişkili olduğu ve LIPG'nin 584. pozisyonda bulunan C/T tek nükleotid polimorfizminin özellikle koroner kalb hastalıkları ile ilişkisi olabileceği ileri sürülmüştür (41). Lipoproteinlerin metabolizmasında rol oynayan Endotelyal Lipaz enzimini kodlayan LİPG polimorfizmi ve inflamasyon belirteçlerinin koroner kalb hastalıkları için potansiyel risk faktörü olarak incelenmeleri büyük önem taşımaktadır (42).

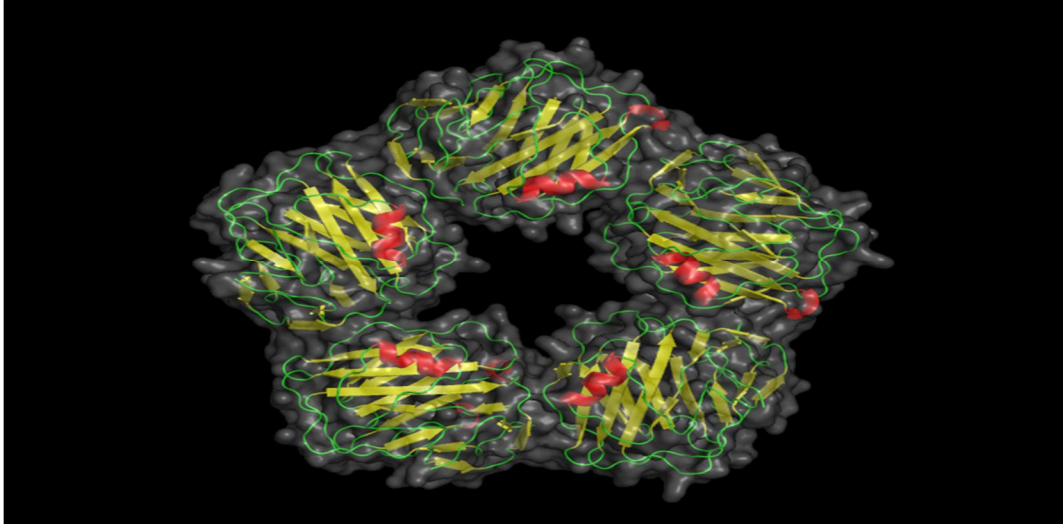


Şekil 1. Diyetetik çoklu doymamış yağ asitlerinin olası etkileşimleri, egzersiz, inflamasyon, endotelial lipaz, nitrik oksit (NO) ve prostasiklinin aterosklerozdaki rolü gösterilmiştir. (+) pozitif kontrolü ve sentezi ifade eder. (-) negatif kontrolü ve sentezi gösterir (43) .

3.4. C-Reaktif Protein (CRP)

CRP her biri 206 aminoasitten oluşan, birbirine kovalent olmayan şekilde bağlı, beş adet alt üniteden (protomerden) meydana gelir (44). Bu şekilde beş alt üniteden oluşan proteinlere pentraksinler denilir. Sağlıklı genç bireylerde serum

CRP düzeyi ortalama 1 mg/L'dir (45). Yaşlanma ile CRP'nin normal kişilerdeki ortalama değeri 2.0 mg/L'ye çıkar (46). CRP kadınlarda erkeklerdekinden biraz daha yüksektir (47). CRP çeşitli yöntemlerle ölçülebilmektedir. Giderek yaygınlaşan "immunoassay" ile "high sensitive" (yüksek duyarlı) olarak CRP ölçümü, en iyi sonucu vermektedir (48).



Şekil 2. Beş Adet Protomerden Oluşan CRP Molekülü (49)

Dolaşımdaki CRP'nin hemen tamamı hepatositlerden salgılanır. CRP inflamasyondan sonra kısa sürede yükselmeye başlayıp, altı saat sonra CRP düzeyi > 5 mg/L olur. CRP 48 saatte maksimuma ulaşır. CRP'nin yarı ömrü 19 saat kadardır (50). Hastalıklı ve sağlıklı kişilerde CRP'nin yarı ömrü değişmez. Bu nedenle CRP yüksek olan bir kişide, ertesi gün CRP düzeyinde değişiklik olmazsa, CRP'nin yükselmesine yol açan inflamatuvar durumda değişiklik olmamıştır diye yorum yapılır. İnflamatuvar neden ortadan kalktığında CRP düzeyinde diğer akut faz proteinlerinden daha hızlı bir azalma olur. Yarı ömrü 19 saat olduğundan, inflamatuvar nedeni ortadan kalkmışsa, CRP düzeyinin ertesi gün belirgin olarak azalması beklenir.

CRP, yaş ile birlikte bir miktar yükselmektedir (51). Ancak akut inflamatuvar hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan yükselmeler hariç tutulacak olursa, CRP düzeyleri genel olarak stabildir. Yani sağlıklı bir kişide CRP 2 mg/L ise, daha sonra yapılan kontrol ölçümlerinde de CRP bu düzeylerde saptanır. CRP'de mevsimsel değişiklik, diüurnal varyasyon olmaz, açlık veya toklukla düzeyi değişmez (52, 53). CRP hem inflamatuvar hem de antiinflamatuvar etki gösterir. Hangi etkinin daha baskın olduğu bilinmemektedir. İnflamatuvar etkileri arasında makrofajlardan inflamatuvar sitokinlerin, IL-6 reseptörünün ve doku faktörünün salgılanmasını arttırması sayılabilir (54, 55). Bu etkileri ile CRP doku hasarını arttırabilir. Hayvanlara CRP verildiğinde deneysel olarak oluşturulan miyokard infarktüsü (Mİ)'nde nekroze olan alan %40 artmaktadır (56).

CRP'nin antiinflamatuvar etkisi de vardır. Tavşan CRP geni verilmiş ve fazla miktarda CRP salgılayan farelerde antiinflamatuvar etki belirgin olarak ortaya çıkmaktadır (57). CRP eksikliğinde apoptozda bozukluk olup, otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği de ileri sürülmüştür (58).

Özel metodlarla ölçülen bir CRP türevi; yüksek hassasiyete sahip (high sensitivity ya da hsCRP) C-reaktif proteindir. hsCRP genellikle koroner arter hastalığı olan veya koroner arter hastalığından şüphelenilen kişilerde ölçülür ve yüksek hsCRP klasik risk faktörlerine ek bir risk faktörü olarak hastanın kalp hastalığı riski açısından sınıflandırılmasına yardım eder.(59)

Bugüne dek yapılan bu çalışmalar sonucunda, CRP'nin, MI, KAH, inme, periferik arter hastalığı (PAH) ve ani ölüm gibi pek çok kardiovasküler olayı tetiklediği saptanmıştır. Bu çalışmalara dayanarak American Heart Association and Centers for Disease Control and Prevention (AHA/CDC), Framingham risk

skoru % 10-20 arasında olan bireylerde, CRP'nin KAH için, risk belirteci olarak kullanılmasını önermiştir. Bu öneriye göre, CRP düzeyleri <1mg/l olanlar düşük riskli, 1.0-3.0 mg/L olanlar orta riskli ve 3-10 mg/L olanlar KAH için yüksek riskli bireyler olarak kabul edilmiştir. Bu risk değerlendirmesine göre, en az 1 ay arayla yapılan 2 ölçüm aynı kategoride yer alıyorsa bunun güvenilir bir kriter olarak kullanılabileceği söylenmektedir. >10 mg/L CRP değerlerinin kardiovasküler riski öngörmede güvenilir olmadığı ve bunların dışlanması gerektiği belirtilmektedir. Bu nedenle, kardiovasküler risk belirteci olarak kullanılırken, hsCRP ölçümünün yapılması ve hastanın en az 2 hafta süre içerisinde herhangi bir akut inflamatuvar durum geçirmemiş olması şartı öne sürülmüştür (60).

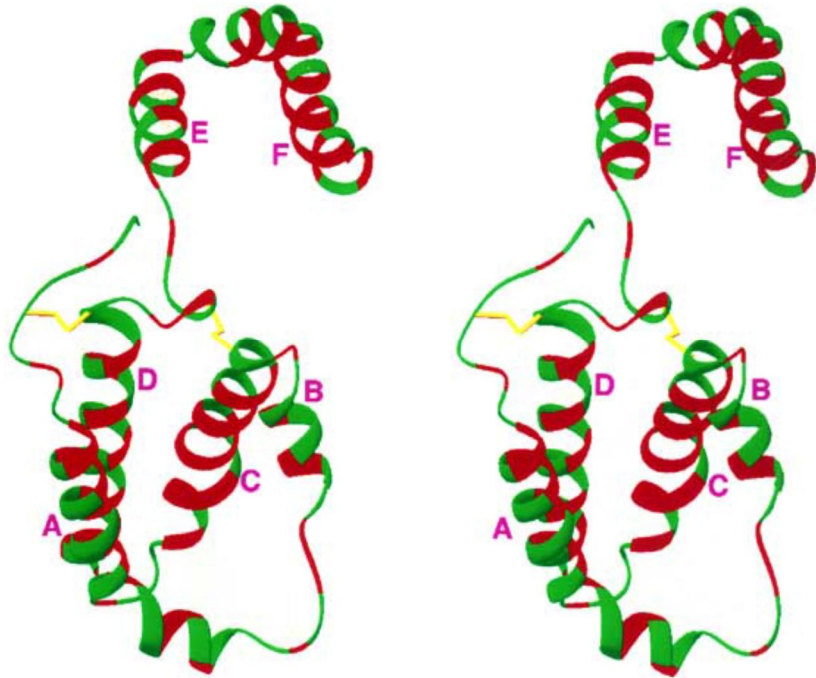
Tablo 3. hsCRP ve Kardiyovasküler Risk (60)

Framingham risk skoru (%10-20%)	Risk
< 1.0 mg/L	Düşük
1.0-3.0mg/L	Orta
>3.0 mg/L	Yüksek

Bu değerler kardiyovasküler hastalıklar için toplam değerlendirme sürecinin sadece bir bölümünü oluşturur. Düşünülmesi gereken diğer risk faktörleri, yüksek kolesterol , LDL-C, trigliserit, ve glukoz düzeyleridir. Ayrıca, sigara içilmesi, yüksek kan basıncının olması ve diyabet risk düzeyini daha da arttırır.

3.5. İnterlökin-10

İnsan IL-10'u yaklaşık 178 aminoasitten oluşan 36 kDa ağırlığında bir homodimerdir ve fare IL-10'u ile %73 oranında benzerlik gösterir. Dolaşımdaki IL-10 miktarı ise yaklaşık 0,5 pg/mL'dır (61,62). IL-10, moleküler yapısı V şeklinde olan nonkovalan bağlı bir dimerdir. Bu dimerin her bir kolu uzun ya da kısa olabilen altı α -heliksten oluşur. Bu helikal yapılar molekülün dimerizasyonunu sağlar. Alt ünitelerden her biri A-B-C-D-E-F' denen α -helikslerden oluşmaktadır. A-C-D-E-F' α -helikslerinin oluşturduğu tipik demet aslında IL-4 ve GM-CSF gibi helikal sitokinlerde de bulunmaktadır. Molekülün karboksi-terminal kısmı E ve F α -helikslerinden oluşmakta ve dört-heliks alt üniteden oluşan (A-D) amino-terminal kısmın içine doğru uzanmaktadır. IL-10 bu molekül yapısıyla tıpkı IFN- γ 'ya benzemektedir (63).

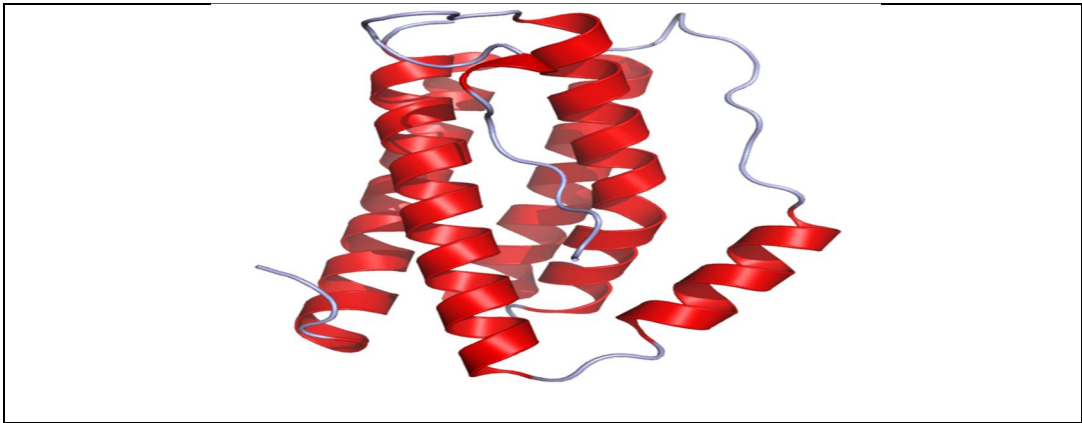


Şekil 3. IL-10 Yapısı (64).

İnterlökin-10; T hücresi (yardımcı, sitotoksik ve düzenleyici), B hücresi, monosit, makrofaj, keratinosit, mikrogliya, eosinofil ve dendritik hücreler tarafından salgılanmaktadır (65, 66). Sitokin sentezinin major inhibitörü olan IL-10 makrofaj fonksiyonlarını baskılar ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder (67). İnterlökin-10; MMP ve Doku faktör ekspresyonunu da inhibe eder. Çeşitli MMP'ların aktivitelerini inhibe eden MMP 1 doku inhibitörlerinin üretimini azaltır. Koroner arter hastalıklarının düzenlenmesinde İnterlökin-10'un önemli bir özelliği antitrombotik bir aktivite göstermesidir. İnterlökin-10; aterosklerotik lezyonlarda trombotik prosesleri ve lokal inflamasyonu etkiler (68).

3.6. İnterlökin 6

İnterlökin-6 yaklaşık 26 kD luk bir sitokin olup, mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentezlenen bir sitokindir. IL-6'nın reseptörü 60 kD'luk bağlayıcı bir protein ile 130 kD'luk sinyal ileten alt birimden oluşur



Şekil 4. İnterlökin-6 Yapısı (69).

İnterlökin-6 (IL-6) ilk kez 1986 yılında T hücrelerden salınan ve B hücre differansiyasyonunu indükleyen bir medyatör olarak tanımlanmıştır. Tanımlandığı yıllarda gösterdiği farklı aktivitelerinden dolayı değişik şekillerde isimlendirilmiş [B hücre stimüle eden faktör (BSF-2), hibridoma plazmositom büyüme faktörü, hepatosit stimüle eden faktör] ve interferon ailesinin yeni bir üyesi olduğu düşünülmüştür (70, 71).

IL-6, endotel hücreleri, fibroblastlar, monositler, keratinositler, mezangial hücreler ve kemik iliği stromal hücreleri tarafından IL-1 stimülasyonu ile sentezlenen bir interlökin üyesidir. Aynı zamanda bazı aktive T hücreler tarafından da üretilir (72,73). IL-6 metabolik, endotelyal ve koagülasyon mekanizmaları aracılığı ile koroner kalb hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar. IL-6; bazal glukoz alımını artırır, insülin duyarlılığını geliştirir ve endotelyumdan adhezyon moleküllerinin salınmasına neden olur. IL-6 ayrıca fibrinojenin hepatik salınımını artırır. Plateletler üzerinde prokoagülan etkiye sahiptir (74).Yapılan bir çalışmanın sonucunda, 17 aylık izlemde koroner mortalite riskinin CRP ve IL-6 düzeyi yüksek olanlarda altı kat, fibrinojen ve TNF- α düzeyi yüksek olanlarda 3.5 kat fazla olduğu saptanmıştır (75).

Yapılan başka bir çalışmada IL-6' nın kararsız anjina pektorisli hastalarda artmış mortalitenin güçlü bir prediktörü olduğu gösterilmiştir (76). Diğer bir prospektif çalışmada da 40-84 yaş arasındaki sağlıklı olgularda, yüksek IL-6 seviyelerinin kardiyovasküler mortalite ile ilişkili olduğu bulunmuştur (77). IL-6'nın yüksek düzeyleri, aterosklerotik plak gelişimi ve rüptürü üzerine olan etkilerinden bağımsız olarak, tromboza yatkınlığa işaret etmektedir. CRP ile

ilişkili bulunmakla birlikte, IL-6 gelecekteki kardiyovasküler olaylar için bağımsız bir belirleyici olarak kabul edilmektedir.

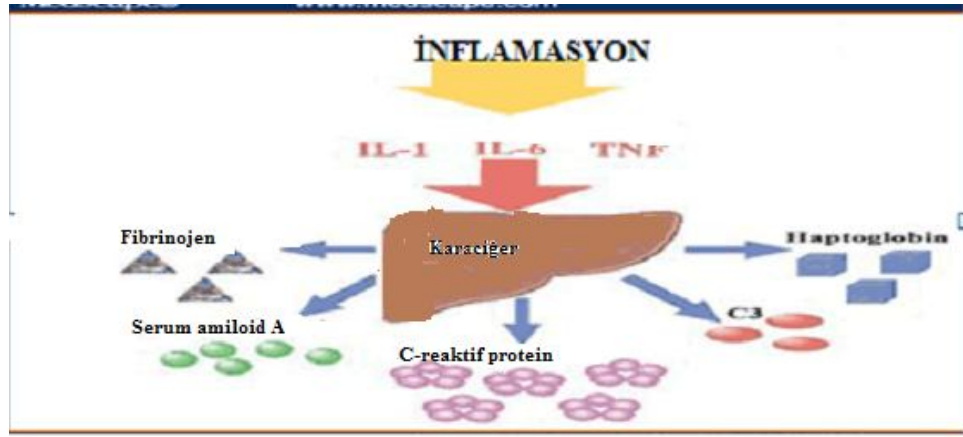
3.7. Endotelyal Lipaz ven İnflamasyon Belirteçlerinin KAH ile İlişkisi

Endotelyal lipaz; lipaz gen ailesinin yeni bir üyesi olmasına rağmen üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan Mank Seymour ve arkadaşları tarafından 2004 yılında 594 katılımcı üzerinde gerçekleştirilen bir çalışma ile bundan bağımsız olarak 2006 yılında Hutter ve arkadaşları tarafından 541 Japon kökenli Amerikalılar üzerinde gerçekleştirilen çalışmada LIPG -584 C/T polimorfizmi ile HDL-kolesterol seviyeleri arasında zayıf bir ilişki tespit edilmiştir. Endotelyal lipazı kodlayan LIPG geninin 584. pozisyonundaki C/T polimorfizminin HDL-kolesterol seviyelerinden bağımsız olarak koroner arter ateroskleroza bağlı akut miyokard enfarktüs (AM) riski ile ilişkili olduğu ve AM patojenezinde etkili olabileceği ileri sürülmüştür (78).

İnterlökin 10; lenfositlerin Th2 hücre topluluğu ve makrofajlar tarafından büyük miktarda üretilen ateroskleroz ile ilişkili inflamatuvar hücre topluluğu üzerinde deaktive edici bir potansiyeli olan sitokindir. Koroner arter hastalıklarının düzenlenmesinde İnterlökin 10'un önemli bir özelliği antitrombotik bir aktivite göstermesidir. İnterlökin 10; aterosklerotik lezyonlarda trombotik prosesleri ve lokal inflamasyonu etkiler (79).

IL-6 metabolik, endotelyal ve koagülan mekanizmalar aracılığı ile koroner kalb hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar. IL-6; bazal glukoz alımını artırır, insülin duyarlılığını geliştirir ve endotelyumdan adhezyon moleküllerinin salınmasına neden olur. IL-6 ayrıca fibrinojenin hepatik salınımını artırır plateletler üzerinde prokoagülan etkiye sahiptir (80).

CRP ve kalp hastalıkları ile ilişkili ilk veriler, CRP düzeyi yüksek olan Mİ geçirmiş hastalarda prognozun daha kötü olmasıdır (81). Daha sonra hsCRP düzey ölçümünün yaygınlaşması ile, CRP yüksekliğinin ateroskleroz için yüksek risk faktörü olduğuna ilişkin çok sayıda çalışma yapılmıştır. Danesh ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları bir meta analizde, CRP düzeyi üst 1/3'lük kısımda olan kişilerin koroner arter hastalığı gelişimi açısından CRP düzeyi alt 1/3'lük kısımda olan kişilere oranla, rölatif riskini 2.0 olarak bulmuşlardır (82).



Şekil 5. IL6 ve Akut Faz Reaktanları (83)

Çalışmanın amacı; Elazığ bölgesinde yaşayan ve gerek beslenme koşulları gerekse sosyal konumları açısından farklılık gösteren sağlıklı ve koroner arter hastalığı olan kişilerde Endotelyal Lipaz 584 C/T gen polimorfizm sıklığını belirlemek ve koroner arter hastalıkları ile EL gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır. Ayrıca çalışmada koroner arter hastalıklarının patogenezinde rol oynayan Endotelyal Lipaz, IL-10, IL-6 ve hs-CRP düzeylerini her iki grupta belirlemek ve bu parametrelerin düzeyleri ile EL gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi açıklamak amaçlanmıştır.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Çalışma Gruplarının Tanımı

Çalışma grubu; yaşları 18-80 arasında değişen anjiyografik olarak koroner arter hastalığı tanısı konmuş yaklaşık 88 hasta ile yine anjiyografi sonucu koroner arter hastalığı olmadığı tespit edilmiş yaklaşık 88 sağlıklı bireyden oluşmuştur.

Kontrol grubu; herhangi bir iskemik kalp hastalığı olmayan, hipertansiyon, lipid anomali, metabolik rahatsızlık (Diabetes mellitus, böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği vb.) ve ailede iskemik kalp hastalığı bulgusu olmayan kişilerden oluşturulmuştur.

Hasta grubu; Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Kliniğine başvuran hastaların Koroner Arter Hastalıkları açısından değerlendirilmesine bağlı olarak oluşturulmuştur. KAH tanısı alan hastalar ayrıca tek damar, çift damar ve 3 damar hastaları şeklinde kategorize edilmiştir.

Çalışmadan dışlanma kriterleri;

- a) 18 yaşın altında olan kişiler
- b) Malignite varlığı
- c) İleri derecede sistemik hastalık varlığı

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin anamnezleri alınarak sistolik ve diyastolik kan basınçları ölçülmüş ve aile hikayeleri yönünden sorgulanmıştır.

4.2. Biyokimyasal Analizler için Örnek Seçimi

Çalışmaya dahil edilen bireylerden K₃-EDTA içeren 2 ayrı tüpe 2'er mililitre kan örnekleri alınırken antikoagülan içermeyen biyokimya tüpüne ise 3 mililitre kan örneği alınmıştır. K₃-EDTA içeren kan tüplerinin birinden DNA

izolasyonu yapılırken diğer K₃-EDTA içeren kan örneği 1500xg'de, +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrılmış ve -20°C'de çalışma gününe kadar saklanmıştır. Plazma örneklerinde, İnterlökin 10, hsCRP ve plazma endotelyal lipaz düzeyleri tayin edilmiştir. Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri de aynı işlemlere tabi tutularak serumları ayrılmış ve serum örneklerinde serum lipidleri olan Total Kolesterol, HDL Kolesterol, LDL Kolesterol VLDL Kolesterol ve Trigliserid düzeyleri ölçülmüştür.

Çalışma grubunu oluşturan kişilerin kanından izole edilmiş DNA örneklerinde Endotelyal Lipaz Gen (LIPG) polimorfizmi (584 C/T genotipleri belirlenmiştir. Gen polimorfizmi; Schimuzu ve arkadaşlarının yöntemine göre uygun oligonukleotid primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile saptanmıştır.

Serum Lipid parametrelerinin düzeyleri; Klinik Kimya Analizörleri kullanılarak tayin edilmiş , plazma Endotelyal Lipaz, İnterlökin 10, İnterlökin 6, hsCRP düzeyleri ise ELİSA kitleri ile kit içeriğine uygun olarak ölçülmüştür.

Çalışma için; Fırat Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığına başvuru yapılmıştır. İlgili etik kurulun 12.07.2012 tarih ve 12/04 sayılı kararı ile çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna dair izin alınmıştır. Tez çalışmasına dahil edilen her birey çalışma hakkında bilgilendirilerek onay formu düzenlenmiştir. Tez çalışması için gerekli maddi destek Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon birimince desteklenen TF 12.85 no'lu proje aracılığı sağlanmıştır.

4.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler, üretici firmaları ve ürün kodları aşağıda Tablo-4’ te verilmiştir.

Tablo 4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde	Üretici Firma ve Ürün Kodu
Agaroz	Vivantis AGG-431
Borik Asit	Merck A857165721
DNA Marker	Fermantas
dNTP	Vivantis
Tag DNA Polimeraz	Vivantis 2054
Yükleme boyası 6X Loading	Fermantas 00092036
Tris Baz	MeckK37574587738
Jel Red Dropper	Olerup SSP 28S
Primer 1	Alpha DNA 486483
Primer 2	Alpha DNA 486484
NdeI Kesim Enzimi	Thermo Scientific FD0584
Steril Distile Su	Eczacıbaşı G1108025
DNA İzolasyon kiti	Zymo Research Katalog No: D 3073

4.4. Kullanılan Gereçler

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri ve üretici firmaları aşağıda Tablo-5’ te verilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan Gereçler

Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	Üretici Firma
Elektroforez sistemi ve Güç kaynağı	BİO-RAD
Analitik Terazî	Sartorius
ELİSA Cihazı	BiotekELX800
Manyetik karıştırıcı	Elektromag
Mikrodalga Fırın	Arçelik MD565S
Su banyosu	Kotterman
Bilgisayar	Queen
Jel görüntüleme sistemi	BİO-RAD
Thermal Cycler	BİO -RAD
Otomatik Pipet takımı	Brand
Vorteks	Nüve
Biospec-nano	Shimadzu Biotech 230V

4.5. Kullanılan Çözeltiler

4.5.1. Tris Baz-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit Tamponu (5X)

27,2 gram TRİS, 13,6 gram Borik asit, 2,35 gram EDTA analitik terazide tartılarak 500 mL’lik bir balonjojeye konuldu. Üzerine bir miktar distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcıda maddelerin çözünmesi sağlandı. Çözeltinin son hacim 500 mL; pH 8 olacak şekilde ayarlandı. Bu çözelti; Tris Baz-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit tamponu (5X TBE) olarak kullanıldı.

4.5.2. Tris Baz-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit Tamponu (1X)

Hazırlanmış 500 mL’lik 5X TBE çözeltisi 1/5 oranında dilüe edilerek 1X TBE çözeltisi hazırlandı.

4.5.3. DNA Marker Çözeltisi

DNA marker çözeltisi hazırlamak için 14 µL 1X TBE çözeltisi ile 4 µL yükleme boyası ve 3,5 µL marker parafilm üzerinde karıştırıldı.

4.6. Kullanılan Yöntemler

4.6.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, üretici firmanın (Zymo Research Katalog No: D 3073) kit protokolüne uygun olarak yapıldı ve çalışma gününe kadar +4°C de bekletildi.

Çalışma Prensipleri

- Oda sıcaklığına gelen kan örnekleri 100 µL alınıp tüplere konuldu.
- Daha sonra üzerine 400 µL genomik lysis buffer eklendi. 4- 6 saniye karıştırıldı ve 5-10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- Karışımı zymo-spin IIC kolonuna aktarıldı. 10000 g de 1 dakika santrifüj edildi ve toplama tüpü atıldı.
- Zymo- spin IIC kolonu yeni bir toplama tüpüne aktarıldı üzerine 200 µL DNA pre-wash buffer eklendi 10000 g de 1 dakika santrifüj edildi toplama tüpü atıldı.
- Zymo- spin IIC kolonu yeni bir toplama tüpüne koyuldu üzerine 500 µL g-DNA wash buffer eklendi. 10000 g de 1 dakika santrifüj edildi.
- Zymo-spin IIC kolonu başka bir toplama tüpüne koyuldu üzerine 50 µL elution buffer eklendi. 2-5 dakika oda ısısında bekletildi. 10000 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Zymo-spin IIC kolonu atıldı.
- Toplama tüpüne DNA aktarıldı.

4.6.2. DNA Saflık Tayini

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. OD₂₆₀/ OD₂₈₀ oranı 1.7-1.8 olan DNA'lar temiz olarak kabul edildi. Bu oranın altında bir değere sahip olan

DNA'lara temizleme işlemi uygulandı. Çift iplikli DNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu absorbans 50 µg/mL (50ng/ µL)'dir. Bu bilgiden yararlanılarak DNA konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{DNA Konsantrasyonu: } OD_{260} \times 50 \text{ µg/mL} \times \text{Sulandırma oranı (100)}$$

4.7. Endotelyal Lipaz 584 C/T Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Çalışma gruplarından izole edilen DNA örneklerinde endotelyal lipaz gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. DNA örneklerinin her birinin amplifikasyonu için toplam 25µL'lik PCR karışımı hazırlandı. Amplifikasyon reaksiyonları Thermal Cycler'da gerçekleştirildi.

4.7.1. PCR'da Kullanılan Kimyasallar

4.7.1.1. Kullanılan Primerler

Endotelyal lipaz geninde EL-584C/T polimorfizminin gözlemlendiği bölgeyi çoğaltmak için kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği gibidir.

Forward primer: 5'-CATGAGCTGAGATTGTTGTCAGTGC-3'

Reverse Primer: 5'-CAGTCAACCACAACACTACATTGGCGTCTTTCTCTCAT-3'

4.7.1.1.1. Primerlerin Sulandırılması

Liyofilize durumdaki primerlere, kit prosedüründe belirlenen miktarda steril distile su eklenerek 100 pmol/µL 'lik stok çözelti hazırlandı. PCR işleminde

kullanılmak üzere stoktan 10 pmol/ μ L 'lik konsantrasyonu olan 100 μ L 'lik çözeltiler hazırlandı ve her PCR işlemi için dilüsyondan 1 μ L kullanıldı.

4.7.1.2. DNA Taq polimeraz enzimi

PCR reaksiyonundaki düzeyi 2.5 ünite olacak şekilde 25 μ L'lik PCR karışımına 0.5 μ L eklenmiştir.

4.7.1.3. 10X DNA Taq PCR Buffer

25 μ L'lik PCR karışımına 1,5 μ L eklenmiştir.

4.7.1.4. dNTP'ler (100 μ mol/mL)

dNTP'lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 10' ar μ L alınıp (toplam 40 μ L) 1 μ L'lik tüpe konduktan sonra ve üzerine 960 μ L steril distile su eklenerek 1000 μ L 1mM 'lık dNTP karışımı hazırlanmış ve 25 μ L'lik karışıma 5 μ L eklenmiştir.

4.7.1.5. MgCl₂ (25mM/mL)

MgCl₂'den 25 μ L'lik PCR karışımına 2 μ L eklendi.

Tablo 6. PCR Karışımı Miktarları

Kimyasallar	Miktar
Forward primer	1 μ L
Reverse primer	1 μ L
dNTP	5 μ L
MgCl ₂	2 μ L
10x Buffer	1.5 μ L
Taq Polimeraz	0.5 μ L

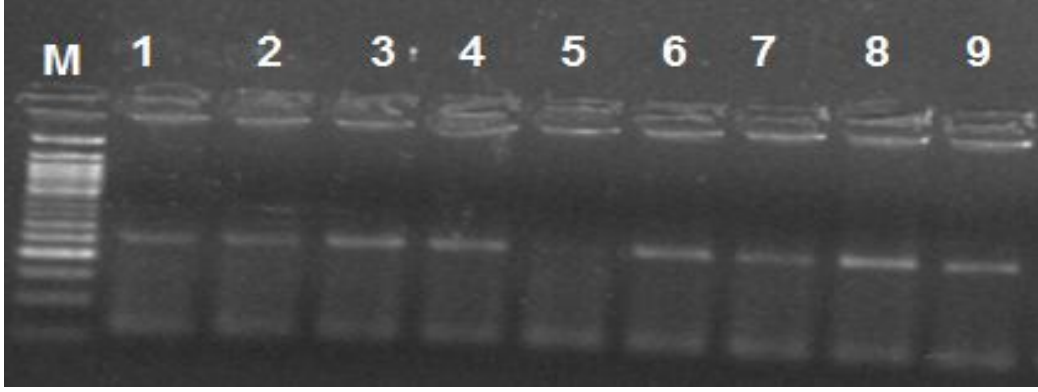
4.7.2. Uygulanan PCR Programı

Tablo 7. EL Polimorfizmi Amplifikasyon Koşulları

95 °C	2 dakika	
95 °C	30 saniye	35 döngü
59 °C	45 saniye	
72°C	45 saniye	
72°C	7 dakika	

4.7.2.1. Agaroz Jel Elektroforezi

Kontrol ve Hasta grubunda yer alan bireylerin -584C/T bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun olup olmadığının kontrolü % 2'lik agaroz jelde yapıldı. Öncelikle yatay elektroforez tabağına uygun taraklar yerleştirildi. Daha sonra agarozdan 4 g tartılarak beher içine konulduktan sonra üzerine son hacim 200 mL olacak şekilde 1X TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırında ısıtılarak çözündürüldü. Beherin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde çözünmüş agaroz jel içine bir miktar jel red dropper ilave edildi. Hazırlanan jel, jel yatağına dökülerek, çeker ocak içinde donmaya bırakıldı. Jel donduktan sonra örnekler jele yüklenirken; bir parça parafilm üzerinde 2 µL loading boya ve 8 µL PCR ürünü karıştırılıp jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PCR ürünlerinin doğru amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için her jele marker yüklendi. 120 volt 500 amperde 20 dakika yürütüldükten sonra jel görüntüleme sisteminde incelendi. Elde edilen görüntü Şekil-6'da verilmiştir.



Şekil 6. Kesim Öncesi 254 bç lik Ürünlerin Görüntüsü

4.7.2.2. EL Polimorfizminin Belirlenmesi için PCR Ürünlerinde

Restriksiyon Enzim Analizi

NdeI Kesim enzimi (10U/μL): NdeI enzimi (Fermentas) 10X Buffer Tango ile birlikte kullanılmıştır. NdeI enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri:

5'.... CA TATG ...3'

3'.... GTAT AC ...5'

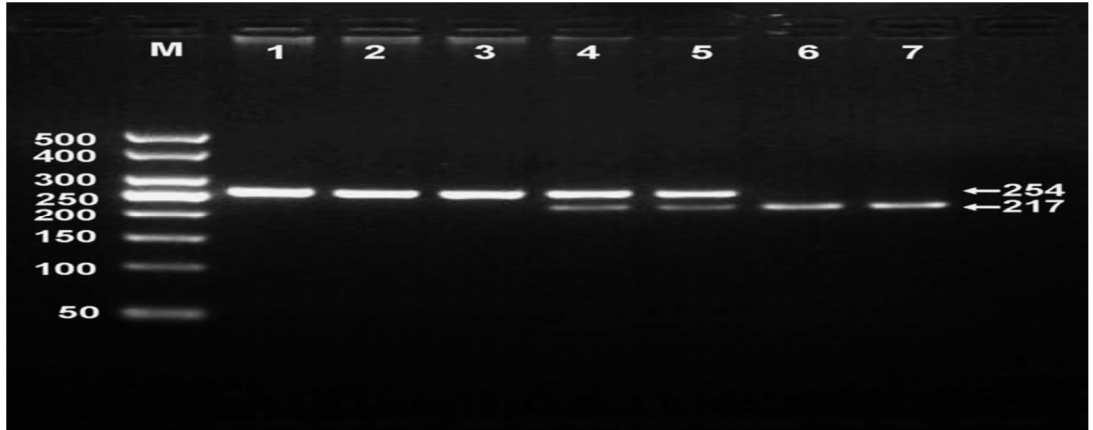
4.7.2.3. Restriksiyon Enzim Kesimi

PCR ürünü saptanmış örneklerden toplam hacmi 30 μL olacak şekilde restriksiyon enzim kesimi tabloda belirtilen çözeltilerin ve NdeI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, NdeI enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de gece boyu sürmüştür. NdeI enzimi için kesim protokolü aşağıdaki Tablo-8'de verilmiştir.

Tablo 8. Kesim Protokolü

Kimyasallar	Miktar
dH2O	17 μL
10X FastDigest Buffer	2 μL
PCR ürünü	10 μL
FastDigest Enzim	1 μL

Kesim yapılmış PCR ürünlerinde kesim olup olmadığının kontrolü % 3'lük agaroz jelde yapıldı. NdeI kesim enzimi ile kesilen PCR ürününden 10µl ve yükleme tamponundan 1µl alınarak karıştırıldı ve %3'lük agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı. Kesim ürünleri (Fermentas 50 bp marker) DNA moleküler marker ile birlikte yürütüldü ve yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, UV ışık altında incelendi. (Şekil-7).



Şekil 7. Kesim Ürünlerinden Bir Görüntü

Marker: 50bç' lık ilk bant

CC Genotipi 2. ve 3. Sıra (254 bç)

CT Genotipi 4. Ve 5. Sıra (254, 217, 37 bç)

TT Genotipi 6. Ve 7. Sıra (217, 34 bç)

4.8. ELISA Yönteminin Genel Prensipleri

ELISA saptanmak istenen antijen (Ag) veya antikorların (Ab) tayininde kullanılan duyarlı bir laboratuvar yöntemidir. ELISA iki 2 farklı yöntem ile ölçüm yapar:

1) Ortamdaki antijenleri tanıyabilen antikorların kullanımı ile antijenleri saptar.

2) Kullanılan antijenler sayesinde ortamdaki antikorları saptar. Antikorlar kullanılan test kitindeki kuyucukların duvarına yapışarak reaksiyona girerler. Antikor veya antijen varlığında bir renk değişimi meydana gelir, bu renk değişimi ışığın kırılma ve Emilimi kuralına dayanarak çalışan bir alet sayesinde bize yoğunlaşma ve Emilme olarak sonuçlar verir. ELISA yöntemi 5 basamakta yapılan bir işlemdir:

1) ELISA kabındaki kuyucuklar antijen ile kaplanır.

2) Yanlış pozitif sonucu önlemek için antijen ile kaplanmamış yerler kapatılır.

3) Kuyucuklara antikor eklenir.

4) Bir enzime bağlı olan fare veya tavşan karşıtı IgG kuyucuklara eklenir.

Bu ortamdaki ikinci antikordur.

5) Substratın enzimle reaksiyonu sonucu beklenen renk değişimi olursa bu bir pozitif reaksiyondur ve renk değişiminin ışığı Emilimine göre yoğunluk belirlenir.



Şekil 8. Eliza Çalışması

4.8.1. Plazmada Endotelyal Lipaz ve IL-10 Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma örneklerinde Endotelyal Lipaz seviyesi tayini ELISA yöntemi ile EASTBİOPHARM (HumanEL, CK-E108) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan standart solüsyonlar 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 ng/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Çalışma yöntemi aşağıdaki gibidir:

1. Örnek yükleme:

a) K r Kuyucuğu:  rnek, biotinli EL antikor ve Streptavidin-HRP eklenmeyip, sadece Kromojen A, kromojen B ve stop solüsyonu eklenmiştir.

b) Standart kuyucukları: 50  L standart ve 50  L Streptavidin-HRP eklenmiştir.

c) Test Kuyucukları: 40  L örnek sonra 10  L EL antikor ve daha sonra 50  L Streptavidin-HRP eklenmiştir. Sonra plate 37 C de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.

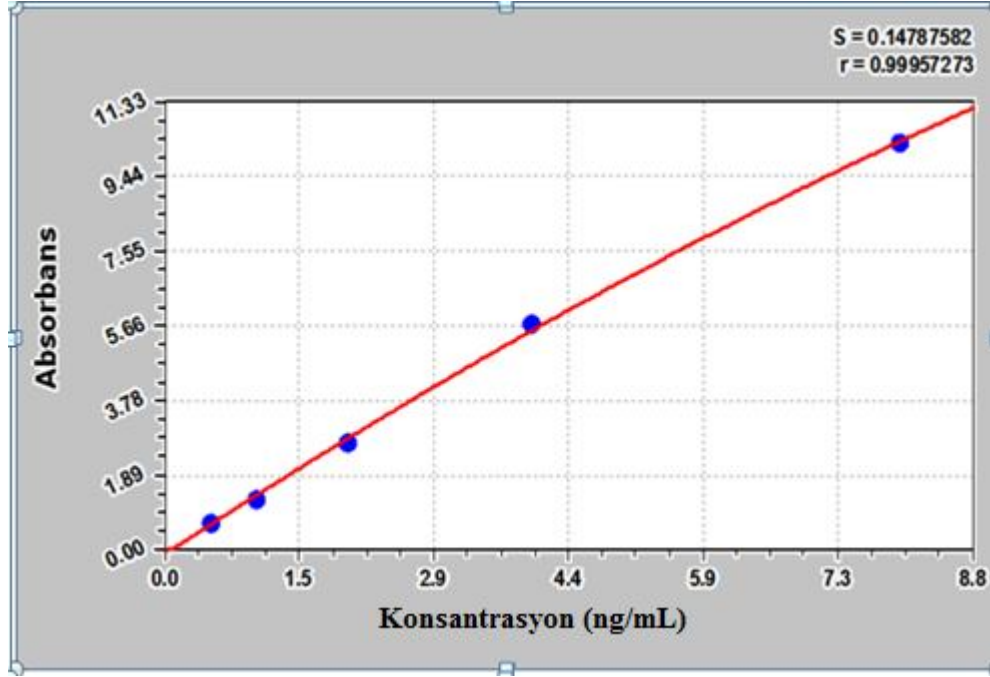
2. Inkübasyondan sonra plate yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkanmıştır.

3. Her kuyucuğa 50  L solution A ve 50  L solution B eklenip, hafifçe karıştırılıp 10 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır.

4. Her kuyucuğa 50  L stop solüsyonu eklenmiştir. (mavi renk hemen sarıya d n şm ştir.)

5. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okuma yapılmıştır.

Endotelyal Lipaz Standart Eğrisi şekil 9' da veril iştir.

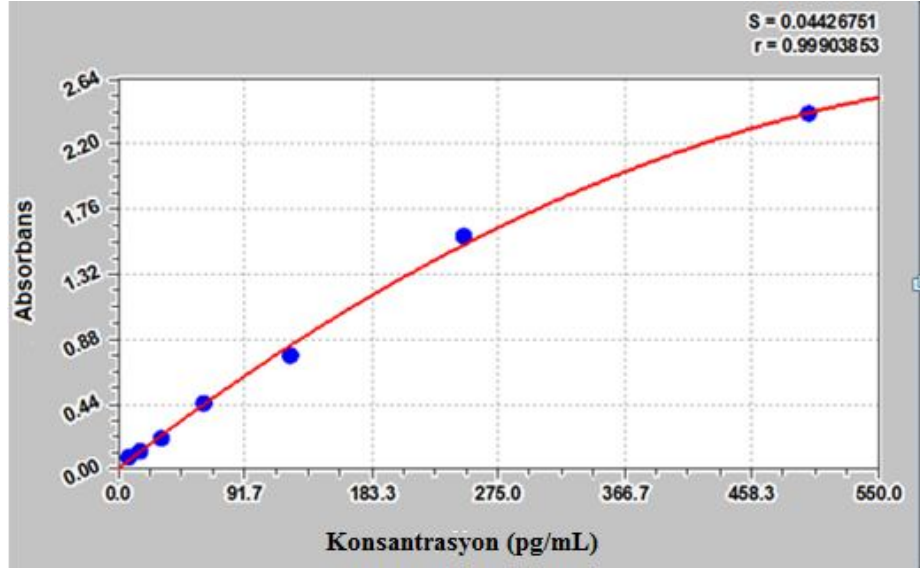


Şekil 9. Endotelyal Lipaz Standart Eğrisi

Plazma örneklerinde IL-10 seviyesi tayini ise BOSTER (Human IL10, EK0416) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan standart solüsyonlar 0.0, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500 pg/ mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

1. Kuyucuklara 100 μ L örnek yüklenmiştir.
2. Plate'nin üstü kapatılıp 37⁰ de 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
3. Aspirasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.
4. Her kuyucuğa 100 μ L biotinli anti-human IL-10 ilave edilip 37⁰C' de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.
5. Yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanmıştır.
6. Her kuyucuğa 100 μ L ABC çalışma solüsyonu eklenmiş ve 37⁰ C' de yarım saat inkübasyona bırakılmıştır.
7. Plate 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır.

8. Her kuyucuğa 90 µL TMB color developing agent eklenip 37⁰C' de yarım saat inkübasyona bırakılmıştır.
9. Her kuyucuğa 90 µL TMB stop solüsyonu eklenmiştir. (Renk hemen sarıya dönüşmüştür.)
10. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okuma yapılmıştır.(Şekil-10)

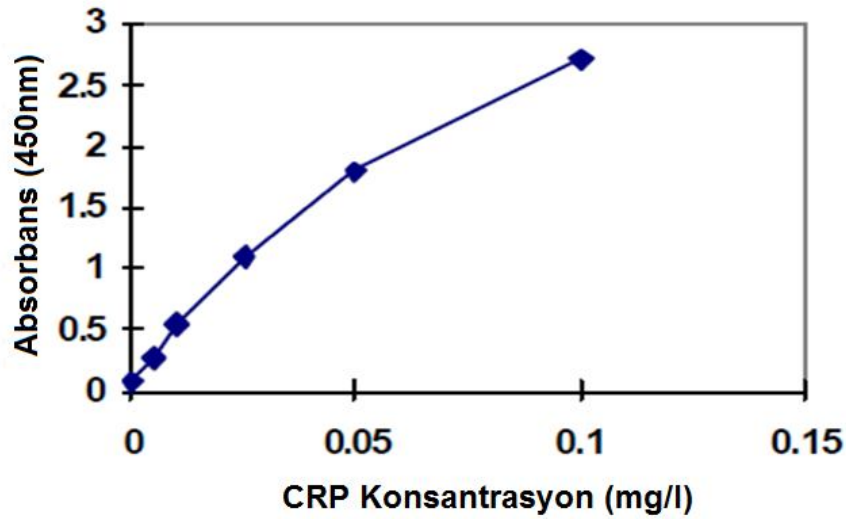


Şekil 10. IL-10 Standart Eğrisi

Plazma örneklerinde hsCRP seviyesi tayini ise DRG (EIA-3954) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

1. Hasta ve kontrol grubuna ait plazmalar kullanılmadan önce 1/100 oranında dilüe edilmiştir.
2. Standart kuyucuklarına 10'ar µL standartlardan, diğer kuyucuklara ise 10'ar µL örneklerden yüklenmiştir.
3. Her bir kuyucuğa 100 µL CRP konjugat reaktifi eklenmiştir.

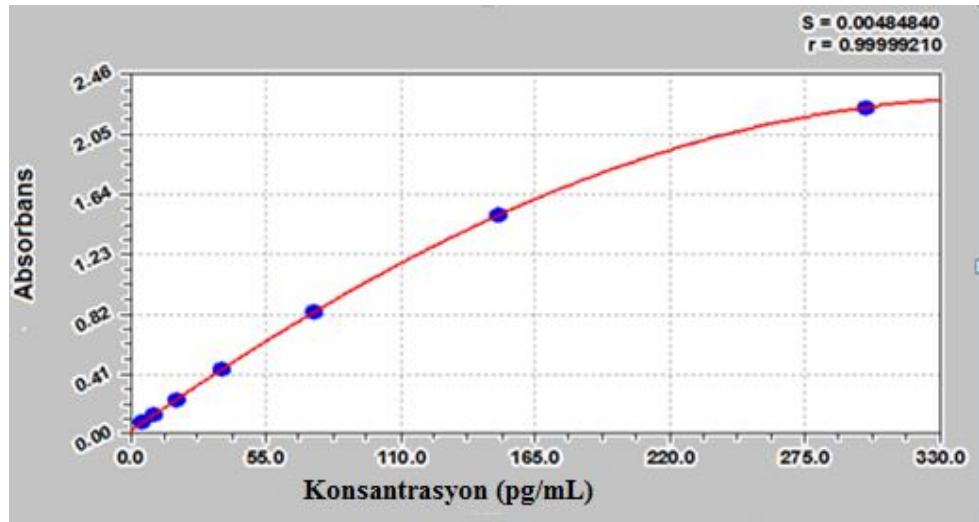
4. Plate 30 saniye boyunca yatay biçimde sallanarak reaktifin standartlarla ve örneklerle karışması sağlanmıştır.
5. Oda sıcaklığında 45 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
6. Aspirasyon işlemi yapıldıktan sonra, steril distile su ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.
7. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µL TMB solüsyonu eklenmiştir.
8. Oda sıcaklığında 20 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
9. Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 100 µL stop solüsyonundan eklenmiştir.
10. Plate 30 saniye boyunca yavaşça çalkalanmıştır. Bu arada mavi rengin hemen sarıya dönüştüğü gözlemlenmiştir.
11. Referans olarak 450 nm’ de okuma yapılmıştır.(Şekil-11)



Şekil 11. hsCRP Standart Eğrisi

Plazma örneklerinde IL-6 düzeyi Boster (Human IL6, EK0410) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan standart solüsyonlar 0.0, 4.69, 9.38, 18.75, 37.5, 75, 150, 300 pg/ mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

1. Kuyucuklara 100 μ L örnek yüklenmiştir.
2. Plate'nin üstü kapatılıp 37⁰ de 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
3. Aspirasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.
4. Her kuyucuğa 100 μ L biotinli anti-human IL-10 ilave edilip 37⁰C' de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.
5. Yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanmıştır.
6. Her kuyucuğa 100 μ L ABC çalışma solüsyonu eklenmiş ve 37⁰ C' de yarım saat inkübasyona bırakılmıştır.
7. Plate 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır.
8. Her kuyucuğa 90 μ L TMB color devoloping agent eklenip 37⁰C' de yarım saat inkübasyona bırakılmıştır.
9. Her kuyucuğa 90 μ L TMB stop solüsyonu eklenmiştir. (Renk hemen sarıya dönüşmüştür.)
10. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okuma yapılmıştır. (Şekil-12)



Şekil 12. Şekil: IL-6 Standart Eğrisi

4.9. İstatistiksel Değerlendirme

Bu tez çalışmasında istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesi Lisanslı (193.255.124.131) IBM SPSS 21.0 paket program kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Genotip ve allellerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarını değerlendirmede Ki kare ve Fischer testi kullanılmıştır. Genotip ve allellerin aktivite üzerindeki etkilerini belirlemede Student's t testi ve Annova testleri kullanılmıştır. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapılmıştır.

5. BULGULAR

Çalışma grubu; Fırat Üniversitesi Kardiyoloji Kliniğinde takip edilen, yaşları 18-80 yaş arasında değişen anjiyografik olarak koroner arter hastalığı tanısı konulmuş 88 hasta ile yine anjiyografi sonucu koroner arter hastalığı olmadığı tespit edilmiş 88 sağlıklı bireyden oluşmuştur. Kontrol grubu ve koroner arter hasta grubuna ait demografik bilgiler ve biyokimyasal parametreler Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Kontrol Grubu ve KAH Grubundaki Bireylerin Demografik Bilgileri ve Biyokimyasal Parametreler.

Demografik Özellikler	KONTROL (n:88)	KAH (n:88)	P
Cinsiyet (Kadın/ Erkek)	43 (%48,9)/45 (%51,1)	34 (%38,6)/54 (%61,4)	0,224
Yaş (Yıl)	50,215±11,412	62,670±11,818	0,000**
Sigara Var/Yok (%)	11 (%12,10)/77 (%87,8)	34 (%38,59)/54 (%61,41)	0,008*
Sistolik Basınç (mmHg)	119,848±15,435	126,842±23,841	0,032*
Diastolik Basınç (mmHg)	74,848±11,489	79,473±10,423	0,332
Hipertansiyon Var/Yok (%)	18 (%21)/60 (%79)	27 (%31)/61 (%69)	0,290
Total Kolesterol (mg/dL)	175,443±51,174	206,545±51,013	0,000**
HDL Kolesterol (mg/dL)	45,243±9,101	42,417±14,847	0,130
LDL Kolesterol (mg/dL)	114,837±44,160	132,442±40,649	0,007*
VLDL Kolesterol (mg/dL)	32,409±27,647	31,759±22,763	0,529
Trigliserid (mg/dL)	150,056±97,378	160,170±114,772	0,529

*p<0,05, **p<0,001

İstatistiksel analizler sonrasında kontrol ve koroner arter hasta grupları demografik özellikler açısından karşılaştırıldığında (Tablo 9); bireylerin cinsiyete bağlı olarak dağılımı kontrol grubunda %48,9 Kadın ve % 51,1 Erkek; KAH grubunda ise %38,6 Kadın ve % 61,4 Erkek olarak bulunmuştur.

Tez çalışmasında Kontrol grubunun yaş ortalaması 50,215±11,412; KAH grubunun yaş ortalaması 62,670±11,818 olup gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,001$).

Çalışma grubunda yer alan bireylerin cinsiyete bağımlı olarak sigara kullanım oranlarının belirlenmesin de Kardioloji kliniğinde tedavi gören hastaların anamnezleri kriter olarak belirlendi. KAH grubunda sigara içiminin daha yüksek ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur.

Kontrol ve KAH grubundaki bireylerin Sistolik Kan basınç değerlerinin KAH grubunda daha yüksek olduğu buna karşılık Diastolik Kan basıncı değerleri ve Hipertansiyonun gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği saptanmıştır (Tablo 9).

Serum Total Kolesterol düzeylerinin; KAH grubunda (206,545±51,013) kontrol grubuna göre (175,443±51,174); istatistiksel yönden anlamlı olarak arttığı saptanmıştır ($p<0,001$).

Aynı şekilde Serum LDL Kolesterol düzeyleri KAH grubunda kontrol grubuna göre (132,442±40,649 & 114,837±44,160 $p: 0,007$) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Serum HDL Kolesterol, VLDL Kolesterol ve Trigliserid düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.

Tablo10. Endotelyal Lipaz Geni C/T 584 Polimorfizmine Ait Genotip Frekansları

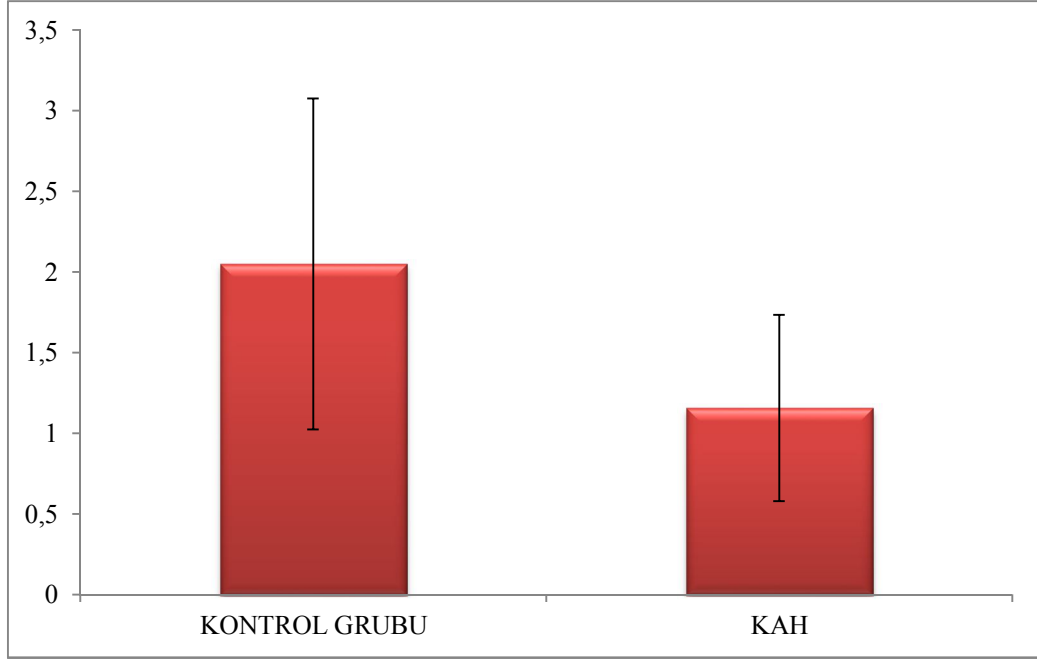
Endotelyal Lipaz	KONTROL n (%)	KAH n (%)
CT Genotipi	34 (%38.6)	52 (%59,1)
CC Genotipi	51 (%58.0)	34 (%38,6)
TT Genotipi	3 (%3,4)	2 (%2,3)
T Alleli	40 (%22.72)	56 (%31.81)
C Alleli	136 (%77.23)	120 (%68.19)

Çalışma grupları; EL-584C/T genotip dağılımları açısından karşılaştırıldığında, EL-584C/T polimorfizmine ait genotip frekansları, hasta grubunda, CT 52 (%59,1), CC 34 (%38,6), TT 2 (%2,3) iken, kontrol grubunda CT 34 (%38,6), CC 51 (%58,0), TT 3 (%3,4) olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. ($p=0,025$) (Tablo 10) ve aterosklerotik koroner arter hastalığı olan bireylerde CT genotipinin CC genotipine oranla daha fazla olduğu belirlenmiştir.

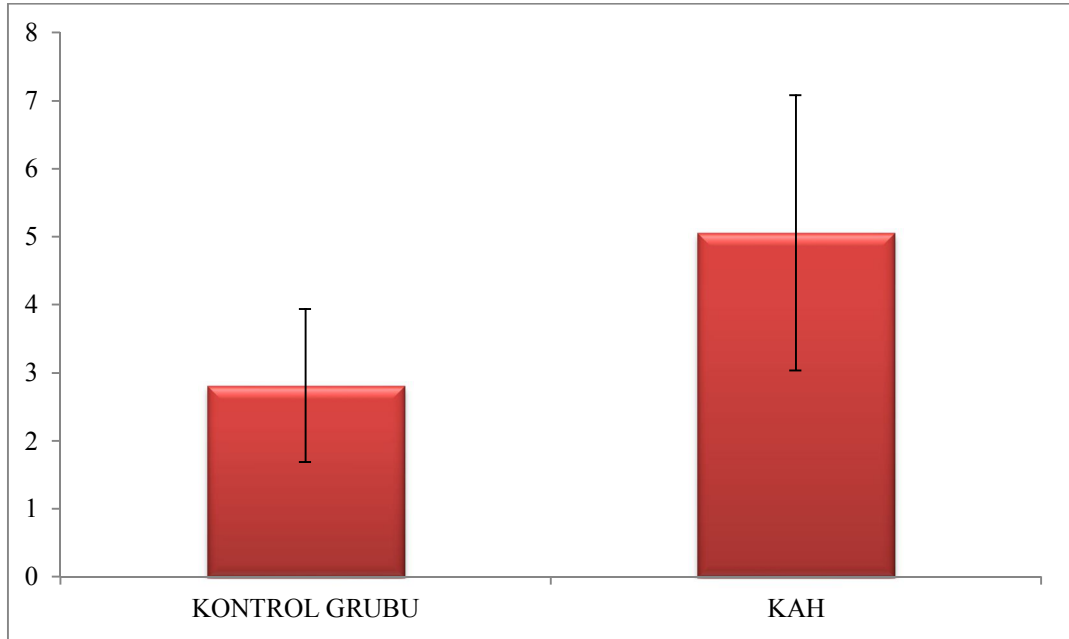
Kontrol grubu ve koroner arter hasta grubu endotelyal lipaz serum düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. IL-10 düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p>0.05$). IL-6 ve CRP düzeylerine bakıldığında ise p değerinin 0,000 olduğu saptanmış ve bu değer ileri derecede anlamlıdır. (Tablo-11).

Tablo 11. Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma Endotelyal Lipaz, hsCRP, IL-6, IL-10 Düzeyleri

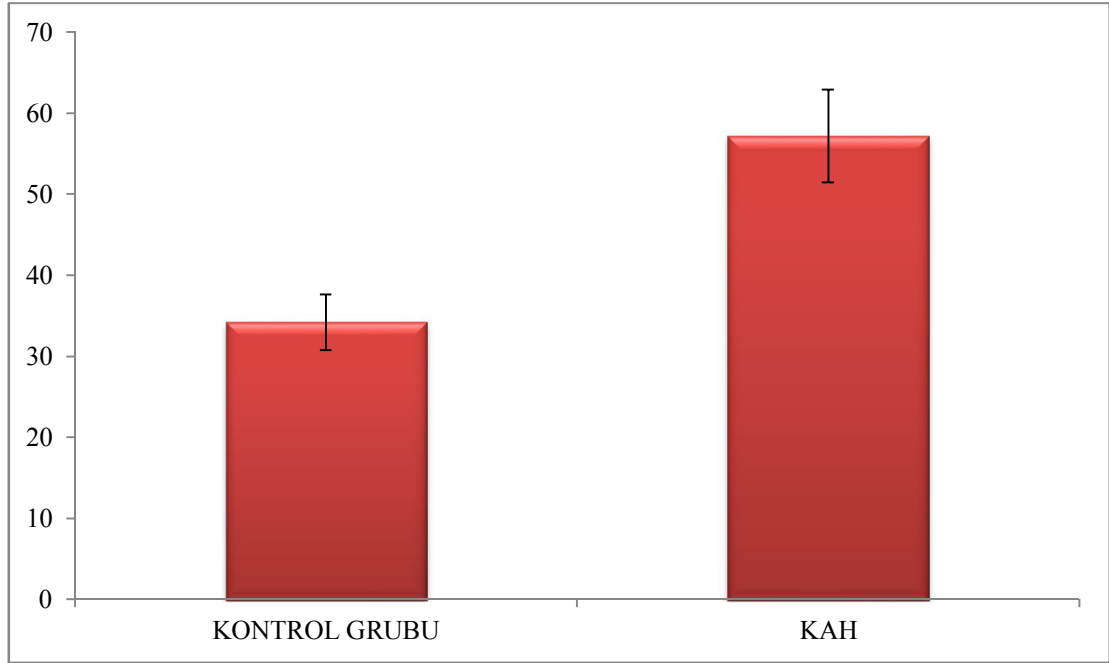
	KONTROL(n:88)	KAH(n:88)	P değeri
Endotelyal Lipaz (ng/mL)	2,05±1.209	1,156±1,104	0,137
hsCRP (mg/mL)	2,814±1,154	5,056±2,452	0,000
IL-6 (pg/mL)	34,185±4,633	57,164±7,550	0,000
IL-10 (pg/mL)	137,630±22,376	88,395±20,652	0,019



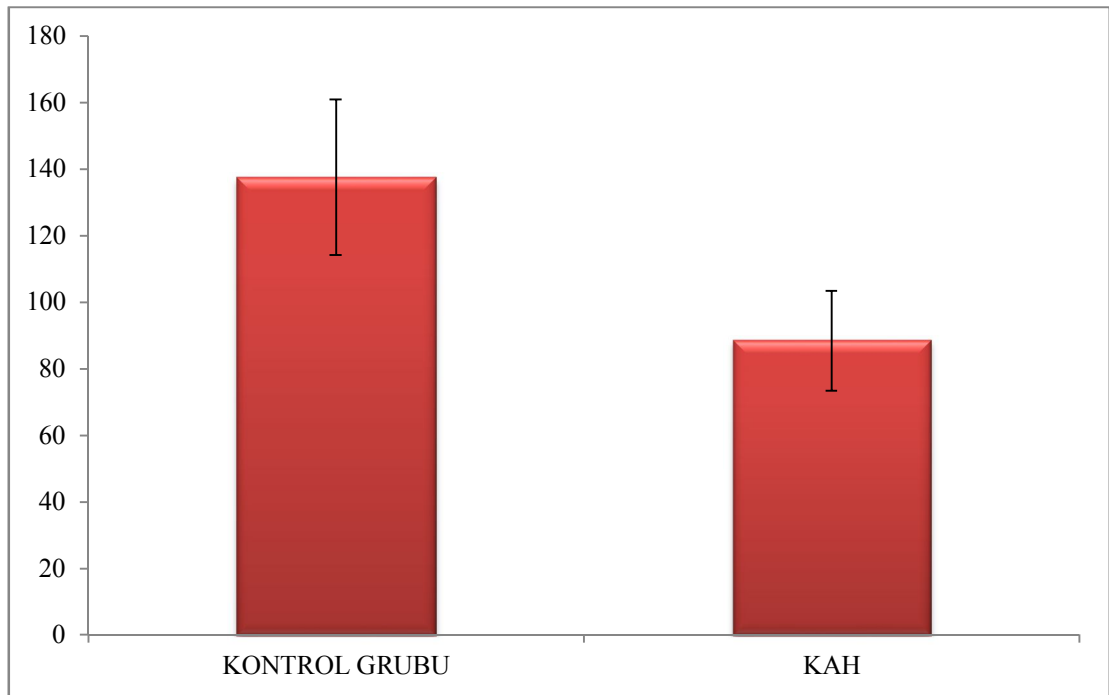
Şekil 13. Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma Endotelial Lipaz Düzeyleri



Şekil 14. Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma hsCRP Düzeyleri



Şekil 15. Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma IL-6 Düzeyleri



Şekil 16. Kontrol ve Koroner Arter Hasta Gruplarına Ait Plazma IL-10 Düzeyleri

Hasta ve kontrol gruplarında LDL, HDL ve kolesterolde dislipidemilerde sınır değerler olarak kabul edilen değerlerin (LDL için 130mg/dl, HDL için 35mg/dl, kolesterol için 200mg/dl, TG için 100 mg/dl) altında ve üstünde yer alan bireylerin sayı ve yüzdesi Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12. Çalışma Gruplarının Lipid Sınır Değerlerinin Dağılımı

LİPİD DEĞERLERİ	KONTROL (n:88)	KAH (n:88)	p
TC<200	62 (%70,5)	47 (%53,4)	0,00**
TC>200	26 (%29,5)	41 (%46,6)	
HDL-C<35	4 (%4,5)	26 (%29,5)	0,130
HDL-C>35	84 (%95,5)	62 (%70,5)	
LDL-C<130	58 (%6,9)	46 (%52,3)	0,007*
LDL-C>130	30 (%34,1)	42 (%47,7)	
TG<100	24 (%27,3)	26 (%29,5)	0,529
TG>100	64 (%72,7)	62 (%70,5)	

*p<0,05, ** p<0,001

Hasta ve kontrol grupları kendi içinde LDL ve total kolesterol sınır değerlerinin dağılımına göre incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmiştir.(p=0,007,p=0.00) KAH grubunda TC>200 ve LDL>130 değerlerine sahip kişi sayısı, kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Triglicerid ve HDL değerleri kıyaslandığında ise her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değer bulunamamıştır. (p>0.05).

Kontrol grubunda endotelyal lipaz gen polimorfizmine ait bulgular; karakteristik özellikler ve lipid parametrelerine karşı kıyaslandığında ise istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamıştır. (p>0.05) (Tablo-13)

Tablo 13. Kontrol Grubunda Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizmi Varyantlarının Karakteristik Özellikleri ve Lipid Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

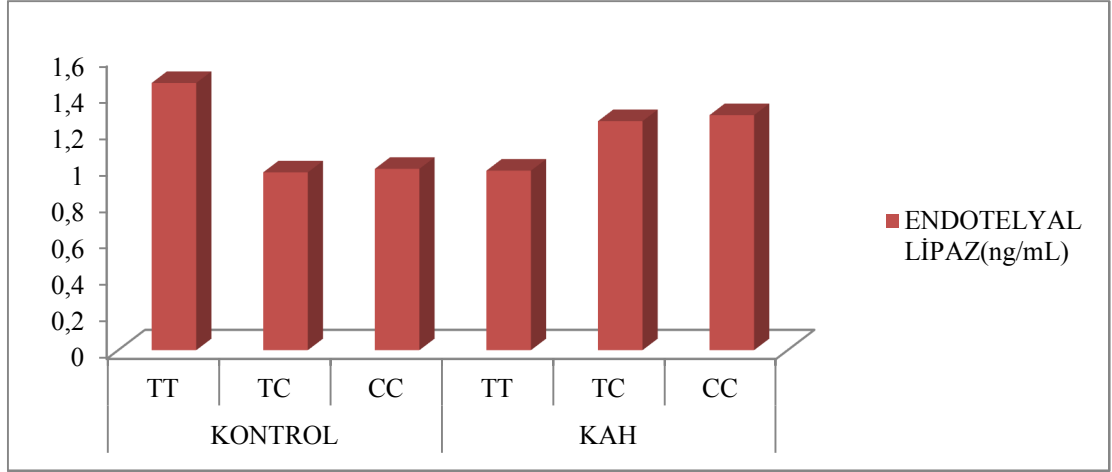
KONTROL GRUBU				
	CT (n:34)	CC (n:51)	TT (n:3)	p Değeri
Sistolik Basınç (mmHg)	117.142±14.373	122.058±15.718	120.000±28.284	0.691
Diyastolik Basınç (mmHg)	72.857±12.666	77.058±12.666	70.000±14.142	0.510
Total Kolesterol (mg/dL)	170.647±51.991	177.196±49.290	200.000±84.870	0.597
HDL-kolesterol (mg/dL)	46.423±9.235	44.313±8.028	47.666±23.028	0.523
LDL Kolesterol (mg/dL)	112.373±44.894	115.372±43.016	133.666±68.396	0.724
Trigliserid (mg/dL)	166.323±130.470	139.921±68.642	138.000±80.554	0.466

Hasta grubunda endotelyal lipaz gen polimorfizmine ait bulgular; karakteristik özellikler ve lipid parametrelerine karşı kıyaslandığında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamıştır. ($p>0.05$) (Tablo-14)

Tablo 14. KAH Grubunda Endotelyal Lipaz Gen polimorfizmi Varyantlarının Karakteristik Özellikler ve Lipid Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

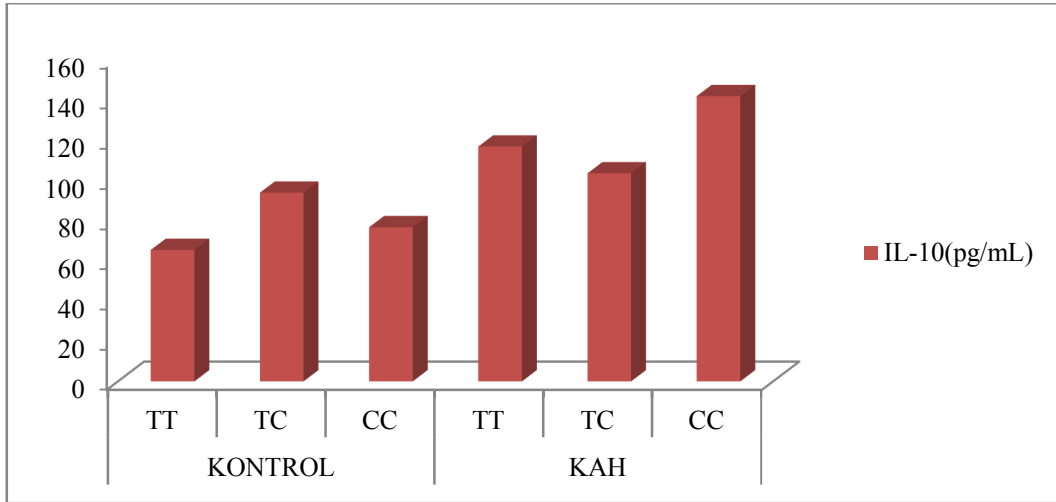
	CT (n:52)	CC (n:34)	TT (n:2)	p Değeri
Sistolik Basınç (mmHg)	128.181±21.571	122.727±26.935	150.000±14.142	0.271
Diyastolik Basınç (mmHg)	79.697±9.18	78.636±12.457	85.000±7.071	0.705
Total Kolesterol (mg/dL)	205.653±45.688	206.823±60.008	225.666±19.798	0.873
HDL Kolesterol (mg/dL)	41.957±13.440	43.941±16.802	28.450±12.940	0.340
LDL Kolesterol (mg/dL)	132.228±38.649	131.647±44.911	151.500±16.263	0.801
Trigliserid (mg/dL)	154.288±87.282	167.411±150.904	190.000±25.455	0.819

Kontrol ve KAH grubunun plazma Endotelyal Lipaz düzeylerinin ile 584 C/T polimorfizmi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlam bulunamamıştır. (Şekil 17)



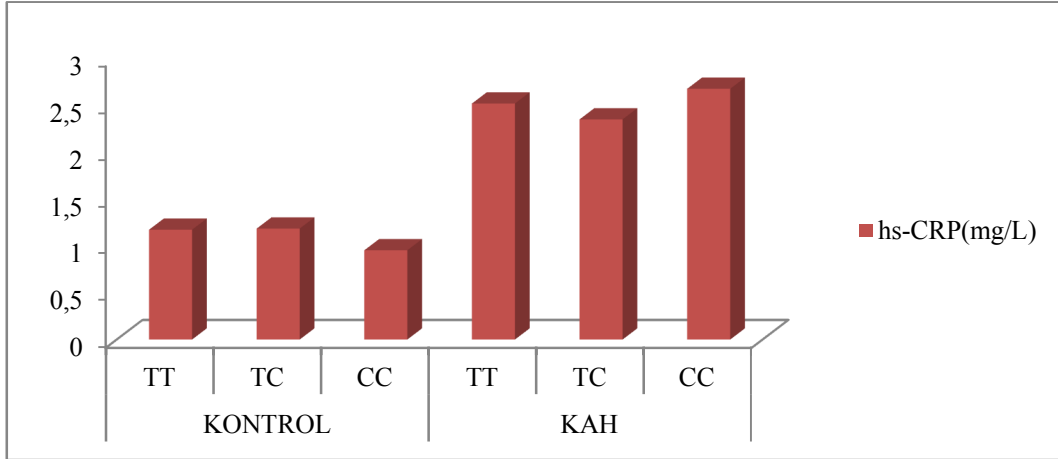
Şekil 17. Kontrol ve KAH grubunda Plazma Endotelyal Lipaz Düzeylerinin 584 C/T Gen Polimorfizm Varyantlarına Göre Dağılımı.

Kontrol ve KAH grubunun plazma IL-10 düzeylerinin ile 584 C/T polimorfizmi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. (Şekil 18)



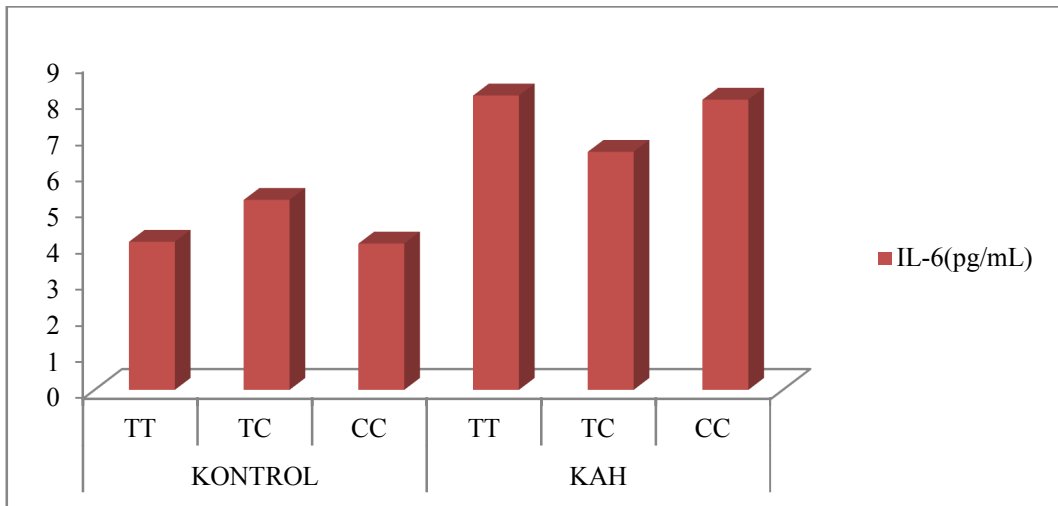
Şekil 18. Kontrol ve KAH grubunda plazma IL-10 düzeylerinin 584 C/T gen Polimorfizm varyantlarına göre dağılımı.

Kontrol ve KAH grubunun plazma hsCRP düzeylerinin ile 584 C/T polimorfizmi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir değişim bulunamamıştır. ($p>0.005$)(Şekil-19)



Şekil 19. Kontrol ve KAH grubunda Plazma hsCRP düzeylerinin 584 C/T Gen Polimorfizm Varyantlarına Göre Dağılımı.

Kontrol ve KAH grubunun plazma IL-6 düzeylerinin ile 584 C/T polimorfizmi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir değişim bulunamamıştır. ($p>0.005$)(Şekil-20)



Şekil 20. Kontrol ve KAH grubunda Plazma IL-6 Düzeylerinin 584 C/T Gen Polimorfizm Varyantlarına Göre Dağılımı.

Kontrol grubunda endotelyal lipaz gen polimorfizminin risk faktörleri (cinsiyet, sigara, hipertansiyon, total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid) üzerindeki etkilerini incelediğimizde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$) (Tablo 15).

Tablo 15. Kontrol Grubunda Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizminin Risk Faktörleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi

KONTROL GRUBU					
RİSK FAKTÖRLERİ		CT (n:34)	CC (n:51)	TT (n:3)	p Değeri
Cinsiyet	Kadın	19 (%44.2)	22 (%51.2)	2 (%4.7)	0.423
	Erkek	15 (%33.3)	29 (%64.4)	1 (%2.2)	
Sigara	(+)	13 (%44.8)	15 (%51.7)	1 (%3.4)	0.698
	(-)	21 (%35.6)	36 (%61.0)	2 (%3.4)	
Hipertansiyon	(+)	6 (%33.3)	12 (%66.7)	0 (%0.0)	0.540
	(-)	28 (%40.0)	39 (%55.7)	3 (%4.3)	
TC>200	(+)	10 (%38.5)	15 (%57.7)	1 (%3.8)	0.989
	(-)	24 (%38.7)	36 (%58.1)	2 (%3.2)	
HDL-C<35	(+)	2 (%50)	1 (%25)	1 (%25)	0.036
	(-)	32 (%38.1)	50 (%59.5)	2 (%2.4)	
LDL-C>130	(+)	11 (%36.7)	18 (%60.0)	1 (%3.3)	0.961
	(-)	23 (%39.7)	33 (%56.9)	2 (%3.4)	
TG>100	(+)	25 (%39.1)	37 (%57.8)	2 (%3.1)	0.967
	(-)	9 (%37.5)	14 (%58.3)	1 (%4.2)	

Koroner arter hasta grubunda endotelyal lipaz gen polimorfizmi ve risk faktörleri (cinsiyet, sigara, hipertansiyon, total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid) üzerindeki etkileri incelendiğinde; istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$) (Tablo 16)

Tablo 16. Koroner Arter Hasta Grubunda Endotelyal Lipaz Gen polimorfizmi Varyantlarının Karakteristik Özellikler ve Parametreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

RİSK FAKTÖRLERİ		CT (n:52)	CC (n:34)	TT (n:2)	p Değeri
Cinsiyet	Kadın	31 (%57.4)	21 (%38.9)	2 (%3.7)	0.515
	Erkek	21 (%61.8)	13 (%38.2)	0 (%0.0)	
Sigara	(+)	23 (%69.7)	10 (%30.3)	0 (%0.0)	0.207
	(-)	29 (%52.7)	24 (%43.6)	2 (%3.6)	
Hipertansiyon	(+)	18 (%64.3)	10 (%35.7)	0 (%0.0)	0.546
	(-)	34 (%56.7)	24 (%40.0)	2 (%3.3)	
TC>200	(+)	24 (%58.5)	15 (%36.6)	2 (%4.9)	0.304
	(-)	28 (%59.6)	19 (%40.4)	0 (%0.0)	
HDL-<35	(+)	16 (%61.5)	9 (%34.6)	1 (%3.8)	0.743
	(-)	36 (%58.1)	25 (%40.3)	1 (%1.6)	
LDL-C>130	(+)	25 (%59.5)	15 (%35.7)	2 (%4.8)	0.306
	(-)	27 (%58.7)	19 (%41.3)	0 (%0.0)	
TG>100	(+)	38 (%61.3)	22 (%35.5)	2 (%3.2)	0.461
	(-)	14 (%53.8)	12 (%46.2)	0 (%0.0)	

6. TARTIŞMA

Kalp ve damar hastalıkları, günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde başta gelen mortalite ve morbidite nedenlerindendir ve koroner kalp hastalığı (KKH), çok etkenli hastalıklardandır. Koroner arter hastalığının ortaya çıkmasından hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı, diabetes mellitus, obezite ve yaş gibi farklı risk faktörleri sorumlu tutulmaktadır (84). 2000 yılında Akgün ve arkadaşlarının yaptıkları “Ulusal Hastalık Yüğü” çalışmasında ölüme neden olan ilk on hastalığın yüzde dağılımına bakıldığında, bunun % 23’ünü, ulusal düzeyde sakatlığa ayarlanmış yaşam yılına neden olan ilk on hastalığın yüzde dağılımına bakıldığında ise bunun % 8’ini iskemik kalp hastalıklarının oluşturduğu görülmektedir (85).

Türkiye'nin kalp sağlığı haritasını çıkartan, Astra Zeneca'nın da katkıda bulunduğu Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasının 2013 özetinde Türk toplumunda 3,5 milyon kalp hastası olduğunun tahmin edildiği ve bu sayıya her yıl 120 bin yeni hasta eklendiği belirtilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'deki yetişkinlerde kalp krizi nedeniyle ölümlerin, Avrupa'nın en yüksek oranlarını oluşturduğu, ülkede her 100 bin kişiden erkeklerde 760, kadınlarda ise 380 kişinin kalp krizi nedeniyle hayatını kaybettiği saptanmıştır. Bu oranlar İngiltere, Almanya gibi batılı toplumlarda görülen kalp krizi kaynaklı ölümlerin yaklaşık 3 ila 4 katına denk geldiği belirtilmiştir.

Trigliserid, LDL, HDL ve Kolesterolde dislipidemilerde sınır değerler LDL için; 130mg/dL, HDL için; 5mg/dL, kolesterol için; 200mg/dL ve TG için 100 mg/dL olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdaki kontrol grubu ve hasta gruplarında LDL düzeyleri karşılaştırıldığında; hasta grubunda LDL düzeyleri

daha yüksek belirlenmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p<0.005$).

Çalışmamızda; yaş, sigara içimi, Total Kolesterol ve LDL Kolesterol düzeylerinin koroner arter hasta grubunda anlamlı bir artış gösterdiği saptanmıştır. Bu parametrelerin düzeylerindeki artışlar koroner arter hastalığına yakalanma riskini artırmaktadır.

Endotelyal lipaz; trigliserid lipaz gen ailesinin yeni bir üyesidir ve LIPG geni tarafından kodlanır (86). EL; endotel hücreler tarafından üretilir ve aynı zamanda karaciğer, akciğer, makroaj, testis, yumurtalık tarafından da üretilir (87). EL üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin Hirata ve arkadaşları EL'nin anjiyogenezde önemli bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir (88). Öte yandan Jaye ve arkadaşları EL'nin overekspresyonu sonucunda, farelerde HDL kolesterol düzeyini azalttığını göstermişlerdir (89).

IL-10 aterosklerotik plaklarda erken ve ileri evrelerde eksprese edilmekte ve plak progresyonu, rüptür ve tromboz ile ilişkili pek çok sellüler olayı inhibe etmektedir (90). Aynı zamanda erken ve ileri evre aterosklerotik plakta IL-10 ekspresyonunun arttığı da çalışmalarda gösterilmiştir (91). IL-10'un hem ateroskleroz hem de akut komplikasyonlarında koruyucu yeri olduğu düşünülmesi nedeni ile miyokard infarktüsü ile ilgili yapılan çalışmalarda yer almaya başlamıştır. Yapılan çalışmalarda, IL-10 transgenik farelerde uygulanan aterojenik diete karşı aterosklerotik plak gelişiminde IL-10'un koruyucu etkisi gösterilmiştir (92). Bunlara örnek olarak Mallat ve arkadaşlarının (93) yaptıkları çalışmada IL-10 eksikliği olan farelerde aterojenik dietle beslenme ardından vahşi tip farelere göre aterosklerotik lezyonlarda üç kat artış olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda da IL-10 düzeyi, KAH grubuna göre kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ($p<0.05$)

CRP düzeyi ile koroner arterlerdeki lezyonun ağırlığı arasında da zayıf bir ilişki vardır (94). Bu nedenlerle, koroner arter hastalığında serumda hafif artmış olan CRP düzeyinin arteriyosklerozdan kaynaklanmadığı ileri sürülmektedir. Ancak yıllarca CRP düzeyi çok yüksek seyreden inflamatuvar romatizmal hastalıklarda, koroner arter hastalığının çok fazla artmadığı da bir gerçektir (95). CRP, LDL kolesterolden koroner arter hastalığı riskini daha iyi göstermektedir (96). Ridker ve arkadaşları tarafından yaklaşık 28.000 kadın üzerinde ortalama sekiz yıllık takip ile gerçekleştirilen bir araştırmada, CRP düzeyi, koroner arter hastalığı riskini tahmin için LDL düzeyinden daha önemli olarak bulunmuştur (97). Bu araştırmaya göre, normal LDL, yüksek CRP seviyesi olan kadınlarda, yüksek LDL, normal CRP seviyesi bulunan kadınlara oranla, koroner arter hastalığı daha fazla görülmektedir. Bizim çalışmamızda da KAH grubundaki CRP düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş olup bu sonuç istatistiksel açıdan anlamlı olarak tanımlanmıştır. ($p<0.05$).

IL-6 metabolik, endotelial ve koagülan mekanizmalar aracılığı ile koroner kalb hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar. IL-6; bazal glukoz alımını artırır, insülin duyarlılığını geliştirir ve endotelyumdan adhezyon moleküllerinin salınmasına neden olur. IL-6 ayrıca fibrinojenin hepatik salınımını artırır plateletler üzerinde prokoagülan etkiye sahiptir (98). Yapılan bir çalışmanın sonucunda, 17 aylık izlemde koroner mortalite riskinin CRP ve IL-6 düzeyi yüksek olanlarda altı kat, fibrinojen ve TNF- α düzeyi yüksek olanlarda 3,5 kat fazla olduğu saptanmıştır (99).

LIPG geninin 6 yeni potansiyel olarak fonksiyonel varyantı bulunmuştur; ancak hiçbirisi ile plazma HDL-kolesterol seviyelerindeki artış arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bu çalışmada tanımlanan 17 genetik varyant arasında en yaygın olanı 3. ekzonda 584. pozisyonda görülen -584 C/T polimorfizmi olup, polipeptidin 111. pozisyonundaki treonin aminoasidinin izolösine değişmesinden sorumludur (100-101). Daha önceki yıllarda yapılan farklı çalışmalarda -584 C/T polimorfizminin yaygın olduğu sonucu ortaya çıkmakla beraber, insan serum/plazma HDL-kolesterol düzeyleri üzerindeki etkisi hakkında farklı ve çelişkili sonuçlar ortaya konulmuştur.

Weijun ve arkadaşları EL' nin inhibisyonu sonucunda HDL-C düzeyinin arttığı ve EL' nin HDL metabolizmasını düzenlenmesinde önemli bir rolünün olduğu sonucuna varmışlardır (102). Başka bir çalışmada farelerde EL'nin overekspresyonunda HDL-C düzeyi azalırken, inhibasyonunda HDL-C düzeyinde artış gözlenmiştir (103).

Badellino ve arkadaşları plazma EL düzeylerini ölçmek için ELISA yöntemini kullanmışlardır ve EL düzeyleri ve HDL-C düzeyleri arasında istatistiksel olarak son derece negatif bir ilişki olduğunu ifade etmişlerdir (104). Fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise EL'nin lipid metabolizmasında, özellikle de HDL-C metabolizmasında LPL ve HL gibi rol oynayabileceği görüşü öne sürülmüştür (105).

Schimizu ve arkadaşları 584C/T gen polimorfizminin AMI ile ilişkili olduğunu ancak bu ilişkinin HDL-C düzeyinden bağımsız olduğunu rapor etmiştir (106). Yamakawa-Kobayashi ve arkadaşları da 584 C/T polimorfizminin sağlıklı okul çağındaki Japon çocuklarda HDL-C düzeyleri ile ilişkili olmadığını

göstermiştir (107). Dalan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da 584 C/T ile HDL-C düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadığı gösterilmiştir (108). Çalışmamızda da LIPG 584C>T polimorfizmi ve HDL-C düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Çalışma grupları EL-584 C/T genotip dağılımları açısından karşılaştırıldığında, EL-584 C/T polimorfizmine ait genotip frekansları, hasta grubunda CT 52 (%59,1), CC 34 (%38,6), TT 2 (%2,3) iken, kontrol grubunda CT 34 (%38,6), CC 51 (%58,0), TT 3 (%3,4) olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının genotip frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. ($p= 0,025$). Hasta gruplarında TC genotipi, CC genotipine göre istatistiksel olarak yüksek oranda gözlemlenmiştir. 584C/T polimorfizmi ve HDL-C düzeyleri arasındaki ilişkinin farklı çalışmalarda değişiklik göstermesinde; çalışma gruplarının farklı ırklar ve etnik gruplar arasından seçilmesi ileri sürülebilir (109). De Lemos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; beyaz insanlardaki T allel oranı (%31. 2) siyahlara göre (%10,3) önemli derecede fazladır. Buna ek olarak T allel sıklığı Kafkaslar' da $> \%29$, Kanadalılar' da $\sim \%28$, Amerikan popülasyonunda $\sim \%29.8$, ve Japon'larda $< \%26$ olduğu ortaya konulmuştur (110).

Çalışmamızda, hasta gruplarında TC genotipinin, CC genotipine göre istatistiksel olarak yüksek oranda gözlenmesi mutant T allelini taşıyan kişilerde koroner arter aterosklerotik hastalık gelişme riskini arttırabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak; bu çalışma Elazığ yöresinde yapılan bir ön çalışma olup sağlıklı kişiler ile koroner arter hastalığı olan kişilerde Endotelyal Lipaz 584C/T polimorfizm sıklığını araştırmak ve allel ve genotiplerinin dağılımını incelemek amacı ile yapılmıştır. Çalışmamızın sonuçları açısından bilime katkısının olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, hasta gruplarında TC genotipinin, CC genotipine göre istatistiksel olarak yüksek oranda gözlemlenmiştir. Elde edilen bu veri mutant T allelini taşıyan kişilerde koroner arter aterosklerotik hastalık gelişme riskini arttırabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgulardan da görüleceği gibi endotelyal Lipaz -584 C/T gen polimorfizminin koroner arter hastalıkları açısından önemli bir parametre olduğu hastalığın genetik temelini araştırılması ve prognozunun takibi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla daha büyük bir popülasyon da KAH patogenezi ile ilişkili diğer parametreler ve alt gruplarında incelenerek bu çalışmanın desteklenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca; koroner arter hastalıklarında moleküler genetik çalışmaların amacı; patofizyolojinin aydınlatılması, ana metabolik yolların ve yeni moleküler ve hız sınırlayıcı basamakların tanımlanması, erken koroner arter hastalığı için riskli olguların belirlenmesi, görüntüleme yöntemleri, kateterizasyon, koroner bypass cerrahi ve medikal tedaviler gibi pahalı tanı ve tedavi giderlerinin azaltılması olduğu için yaptığımız çalışmanın bilime katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Marian AJ. Genetic markers; genes involved in atherosclerosis. J. Cardiovascular Risk 1997; 4: 333-339
2. Beaglehole R, Ebrahim S, Reddy S, Voüte J, Leeder S. Prevention of chronic diseases: a call to action. Lancet 2007; 370: 2152-57.
3. Onat A. Türk halkında koroner kalp hastalığı sıklığının nedenleri ve bu bilginin risk değerlendirmesi ile korunma açılarından büyük önemi. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, 2005; 29: 602-609.
4. Mank-Seymour AR, Durham KI, Thompson Jf, Seymour AB, Milos Pm. Association between single nucleotide polymorphisms in the endothelial lipase (LIPG) gene and high density lipoprotein cholesterol levels. Biochim Biophys Acta 2004; 1636: 40-46
5. Mallat Z, Besnard S, Durlez M. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. Circulation 1999; 100: 43.
6. Lee TS, Yen HC, Pan CC, Chau LY. The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology 1999; 19: 734-42.
7. Shimizu M, Kanazawa K, Hirata K, Ishida T, Hiroka E, et al. Endothelial lipase gene polymorphism is associated with acute myocardial infarction independently of high density lipoprotein cholesterol levels. Circ J 2007; 71; 842-846
8. Gaziano JM. General Considerations of Cardiovascular Disease. Global Burden of Cardiovascular Disease. Health Affairs, 26: 13-24
9. Bilir, N. Halk Sağlığı Yönünden Koroner Kalp Hastalığı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Yayını. Ankara.
10. Sidney C. Smith Jr, Greenland P, Grundy SM. Prevention Conference V. Beyond Secondary prevention: Identifying the high-risk patient for primary
11. Onat A, Sansoy V, Soydan İ, Tökgözoğlu L, Adalet K. Yüzyıl Dönümünde Türk Erişkinlerinde Koroner Risk Haritası ve Koroner Kalp Hastalığı. İstanbul. Argos İletişim; 2001: 51-60
12. Rıdker PM, Genesst J, Libby P. Risk factor for atherosclerotic disease. Heart Disease a Textbook of Cardiovascular Medicine. 6th edition, Ed: Braunvald E.WB Saunders Comp, 2001; 31: 1010-1040
13. Bilir N. .Halk Sağlığı Yönünden Koroner Kalp Hastalığı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Yayını. Ankara 1988
14. Turgay M. Koroner Artet Hastalıkları. Aşama Matbaacılık. Ankara. 1988
15. Aslan B, Karcıoğlu O, Aslan O, Ayrık C, Kulaç E, Güneri S. Acil servise akut myokard infarktüsü ile ilk kez başvuran kadın ve erkeklerde 28 günlük sağ kalım. Anadolu Kardiyoloji Dergisi, 2002; 2: 90.

16. Dörtlemmez Ö. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri. Sürekli Tıp Eğitim Dergisi 2002; 5; 149-150.
17. Lewis S, Collier J, Heitkemper M. Medical Surgical Nursing (Assesment and Management of Clinical Problems) 4.Edition, Mosby Year Book, St. Louis 1996; 862-895.
18. The expert panel. Summary of the second repot of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment panel II) JAMA 1993; 269: 3015-3023
19. Anders Hamsten. Risk Factotors for Coronary Arter Disease in Families of Young Men with Myocardial Infarction. Am J Cardiaol 1987; 59.14-19.
20. U.S. Department oh Health and Humman Services. The Health Benefits of Smoking cessation. A Report of the Surgeon General. U.S. Department of Health and humman Services Public Health Service centers for disease Prevention and Helath Promotion Office on Smoking and Health. Rockville Maryland 1990: 20857.
21. Kingsley CM, Satendra C, Gupta MN. Hastaya Sağlıklı Bir Yaşam Stilinin Öğretilmesi; Koroner Arter Hastalığı Riski Nasıl Azaltılabilir? Sendrom Dergisi 1992; 4;9;24-31.
22. Swales J, DeBono D. Cardiovascular Risk Factors. Gower Medical Publishing, London, New York.
23. Onat A. Türk halkında koroner kalp hastalığı sıklığının nedenleri ve bu bilginin risk değerlendirmesi ile korunma açılarından büyük önemi. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, 29 (10): 602-609.
24. Griffin BP, Topol EJ. Manual of Cardiovascular Medicine. Lippincott Williams & Wilkins, 2th Edition, USA 2004; 525: 540:545:550-555
25. Rıdker PM, Genesst J, Libby P. Risk factor for atherosclerotic disease. In: Heart Disease a Textbook of Cardiovascular Medicine. 6th edition, Ed: Braunvald E.WB Saunders Comp, 2001; 31: 1010-1040
26. Hekimler Yayın Birliği: Hipertansiyon bülteni, 1992; 2: 2.
27. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02-5215 September 2002
28. Underhill SL, Stephen SA. Coronary heart disease risk factors. (ed.) : SL Underhill, S. L. Woods, ESS. Froelicher, CJ Halpenny: Cardiac Nursing. JB. Lippincott Company, 2nd Ed. Philadelphia, 1989: 194
29. Thompson GR. Hiperlipidemi El Kitabı, Çeviri Ed. Tamuğur E, Merc & CO, Inc, Uycan Yayıncılık, İstanbul, 1991.
30. Assmann G, Carmena R, Cullan P, Fruchart JC, Jossa F, Lewis B, Mancini M,Paoletti R. Coronary heart disease: Ruducing the risk. American Heart Association, 1999; 100:1930-1938.

31. Tokgözoğlu L. Türk erişkinlerinde lipid, lipoprotein ve apolipoproteinler. TEKHARF, Türk erişkinlerinde kalp sağlığı, risk profili ve kalp hastalığı (Ed.Onat A.) Orhan matbacılık Ltd Şti. İstanbul, 2000: 35-45.
32. Komsuoglu B. Hipertriglisemilerin Riski ve Tedavisi. Türk Kardiyoloji Der. Arş. 20; 264-272.
33. Wong H, Schotz MC. Lipase gene family. J Lipid Res 2002; 43: 993-999
34. Jaye M, Lynch KJ, Krawiec T. A novel endothelial-derived lipase that modulates HDL metabolism. Nat Genet 1999; 21: 424-8.
35. Jaye M, Krawiec J. Endothelial lipase and HDL metabolism. Current Opinion in Lipidology 2004; 15: 183-9.
36. Jaye M, Lynch KJ, Krawiec J, Marchadier D, Maugeais, C, et al. A novel endothelial-derived lipase that modulates HDL metabolism. Nature Genet 1999; 21: 424-428, 1999.
37. Ishida T, Zheng Z, Dichek HL, Wang H, Moreno I, Yang E, et al. Molecular cloning of nonsecreted endothelial cell-derived lipase isoforms. Genomics 2004; 83: 24-33.
38. Gordon DJ, Rifkind Bm. High density lipoprotein the clinical implications of recent studies. N Engl J Med 1989; 321: 1311-1316
39. Holleboom AG, Vergeer M, Hovingh GK, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA. The value of HDL genetics. Curr Opin Lipidol 2008; 19: 385-394
40. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. N Eng J Med 1986; 314:496
41. Mank-Seymour AR, Durham KI, Thompson Jf, Seymour AB, Milos Pm. Association between single nucleotide polymorphisms in the endothelial lipase (LIPG) gene and high density lipoprotein cholesterol levels. Biochim Biophys Acta; 2004; 1636, 40-46.
42. Jain KS, Kathiravan MK, Somani RS, Shishoo CJ, The biology and chemistry of hyperlipidemia. Bioorg Med chem 2007; 15; 4674-4699
43. Das UN. Long-chain polyunsaturated fatty acids, endothelial lipase and atherosclerosis. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005; **72**: 173-9.
44. Volanakis JE. Human C-reactive protein: Expression, structure, and function. Mol Immunol 2001; 38: 189-97.
45. Hutchinson WL, Koenig W, Frohlich M. Immunoradiometric assay of circulating C-reactive protein: Age-related values in the adult general population. Clin Chem 2000; 46: 934-8.
46. Wener MH, Daum PR, McQuillan GM. The influence of age, sex, and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. J Rheumatol 2000; 27: 2351-9.
47. Garcia-Moll X, Zouridakis E, Cole D, et al. C-reactive protein in patients with chronic stable angina: Differences in baseline serum concentration between women and men. Eur Heart J 2000; 21: 1598-606.

48. Roberts WL, Moulton L, Law TC. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: Implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem 2001; 47: 418-25.
49. E.L. Kilpatrick and D.M. Bunk. Reference measurement procedure development for C-reactive protein in human serum. *Analytical Chemistry*, 2009; 8610-8616.
50. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. J Clin Invest 1993; 91: 1351-1357.
51. Wener MH, Daum PR, McQuillan GM. The influence of age, sex, and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. J Rheumatol 2000; 27: 2351-9.
52. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, et al. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. Clin Chem 2001; 47: 426-30.
53. Frohlich M, Sund M, Thorand B, et al. Lack of seasonal variation in C-reactive protein. Clin Chem 2002; 48: 575-7.
54. Ballou SP, Lozanski G. Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein. Cytokine 1992; 4: 361-8.
55. Jones SA, Novick D, Horiuchi S, et al. C-reactive protein: A physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. J Exp Med 1999; 189: 599-604.
56. Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, et al. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. J Exp Med 1999; 190: 1733-40.
57. Xia D, Samols D. Transgenic mice expressing rabbit C-reactive protein are resistant to endotoxemia. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 2575-80.
58. Gershov D, Kim S, Brot N, et al. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: Implications for systemic autoimmunity. J Exp Med 2000; 192: 1353-64.
59. Lagrand, Wim K. Cees A. Visser, Willem T. Hermens, Hans W. M. Niessen, Freek W. A. Verheugt, Gert-Jan Wolbink, C. Erik Hack (1999-07-06). "C-Reactive Protein as a Cardiovascular Risk Factor: More Than an Epiphenomenon?". Circulation 2009; 100: 96-98.
60. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? Hypertension 2004; 44: 6-11.
61. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology, Fifth Edition, Elsevier Saunders pub, 2005: 243- 275.
62. Moore KW, Malefyt RW, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 ve the Interleukin-10 receptor. Annu Rev Immunol 2001; 19: 683- 765. 100
63. Volk HD, Asadullah K, Gallage G, Sabat R, Grütz G. IL-10 and its homologs: Important immune mediators and emerging immunotherapeutic agents. Trends Immunol 2001; 22: 414-417.

64. Macromolecular Crystallography Laboratory, Center for Cancer Research, National Cancer Institute at Frederick, MD 21702-1201, 2004; 10, 3873-3884
65. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. . Cytokines. Cellular and Molecular Immunology, Fifth Edition, Elsevier Saunders pub. 2005; 243- 275.
66. Mocellin S, Panelli MC, Wang E, Nagorsen D, Marincola FM. The dual role of IL-10. Trends Immunol, 2003; 24: 36-43.
67. Li J, Guo Y, Yang Y. Enhancing anti-inflammatory cytokine IL-10 may be beneficial for acute coronary syndrome. Med Hypotheses. 2005; 65: 103-106.
68. Mallat Z, Benard S, Durie ZM, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. Circ Res 1999; 85: 17-24.
69. Interlökin 6 http://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_6 Erişim Tarihi: 08.11.13.
70. Nakahara H, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapyin rheumatic diseases. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2006; 6: 373-81.
71. Kishimoto T. Inhibition of IL-6 for the treatment of inflammatory diseases. Curr Opin Pharmacol 2004; 4: 386-391.
72. Doan T, Melvold R, Viselli S, Waltenbaugh C. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.Nakahara H, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapyin rheumatic diseases. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2006; 6: 373-81.
73. Nakahara H, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapyin rheumatic diseases. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2006; 6: 373-381.
74. Alexander RW. Inflammation and coronary arter disease. New Engl J Med 1994; 331: 468-469
75. Koukkunen H, Penttilä K, Kemppainen A, Halinen M, Penttilä I, Rantanen T, et al. C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in the prognostic classification of unstable angina pectoris. Ann Med 2001; 33: 37-47.
76. Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship between interleukin-6 and mortality patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. JAMA 2001; 286: 2107-2113.
77. Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. Am J Med 1999; 106: 506-512.
78. Schleicher E, Friess U. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. Kidney International 2007; 72: S17-S26.
79. Mallat Z, Benard S, Durie ZM, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. Circ Res 1999; 85: 17-24.

80. Alexander R.W. Inflammation and coronary arter disease. *New Engl J Med* 1994; 331: 468-469.
81. de Beer FC, Hind CR, Fox KM, et al. Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial ischaemia and infarction. *Br Heart J* 1982; 47: 239-43.
82. Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: Prospective study and updated meta-analyses. *BMJ* 2000; 321: 199-204.
83. The Role of C-Reactive Protein in the Evaluation and Management of Infants With Suspected Sepsis http://www.medscape.com/content/2003/00/45/09/450937/450937_fig.html
84. Marian AJ. Genetic markers; genes involved in atherosclerosis. *J. Cardiovascular Risk* 1997; 4: 333-339
85. Akgün S. Ulusal Hastalık Yüğü Sonuçları, Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi ve Başkent Üniversitesi işbirliği. 2000, Türkiye.
86. Onat A. Türkiye’de Erişkinlerde Koroner Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması: Kalp Hastalıkları Prevalansı Türk Kardioloji Derneği Araştırma Raporu, Türk Kardioloji Derneği, Yenilik Basımevi, İstanbul, 1991
87. Cheung MC, Albers JJ. Distribution of high density lipoprotein particles with different apoprotein composition: particles with A-I and A-II and particles with A-I but no A-II. *J. Lipid Res* 1982; 23: 747–753.
88. Hirata K, Dichek HL, Cioffi JA, Choi SY, Leeper N J, Quintana L, Kronmal GS, Cooper A. D. & Quertermous, T. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 14170–14175.
89. Jaye M, Lynch KJ, Krawiec J, Marchadier D, Maugeais C, Doan K, South V, Amin D, Perrone, M. & Rader, DJ. *Nat Genet* 1999; 21,424–428.
90. Sugita T, Watarida S, Katsuyama K, et al. Interleukin-10 concentration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112:1127–1128.
91. Mallat Z, Heymes C, Ohan J, et al. Expression of interleukin-10 in advanced human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 611– 616.
92. Hansson G, Robertson AL, Soderberg-Naucler C. Inflammation and Atherosclerosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2006; 1: 297–329.
93. Mallat Z, Besnard S, Duriez M, Deleuze V, Emmanuel F, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 85: 17–24.
94. Zebrack JS, Muhlestein JB, Horne BD, et al. C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: Independent and additive predictors of risk in subjects with angina. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 632-7.
95. Wolfe F, Freundlich B, Straus WL. Increase in cardiovascular and cerebrovascular disease prevalence in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 36-40.

96. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001; 103: 1813-8.
97. Ridker PM, Rifai N, Rose L, et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347: 1557-65.
98. Alexander R.W. Inflammation and coronary arter disease. *New Engl J Med* 1994; 331: 468-469
99. Koukkunen H, Penttilä K, Kemppainen A, Halinen M, Penttilä I, Rantanen T, et al. C-reactive protein, fibrinogen, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in the prognostic classification of unstable angina pectoris. *Ann Med* 2001; 33: 37-4
100. Lee TS, Yen HC, Pan CC, Chau LY. The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 1999; 19: 734-42.
101. Schleicher E, Friess U. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. *Kidney International* 2007; 72: S17-S26.
102. Weijun Jin, John S. Millar, Uli Broedl, Jane M. Glick, and Daniel J. Rader Department of Medicine and Center for Experimental Therapeutics, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA
103. Ishida T. Endothelial lipase is a major determinant of HDL level. *J Clin Invest* 2003; 111: 347–355.
104. Badellino KO, Wolfe ML, Reilly MP, Rader DJ. Endothelial lipase concentrations are increased in metabolic syndrome and associated with coronary atherosclerosis. *PLoS Med.* 2006; 3: 245–252.
105. Ishida TS, Choi RK, Kundu K, Hirata EM, Rubin AD, Cooper T. Quettermous. Endothelial lipase is a major determinant of HDL level. *J Clin Invest* 2003; 111: 347–355
106. Shimizu M, Kanazawa K, Hirata K, Ishida T, Hiroka E et al. Endothelial lipase gene polymorphism is associated with acute myocardial infarction independently of high density lipoprotein cholesterol levels. *Circ J* 2007; 71; 842-846
107. Yamakawa-Kobayashi K, Yanagi H, Endo K, Arinami T, Hamaguchi H. Relationship between serum HDL-C levels and common genetic variants of the endothelial lipase gene in Japanese school-aged children. *Hum Genet* 2003; 113: 311– 315.
108. Dalan BD, Bahar Toptas, Zehra Buğra, Nihat Polat et al. the effects of endothelial lipase gene (LIPG) variants on inflammation marker levels and atherosclerosis development. *Mol Biol Rep* DOI 10.1007/s11033-013-2615-2
109. Na-Ping Tang, Lian-Sheng Wang, Li Yang, Bo Zhou, Hai-Juan Gu, Qing-Min Sun, Ri-Hong Cong, Huai-Jun Zhu, and Bin Wang.

- 110.**Paradis, M. E, P. Couture, Y. Bosse, JP. Despres, L. Perusse, C. Bouchard, M. C. Vohl, and B. Lamarche. 2003. The T111I mutation in the EL gene modulates the impact of dietary fat on the HDL profile in women. *J. Lipid Res.* 44: 1902–1908.

8. EKLER

GÖNÜLLÜ FORMU

Sayın Gönüllü;

Koroner arter hastalığı ile ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmamızın ismi ‘Koroner Arter Hastalarında Endotelyal Lipaz Gen Polimorfizmi ve İnflamasyon Belirteçleri Arasındaki İlişki ’dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Araştırmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Koroner arter hastalığı günümüzde en sık görülen ve en önemli sağlık sorunlarından biridir. Koroner arter hastalığı, kalp kasını besleyen koroner arterlerin tıkanıklığına verilen addır ve nedeni “ateroskleroz” denilen damar sertliğidir. Bu hastalığın en önemli özelliği ileri evrelerde hayatı tehdit edebilen miyokard enfarktüsüne yol açabilmesidir. Bu hastalığa yol açan risk faktörlerinin bilinerek koruyucu önlemlerin alınması, hastalığın tedavisinden daha da önemlidir.

Koroner arter hastalığı ateroskleroz nedeniyle koroner arterlerin daralması sonucunda ortaya çıkar. Kesin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, etkisi gösterilmiş risk faktörleri vardır. Bu risk faktörlerini ikiye ayırabiliriz, birinci grupta düzeltilebilir risk faktörleri yer alır. Bunlar, sigara içilmesi, hipertansiyon, yüksek kolesterol düzeyi, fiziksel aktivite azlığı ve alkol tüketimi ve strestir. Düzeltilemeyen risk faktörleri ise ileri yaş, erkek cinsiyeti, ailede 55 yaşından önce koroner arter hastalığı öyküsünün olmasıdır. Şüphesiz genetik faktörler koroner damar sertliğinin oluşmasında önemli bir etkidir. Bu hastalığa ait risk faktörleri kalıtsal olarak diğer aile bireylerine de geçmektedir. Kesin tanı için koroner anjiyografi gereklidir. Koroner anjiyografi damarların net bir şekilde görülmesi için damar yapısını inceleyen bir yöntemdir. Yani koroner anjiyografi lokal anestezi ile kol ya da bacak damarlarından kalp damarlarına yollanan bir kılavuzla koroner arterlerin radyolojik olarak görüntülenmesi yöntemidir.

Bu araştırmamızda; koroner arter hastalığı gelişimine neden olabilecek genetik ve bazı yeni biyokimyasal belirteçler incelenerek yeni tanı ve tedavi protokollerine ne gibi katkılar sağlayabileceği araştırılacaktır. Genetik belirteç olarak Endotelyal Lipaz Gen (LIPG) polimorfizmi çalışılacaktır. Endotelyal Lipaz (EL) hücreler tarafından salgılanan

bir lipazdır. Endotelyal Lipaz primer olarak endotelyal hücrelerden salgılanarak hücre yüzeyinde fonksiyonel olarak Fosfolipaz A1 aktivitesi gösterir. EL'in aşırı ekspresyonu HDL (iyi kolesterol) düzeylerini azaltırken EL hareketinin engellenmesi aksi etki yapar. EL; bu etkisi ile HDL Kolesterol düzeylerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynayarak aterosklerozun (damar sertliği) başlaması ve ilerlemesine karar verir. Bundan dolayı koroner arter hastalıklarında Endotelyal Lipaz Gen polimorfizminin rolünün belirlenmesi, gen polimorfizmi ile inflamasyon arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Biyokimyasal belirteç olarak da İnterlökin-6, İnterlökin-10, yüksek duyarlı C-reaktif protein ve endotelyal lipaz düzeyleri ölçülecektir. Yine bu belirteçlerin koroner arter hastalığının oluşmasında etkili olup olmadığı araştırılacaktır.

Size tanı amacıyla kardiyoloji anabilim dalında size koroner anjiyografi uygulanmış ve tanı almış durumundasınız. Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz anjiyografi sonrası sizin yaş, boy, kilo, kan basıncı, kulladığınız ilaçlar ve yakınmalarınız kaydedilecektir. Genetik analiz için 2 ml'lik kan, biyokimyasal analizler için 3 ml'lik kan numunesinin kolunuzdan alınması gerekmektedir.

Bu araştırma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ve Kardiyoloji Anabilim Dallarının ortak katılımı ile yapılacaktır.

Sizin de bu araştırmaya hasta grubunu () / sağlıklı kontrol grubunu () temsilen katılmanızı öneriyoruz. Hasta grubu gönüllüleri için araştırmanın sonucunda eğer koroner arter hastalığı grubunda kontrol grubuna göre fark tespit edilirse tanı ve tedavi amaçlı araştırmalarda faydalı olacağını düşünüyoruz. Sağlıklı gönüllüler için ise kısa vadede direkt bir fayda sağlanmayacak, ancak hayatınızın ileriki aşamalarında araştırılan bu hastalığa bağlı gelişebilecek komplikasyonlarda bu çalışmanın sonuçlarına bağlı olarak elde edilebilecek tanı ve tedavi yöntemlerindeki muhtemel bilimsel kazanımlardan faydalanılacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:

1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.

2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Bu risklerden sizi uzak tutmak için elimizden geldiğince titiz davranacağız.

Elde ettiğimiz kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden kullanılacaktır. Gerektiğinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Necip İLHAN'a 4242370000-4692 numaralı telefonla ulaşabileceksiniz.

Bu araştırmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecek, aynı zamanda size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Araştırmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir. Araştırmaya bağlı göreceğiniz olası bir zararda sorumluluğunu üstleneceğimizi ve zararın giderilmesi için her türlü müdahalenin yapılacağını ve bu durum ile ilgili tüm harcamaları üstleneceğimizi bilmenizi isteriz.

Hasta/Katılımcının Beyanı

Sayın Prof. Dr. Necip İLHAN tarafından Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya ve Kardiyoloji Anabilim Dalı tarafından yapılacak olan tıbbi bir araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya ‘katılımcı’ (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin büyük bir gizlilik ile korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütölmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum, bana da bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırma sırasında ve sonrasında araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaşırsam Prof. Dr. Necip İLHAN’a 0424 2370000-4692 nolu telefondan ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Kardiyoloji Anabilim Dalı adresinden ulaşabileceğimi biliyorum.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllölük içerisinde kabul ediyorum.

Konu ile ilgili imzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, Soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Hekim

Adı, Soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme Tanığı

Adı Soyadı, ünvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad	Solmaz SUSAM
Doğum yeri	Elazığ
Doğum Tarihi	05.01.1987
Uyruğu	T.C.
Email	solmaz_susam@hotmail.com

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurum	Mezun Olduğu Yıl
Yüksek Lisans	Fırat Üniversitesi	2013
Lisans	Fırat Üniversitesi	2010
Lise	Gazi Lisesi	2005

Aldığı Puanlar

ÜDS	KPDS	ALES
76.250	73	84.330

Bilgisayar Becerileri

Program	Kullanma Becerisi
Word	İyi
Excell	İyi
Power Point	İyi

Özel İlgi Alanları: Kitap okumak, seyahat etmek ve müzik dinlemek.