T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ATEROSKLEROZLU HASTALARDA UZUN KODLAYICI OLMAYAN RNA COROMARKER ile OKSİDE LDL KOLESTEROL DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Ebru BAKAÇ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU
(danışman imzalı olacaktır)

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

Temmuz, 2025

TEZ KABUL VE ONAYI

Ebru BAKAÇ tarafından, **Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU** danışmanlığında hazırlanan **" ATEROSKLEROZLU HASTALARDA UZUN KODLAYICI OLMAYAN RNA COROMARKER ile OKSİDE LDL KOLESTEROL DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI "** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **28/07/2025** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Berk Arapi İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Soydaş İstanbul-Aydın Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret

Anneme ithaf ediyorum…..

BÜTÇE DESTEKLERİ

ATEROSKLEROZLU HASTALARDA UZUN KODLAYICI OLMAYAN RNA COROMARKER ile OKSİDE LDL KOLESTEROL DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 37732

TEŞEKKÜR

Tez yazım aşaması sırasında yapmış olduğu yardımlar ve bana Tıbbi Biyoloji alanında kazandırmış olduğu bilgi ve becerilerden dolayı yüksek lisans tez danışmanım sayın Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU'na, tezin materyal toplama aşamasında yapmış olduğu yardımlardan dolayı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi A.B.D. öğretim üyeleri Dr. Öğr. Üyesi Berk ARAPİ ve Öğr. Gör. Dr. Çiğdem TEL ÜSTÜNIŞIK'a, yüksek lisans ders aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B. D. bünyesinde görev yapan bütün hocalarıma teşekkür ederim.

Temmuz 2025 Ebru BAKAÇ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ii

BÜTÇE DESTEKLERİ iv

TEŞEKKÜR v

İÇİNDEKİLER vi

ŞEKİL LİSTESİ ix

TABLO LİSTESİ x

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ xi

ÖZET xiii

ABSTRACT xv

1. GİRİŞ 1

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE 4

2.1. ATEROSKLEROZ 4

2.1.1.Aterosklerozun Patogenezi 4

2.1.1.1. Endotel Fonksiyon Bozukluğu 5

2.1.1.2. Köpük Hücre Oluşumu 6

2.1.1.3. Plak Oluşumu 6

2.1.2. Ateroskleroz Gelişiminde Etkili Olan Risk Faktörleri 7

2.1.2.1. Hiperlipidemi 8

2.1.2.2. İnflamasyon 8

2.1.2.3. Diabetes Mellitus 8

2.1.2.4. Obezite 8

2.1.2.5. Yaş 8

2.1.2.6. Homosistein 9

2.1.2.7. Sigara Kullanımı ve Pasif İçicilik 9

2.1.2.8. Hipertansiyon 9

2.1.2.9. İnsülin Direnci 10

2.1.2.10. Trigliserid Düzeyi 10

2.1.2.11. CRP Düzeyi 10

2.1.2.12. Sedanter Yaşam 10

2.1.2.13. Psikososyal Stres 11

2.1.3. Ateroskleroz Gelişiminde Genlerin Kritik Rolü 11

2.2. OKSİDE LDL 13

2.2.1. Okside LDL Reseptörleri…….....13
2.2.1.1. SR-A……..14
2.2.1.2. SR-B……..14
2.2.1.3. SR-C……..15
2.2.1.4. SR-D……..16
2.2.1.5. SR-E……..16
2.3. KORONER ARTER HASTALIĞI……17
2.3.1. Koroner Arter Hastalığının Patogenezi……...18
2.3.2. Koroner Arter Hastalığının Genetiği……20
2.3.3. Koroner Arter Hastalığında Tanı ve Tedavi…...……21
2.4. PERİFERİK ARTER HASTALIĞI……...….22
2.4.1. Periferik Arter Hastalığının Patogenezi……...….24
2.4.2. Periferik Arter Hastalığı ve Genetik…….25
2.4.3. Periferik Arter Hastalığının Tanı ve Tedavisi...……...27
2.5. KODLAYICI OLMAYAN RNA'LAR……..28
2.5.1.Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA'lar……...….29
2.5.1.1. Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA CoroMarker……..33
2.5.2. Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA'lar ve Oksidatif Stres.....34
2.6. KANTİTATİF GERÇEK ZAMANLI PCR (RT-qPCR) YÖNTEMİ……35
2.6.1. DNA Bağlama Boyaları……...36
2.6.2. Florofor Etiketli Oligonükleotitler……...……37
2.6.2.1. Hidroliz Probları 37
2.6.2.2. Hibridizasyon Probları 37
2.7. ELISA METODU……...……38
3.YÖNTEM.....40
3.1. ÇALIŞMA GRUBU.....…….. 40
3.2. KULLANILAN CİHAZLAR……...….41
3.3. KULLANILAN ÇÖZELTİLER VE TAMPONLAR……42
3.3.1. RNA Eldesinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler…….…….42
3.3.2. ELISA Metodunda Kullanılan Tampon ve Çözeltiler…….42
3.4. KULLANILAN KİMYASALLAR……42
3.5. COROMARKER GEN İFADESİNİN ÖLÇÜLMESİ……...……43
3.5.1. Tam Kandan Lenfosit İzolasyonu……...….43

3.5.2. RNA İzolasyonu……..44
3.5.2.1. RNA Miktarı ve Saflığının Tayini.....45
3.5.2.2. Birinci Normalizasyon.....46
3.5.3. cDNA Sentezi…….....46
3.5.4. Kantitatif-Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Gen İfade Düzeyinin Belirlenmesi……..47
3.5.4.1.İkinci Normalizasyon.....47
3.5.4.2.RT-qPCR Reaksiyon İçeriğinin Hazırlanması.....48
3.6. OKSİDE LDL DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ……48
3.6.1. Kan Plazması İzolasyonu…….48
3.6. 2. ELISA Testi ile Okside LDL Düzeyinin Belirlenmesi……..…...48
3.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME……51
4.BULGULAR.....52
5. TARTIŞMA.....58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 62
KAYNAKLAR.....63
EKLER 84
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 84
KURUM İZNİ YAZILARI.....85

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Damarların yapısı……...…5
Şekil 2.2: Köpük hücre oluşumu.....6
Şekil 2.3: Aterosklerozun patogenezi…….....7
Şekil 2.4: Aterosklerozun genetik lokusları.....…….....12
Şekil 2.5: Ox-LDL reseptörleri…….....14
Şekil 2.6: LOX-1 reseptörü……..… 16
Şekil 2.7: Koroner arterlerin anatomisi…….19
Şekil 2.8: Koroner arter kalsifikasyonun patofizyolojisi……...19
Şekil 2.9: Koroner arter trombozunun mikroanatomisi…….....20
Şekil 2.10: Koroner arter hastalığı ile ilişkili genetik lokuslar…….21
Şekil 2.11: Periferik arter hastalığının patogenezi…….…24
Şekil 2.12: Periferik arter hastalığında anjiyogenezde lncRNA'nın potansiyel etki yolları…. 26
Şekil 2.13: lncRNA'ların görevleri…….....31
Şekil 2.14: Uzun kodlanmayan RNA'ların türleri…….……32
Şekil 2.15: lncRNA'ların cis ve trans düzenlemesi……32
Şekil 2.16: lncRNA Coromarker gen yapısı……..32
Şekil 2.17: RT-qPCR'da kullanılan boya ve problar……..…...38
Şekil 2.18: Sandwich ELISA türleri……..…….…..39
Şekil 4.1: Hasta ve kontrol gruplarının lncRNA Coromarker geni kat değişimi.....54
Şekil 4.2: KAH ve PAH gruplarının lncRNA Coromarker gen ekspresyon düzeyleri.....55
Şekil 4.3: Hasta grubu Coromarker kat değişimi ile ox-LDL düzeyleri arasındaki ilişki.....55
Şekil 4.4: Hasta grubu ox-LDL düzeyleri ile HDL-kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki.....56

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Kodlamayan RNA'ların görevleri……...…29
Tablo 3.1: Total RNA ve hekzamer primer karışımının oranı……...…..46
Tablo 3.2: RT Reaksiyonunda kullanılan maddelerin konsantrasyonları……....…….46
Tablo 3.3: qRT-PCR primer özellikleri……...…….47
Tablo 3.4: PCR karışımının içeriği……...…....47
Tablo 3.5: LightCycler® RT-qPCR programları sıcaklık ve döngü sayısı……..……48
Tablo 4.1: Hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal ve demografik özellikleri açısından karşılaştırılması.....53
Tablo 4.2: Hasta (KAH ve PAH) ile kontrol gruplarının lncRNA Coromarker gen ekspresyonu açısından kıyaslanması.....54
Tablo 4.3: Hasta (KAH ve PAH) ile kontrol gruplarının ox-LDL düzeyleri açısından kıyaslanması.....54
Tablo 4.4: Hasta ve kontrol gruplarında lncRNA Coromarker geninin ekspresyon düzeyinin cinsiyet açısından karşılaştırılması.....55
Tablo 4.5: Hasta ve kontrol gruplarında ox-LDL düzeyinin cinsiyet açısından karşılaştırılması.....55
Tablo 4.6: KAH VE PAH gruplarının lncRNA Coromarker gen ekspresyonu açısından kıyaslanması.....55
Tablo 4.7: KAH ve PAH gruplarının ox-LDL düzeyleri açısından kıyaslanması.....56

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	**Açıklama**
µL :	Mikrolitre
ml :	Mililitre

Kısaltmalar	**Açıklama**
ASCVD	: Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalık
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
PAH	: Periferik Arter Hastalığı
LNCRNA	: Uzun Kodlayıcı Olmayan Rna
VSMC	: Vasküler Düz Kas Hücreleri
SMC	: Düz Kas Hücreleri
AMI	: Akut Miyokard Enfarktüs
PM	: Partikül Maddesinin
TRL	: Trigliseritten Zengin Lipoprotein
CVRISK	: Rezidüel Kardiyovasküler Risk
APO-B	: Apolipoprotein B
APO-E	: Apolipoprotein E
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoproteinin
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
APO-AI	: Apolipoprotein Ai
CRP	: C-Reaktif Protein
OX-LDL	: Okside Olmuş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
EC	: Endotel Hücreleri
TLR	: Toll Benzeri Reseptörler
SR	: Çöpçü Reseptörler
LOX-1	: Lektin Benzeri Oksitlenmiş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptörü-1
OLR1	: Oksitlenmiş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Lektin Benzeri Reseptörü 1

LD : Bağlantı Dengesizliği
SR-A : Çöpçü Reseptör Sınıf A
SR-BI : Çöpçü Reseptörü Bi
ACAT1 : Kolesterol Açiltransferaz-1
NCEH : Nötr Kolesteril Ester Hidrolaz
ABCA1 : Atp-Bağlayıcı Kaset Taşıyıcıları A1
ABCG1 : Atp-Bağlayıcı Kaset Taşıyıcıları G1
PDGF : Trombosit Büyüme Faktörü
TNF-A : Tümör Nekroz Faktör-A
IL-1B : İnterlökin-1 B
SRCL : Çöpçü Reseptörü C Tipi Lektin
CRD : C Tipi Karbonhidrat Tanıma Alanı
HSP 60/65 : Isı Şok Proteini
LDLR : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptörü
PCSK9 : Proprotein Konvertaz Subtilisin/Keksin Tip 9
MEF2A : Transkripsiyon Faktörü Miyosit Arttırıcı Faktör 2a
CDKN2A : Siklin Bağımlı Kinaz Inhibitörü 2a
CDKN2B : Siklin Bağımlı Kinaz Inhibitörü 2b
ANRIL : Ink4 Lokusunda Antisens Kodlamayan Rna
ESC : Avrupa Kardiyoloji Derneği
CCS : Kronik Koroner Sendrom
CABG : Koroner Arter Baypas Greftleme
PCI : Perkütan Koroner Girişim
AHA : Amerikan Kalp Derneği
APAD : Asemptomatik Periferik Arter Hastalığı
PVD : Periferik Vasküler Hastalık
ABI : Bilek-Brakiyal Indeksi
CAC : Koroner Arter Kalsifikasyonu
MMP 9 : Matris Metalloproteinaz 9
RCA : Sağ Koroner Arter
LCA : Sol Koroner Arter
LAD : Sol Ön Inen Koroner Arter
LCX : Sol Sirkumfleks Arter

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aterosklerozlu Hastalarda Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA CoroMarker ile Okside LDL Kolesterol Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Ebru BAKAÇ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman: Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU

Ateroskleroz; kronik inflamasyon, oksidatif stres ve metabolik fonksiyon bozukluğunu içeren immüno-metabolik bir hastalıktır. Aterosklerozun karmaşık patolojik ilerleyişinde potansiyel biyobelirteçlerin bulunması, aterosklerozun önlenmesi ve tedavisi için büyük önem taşımaktadır. Çalışmalar, ateroskleroz ile epigenetik mekanizmalar arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir. Dolaşımdaki lncRNA'lar ve ateroskleroz gelişimi arasındaki ilişkilere odaklanan çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Ayrıca ateroskleroz gelişiminde inflamatuvar süreçler ile LDL oksidasyonu arasında bir ilişki bulunmaktadır. Çalışmamızda, CoroMarker (AC100865.1) geninin ateroskleroz gelişim süreçlerindeki rolü ile okside LDL kolesterol düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Aterosklerozlu hastalarda (n=50 koroner arter hastalığı (KAH), n=44 periferik arter hastalığı (PAH)) ve sağlıklı kontrollerde (n=97) uzun kodlayıcı olmayan RNA CoroMarker geninin ekspresyon düzeyleri kantitatif Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR), plazma ox-LDL düzeyleri Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemleri ile belirlendi. Çalışmamızda, lncRNA CoroMarker geninin ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu ancak istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı (p=0,32). Hasta ve kontrol grupları arasında ox-LDL düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=0,189). CoroMarker gen ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet değişkenine göre karşılaştırıldığında hem kontrol hem de hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı (p>0,05). Hasta grubunda CoroMarker gen ekspresyon düzeyleri ile ox-LDL arasında pozitif yönlü, zayıf bir korelasyon olduğu tespit edildi, ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlılık sınırına

ulaşamadı (rs=0.06, p=0,71). CoroMarker gen ekspresyonu ile açlık kan şekeri düzeyleri karşılaştırıldığında düşük düzeyde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edildi ancak istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı (r_s=0,18, p=0,086). Hasta grubunda ox-LDL ile HDL-kolesterol düzeyleri arasında ters yönde, orta düzeyde ve anlamlı bir korelasyon olduğu gözlendi (r_s=-0.421, p=0,009). Araştırma sonucunda aterosklerozlu hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre lncRNA CoroMarker ekspresyon düzeyinin yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamaması, lncRNA CoroMarker ile hastalık etiyolojisi arasında zayıf bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Bulguların anlamlı olmaması, sınırlı örneklem büyüklüğü ve hasta grubunda kolesterol düşürücü ilaç kullanımının etkisiyle açıklanabilir.

Temmuz 2025 , 88 sayfa.

Anahtar kelimeler: Ateroskleroz, Koroner arter hastalığı, Periferik arter hastalığı, Uzun kodlamayan RNA, CoroMarker, okside LDL

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

Investigation of the Relationship Between Long Non-Coding RNA Coromarker and Oxidized LDL Cholesterol Levels in Patients with Atherosclerosis

Ebru BAKAÇ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Biology

Medical Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Burcu BAYOĞLU

Atherosclerosis is an immunometabolic disease involving chronic inflammation, oxidative stress, and metabolic dysfunction. Identifying potential biomarkers for the complex pathological progression of atherosclerosis is crucial for its prevention and treatment. Studies demonstrate a strong relationship between atherosclerosis and epigenetic mechanisms. Studies focusing on the relationship between circulating lncRNAs and the development of atherosclerosis are gaining increasing importance. Furthermore, there is a relationship between inflammatory processes and LDL oxidation in the development of atherosclerosis. Our study aimed to investigate the relationship between the role of the CoroMarker (AC100865.1) gene in the development of atherosclerosis and oxidized LDL cholesterol levels. Expression levels of the long non-coding RNA CoroMarker gene were determined in patients with atherosclerosis (n=50 with coronary artery disease (CAD), n=44 with peripheral artery disease (PAD)) and healthy controls (n=97) using quantitative Real-Time-Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR), and plasma ox-LDL levels were determined using Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA). In our study, expression levels of the lncRNA CoroMarker gene were found to be higher in the patient group compared to the control group, but did not reach the statistical significance level (p=0.32). When ox-LDL levels were compared between the patient and control groups, no statistically significant difference was found (p=0.189). When CoroMarker gene expression levels were compared between the patient and control groups according to gender, no statistically significant results were found in either the control or patient groups (p>0.05). A weak, positive correlation was found between CoroMarker gene expression levels and ox-LDL in the patient group, but the results did not reach statistical significance (r_s = 0.06,

p=0.71). When CoroMarker gene expression was compared with fasting blood glucose levels, a low-level positive correlation was found, but it did not reach statistical significance (r_s= 0.18, p=0.086). A moderate, inverse, and significant correlation was observed between ox-LDL and HDL-cholesterol levels in the patient group (r_s=-0.421, p=0.009). The study's finding that lncRNA CoroMarker expression levels were higher in the atherosclerosis patient group compared to healthy controls, but did not reach statistical significance, suggests a weak relationship between lncRNA CoroMarker and disease etiology. The lack of significance in the findings may be explained by the limited sample size and the use of cholesterol-lowering medications in the patient group.

July 2025, 88 pages.

Keywords: Atherosclerosis, Coronary artery disease, Peripheral artery disease, Long non-coding RNA, CoroMarker, Oxidized LDL

1. GİRİŞ

Ateroskleroz, dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Ayrıca kardiyovasküler hastalıkların en yaygın nedeni olarak gösterilmektedir [1]. Kronik bir vasküler inflamasyon olarak tanımlanan ateroskleroz vasküler intimada çeşitli hücreler, lipidler ve debris dokusunu içeren plak oluşum sürecidir [2]. Aterosklerozun görülme sıklığı günümüzde daha erken yaşlarda ortaya çıkmaktadır [3]. Ateroskleroz gelişimi için risk faktörleri olarak yaşam tarzı, çevresel faktörler ve genetik faktörler sayılabilir [4].

Okside LDL düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol aterosklerozun patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stres ve inflamasyon lipid ve lipoproteinlerin oksidasyonuna yol açmaktadır. [5]. Yüksek glikoz, ANGII, ox-LDL kolesterol mitokondriyal oksidatif stres ile endotel fonksiyon bozukluğuna neden olarak reaktif oksijen türevleri (ROS) salınımını tetiklemektedir. Bozulmuş endotel makrofajlara farklılaşan monositlerin adezyonunu ve infiltrasyonunu indüklemekte; ROS, M2 makrofajların M1 makrofajlara polarizasyonuna neden olmaktadır. Ayrıca M1 makrofajlardan proinflamatuar sitokinler salgılanmakta, bu durum vasküler hücrelerde ROS salınımını ve apoptozu indüklemektedir [6].

Ateroskleroz, koroner arter hastalığı (KAH) ve periferik arter hastalığı (PAH) için altta yatan patofizyolojiyi oluşturmaktadır [7]. Koroner arter kalsifikasyonu patolojik olarak mikro kalsifikasyonlar olarak başlamakta, daha sonra kalsifikasyon artarak devam etmektedir. Bu durum aterosklerotik plağın ilerlemesine neden olmaktadır [8]. Hastalık patolojisi, sıklıkla fibröz kapağın yırtılmasına bağlıdır ve bazen de aterosklerotik plağın erozyonuna bağlı in situ tromboz oluşabilmektedir [9]. KAH için risk faktörleri arasında diabetes mellitus, hipertansiyon, sigara, hiperlipidemi, obezite, homosistinüri ve psikososyal stres yer almaktadır [10].

Periferik arter hastalığı (PAH), alt ekstremite arterlerinin tıkayıcı ateroskleroz nedeniyle daha az kan akışı aldığı spesifik bir kardiyovasküler hastalık türüdür [11]. PAH için en önemli risk faktörleri hiperlipidemi, hipertansiyon, diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı ve sigaradır; üç veya daha fazla faktörün varlığı, PAH riskinde on kat artış sağlamaktadır [12].

Aterosklerozu önlemek, KAH riskini azaltmak için yeni biyobelirteçler ve terapötik stratejiler belirleme çalışmaları büyük ilgi görmektedir [13]. Bu biyobelirtçlerden biri de uzun kodlayıcı olmayan RNA'lardır(lncRNA'lar). LncRNA'lar, protein kodlama potansiyeli olmayan >200 bp transkriptler olarak tanımlanmaktadır [14]. LncRNA'lar epigenetik düzenleme yoluyla genomik bütünlüğün korunmasında önemli katkılara sahiptirler. LncRNA'lar hem cis hem de trans yolaklarında kromatin modifiye edici komplekslerle etkileşime girerek onları belirli genomik lokuslara çekebilir ve DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kromatin yeniden şekillenmesi yoluyla gen ifadesini etkileyebilirler [15]. Son yıllarda yapılan araştırmalar lncRNA'ların kardiyovasküler hastalıklar, bulaşıcı hastalıklar, kirliliğe bağlı akciğer rahatsızlıkları, nanotoksikoloji gibi konularda bazı önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir [16].

CoroMarker (AC100865.1), genellikle KAH ile ilgili araştırmalara konu olan bir. lncRNA'dır. Mikroarray tabanlı bir araştırmada periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) ve plazmadaki lncRNA ekspresyonu araştırılmıştır. Coromarker'ın THP-1 hücre hattında siRNA kullanılarak yapılan sessizleştirilmesi sonucu kültür ortamındaki pre-inflamatuar sitokinlerin (IL1β, IL-6 ve TNFα) konsantrasyonlarını önemli ölçüde azalttığı; bu nedenle CoroMarker'ın inflamatuar yanıtta önemli bir role sahip olduğu, KAH tanısı için yeni ve spesifik bir fonksiyonel biyobelirteç olduğu saptanmıştır [17].

Yapılan bir çalışmada CoroMarker, koroner plak stabilitesi ile ilişkilendirilmiştir. CoroMarker'ın proinflamatuar aktivitelerinin koroner plak gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. CoroMarker ekspresyonu NLRP3 seviyesi ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuş, NLRP3 sinyal yolu ve inflamasyonla ilişkili süreçlerde önemli bir katılımcı olarak gösterilmiştir [18]. Bir başka çalışmada CoroMarker'ın sinyal iletimi, transmembran taşıma, sinaptik iletim ve doğal bağışıklık ile ilgili süreçlerde pozitif, inflamasyon ile ilgili süreçlerde negatif etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca CoroMarker'ın siRNA tedavisinin, kültür ortamındaki proinflamatuar sitokinlerin ve tümör nekroz faktörü α (TNF α) konsantrasyonlarını azalttığı gösterilmiştir [19]. Bununla birlikte, lncRNA Coromarker'ın inflamasyonun düzenlenmesini etkilediği spesifik moleküler mekanizmanın hayvanlar veya hücre hatlarını içeren çalışmalar kullanılarak daha fazla araştırılmaya ihtiyacı vardır [18].

Bu veriler ışığında çalışmamızın amacı, aterosklerozlu hastalarda (n=50 koroner arter hastalığı, n=50 periferik arter hastalığı) ve sağlıklı kontrollerde (n=100) uzun kodlamayan RNA

CoroMarker geninin ekspresyon düzeyini belirlemek ve plazma ox-LDL düzeylerini tespit etmektedir. Ateroskleroz gelişiminde inflamatuvar süreçler ile LDL oksidasyonu arasında bir ilişki bulunmaktadır. Çalışmamızda, CoroMarker geninin inflamasyon süreçlerindeki rolü ile ox-LDL kolesterol düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Yapılan literatür araştırmasında bu alanda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sonuçlarımızın literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

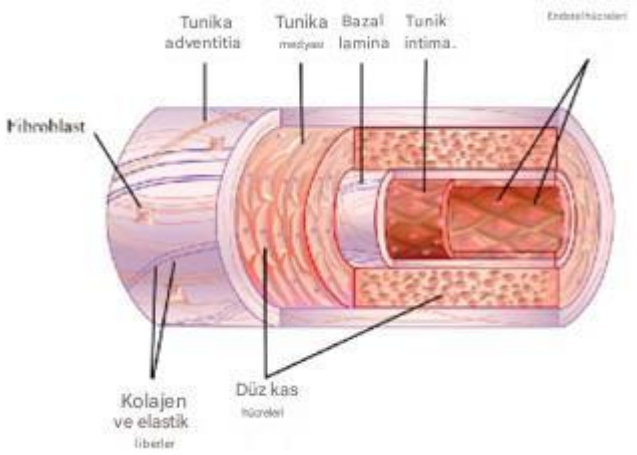
2.1. ATEROSKLEROZ

Ateroskleroz, hiperlipidemi ve lipid oksidasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan, aorttan koroner arterlere kadar tüm vasküler sistemin dahil olabildiği ve intimal plaklarla karakterize bir vasküler intima hastalığıdır [20]. Ateroskleroz terimi Yunanca kökenli olup, arterlerin intimal tabakasının kalınlaşması ve yağ birikimi anlamına gelmektedir. Yağlı materyal, plağın merkezi çekirdeğinde bulunur ve fibröz örtü ile kaplıdır. Ateroskleroz terimi iki kelimenin birleşmesi ile oluşmuştur; "ateroz" çok sayıda makrofajın eşlik ettiği yağ birikimi, "skleroz" ise düz kas hücreleri [SMC], lökosit ve bağ dokusundan oluşan fibrozis tabakası şeklinde ifade edilebilir [21].

Aterosklerozun başlaması ve ilerlemesi büyük ölçüde genetik faktörlere ve yaşam tarzına bağlı olsa da hücresel ve moleküler mekanizmalar hala net değildir. Son çalışmalar, makrofajlar, CD4+ ve CD8+ T hücreleri ve dendritik hücrelerin yanı sıra ısı şok proteini (HSP 60/65) ve okside LDL gibi otoantijenleri de içeren hücresel ve humoral bağışıklığın aterojenik lezyon oluşumunda önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Ayrıca, ateroskleroz mikrobiyal veya viral enfeksiyonla da ilişkili bulunmuştur [22].

2.1.1. Aterosklerozun Patogenezi

Kan damarlarının duvarları üç tabakadan oluşmaktadır. En içteki tabaka tunika intima, orta tabaka tunika media ve en dıştaki tabaka tunika adventisya veya tunika eksterna olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.1:). Tunika intimada tek bir basit skuamöz epitel tabakasından oluşan endotel, tip IV kolajen ve laminden oluşan bazal lamina ve gevşek bağ dokusundan oluşan subendotelyal tabaka olmak üzere üç ana bileşen bulunmaktaadır [23]. Tunika intimayı çevreleyen tunika media, ağırlıklı olarak tip I ve III kolajen ile damarın etrafında çevresel olarak düzenlenmiş düz kas hücrelerinin katmanlarından oluşan kaslı bir tabakadır [24]. Kan damarlarının en dış tabakası, esas olarak uzunlamasına kollajen doku ve bazı elastik liflerden oluşan gömülü fibroblastlar içeren gevşek bir bağ dokusu tabakası olan tunika adventisyadır [25].



Şekil 2.1: Damarların yapısı [26].

2.1.1.1. Endotel Fonksiyon Bozukluğu

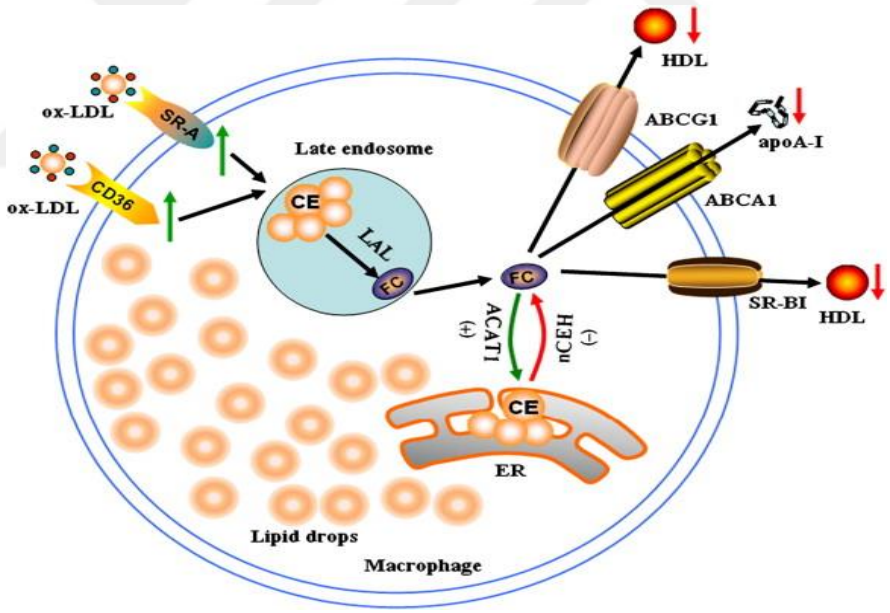
Boyut ve konsantrasyona bağlı olarak, plazma molekülleri ve lipoprotein partikülleri kusurlu endotelden subendotelyal boşluğa geçmektedir ve burada potansiyel olarak aterojenik lipoproteinler tutulmakta, modifiye edilmekte (örn. oksitlenmekte) ve sitotoksik, proinflamatuar, kemotaksik ve proaterojenik hale gelmektedir. Miyeloperoksidaz, 15-lipoksijenaz veya nitrik oksit sentaz (NOS) aracılı oksidasyonunun LDL'nin aterojenik modifikasyonuna neden olduğu düşünülmektedir [27]. Endotel, aterojenik ve proinflamatuar uyaranlarla aktive olmaktadır. Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) olmak üzere adezyon moleküllerinin ekspresyonu artmakta ve monositler ve T hücreleri bu moleküller tarafından toplanmaktadır. VCAM-1'in yanı sıra, hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), E-selektin ve P-selektin gibi diğer adezyon molekülleri de muhtemelen kan kaynaklı hücrelerin aterosklerotik lezyona alınmasına katkıda bulunmaktadır [28] [29].

Makrofajlarda interlökin-1 β (IL-1β) ve tümör nekroz faktör-α (TNF-α) üretimi artmaktadır. Vasküler düz kas hücreleri (VSMC) tunika mediadan intima tabakasına geçerek burada çoğalmaktadır. VSMC, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi düzenleyiciler ile prolifere olmaktadır. Subendotelyel alanda bulunan SMC'lerden elastin ve kollajen gibi matriks moleküllerinin üretimi başlar [30]. SMC'ler zengin ve karmaşık bir ekstraselüler matriks oluşturarak çeşitli oksidatif, hemodinamik, inflamatuar ve otoimmün sinyallere yanıt olarak matriks metalloproteinazları (MMP'ler) salgılamaktadırlar [31]. Hücre dışı matrisin proteoglikanlar gibi bazı bileşenleri lipoproteinleri bağlamakta, intimada kalış sürelerini uzatmakta ve onları oksidatif modifikasyona ve daha duyarlı hale getirmektedir [32].

Oksitlenmiş fosfolipidler ve ileri glikasyon son ürünleri de dahil olmak üzere bu lipoprotein modifikasyon ürünleri, enflamatuar yanıtı sürdürmekte ve ilerletmektedir [33].

2.1.1.2. Köpük Hücre Oluşumu

Makrofaj köpük hücreleri aterosklerozun oluşmasında ve gelişmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Bu hücrelerin oluşumu kolesterol girişi, esterleşme ve çıkışındaki dengesizlikle ilişkilidir (Şekil 2.2:). Makrofajlar üzerinde bulunan CD36 ve çöpçü reseptör sınıf A (SR-A) esas olarak lipoprotein kaynaklı kolesterolün alınmasından sorumludur [34]. Açil koenzim A: kolesterol açiltransferaz-1 (ACAT1) ve nötr kolesteril ester hidrolaz (nCEH) kolesterol esterleşmesini düzenlemektedir. ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcıları A1 (ABCA1), ABCG1 (ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcıları G1) ve çöpçü reseptörü BI (SR-BI) makrofaj kolesterol eksportunda önemli rol oynamaktadır. Kolesterol girişi ve esterleşmesi arttığında veya çıkışı azaldığında, makrofajlarda biriken ox-LDL sonucu aterosklerotik plakta prototipik hücreler olan lipid yüklü köpük hücrelerine dönüşmektedir [34].

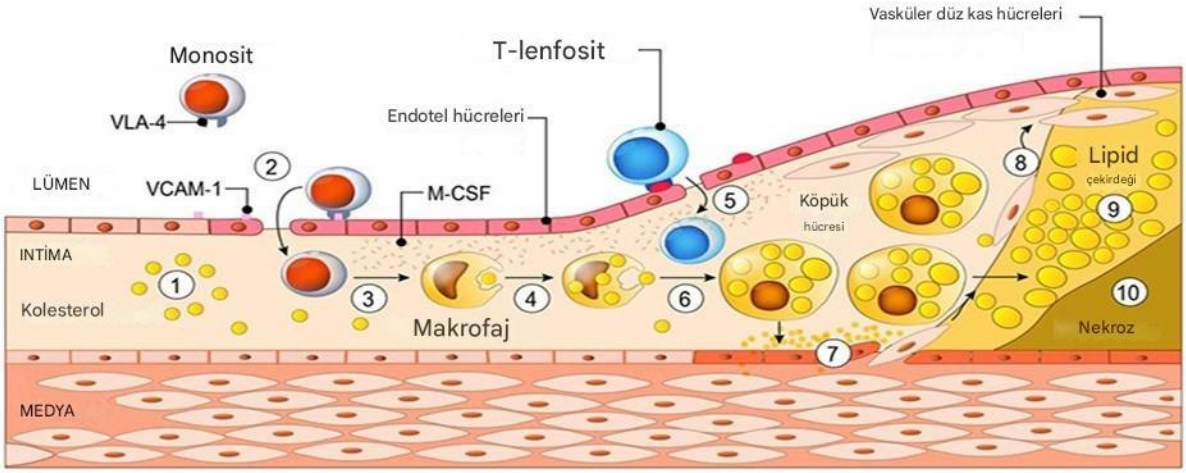


Şekil 2.2: Köpük hücre oluşumu [34].

2.1.1.3. Plak Oluşumu

Aterosikloretik plak gelişimi köpük hücreleri öldüğünde ve lipidi plak içinde yumuşak, istikrarsızlaştırıcı ve daha ziyade nekrotik bir çekirdek olarak bıraktığında hastalığa yol açmaktadır. Aterojenik lipoproteinler de köpük hücrelerine girmeden intima içinde tutularak birikebilir. Lipidten zengin ateromatöz çekirdek avasküler, hiposelüler, yumuşak ve

destekleyici kolajenden tamamen yoksundur [35] [36]. Lezyon ilerledikçe, kemik oluşumundakine benzer mekanizmalarla kalsifikasyon meydana gelebilmektedir [37]. Proliferasyona ek olarak, yerleşik aterosklerotik lezyonda yaygın olarak hücre ölümü (apoptoz dahil) meydana gelmektedir [38]. İlerlemiş aterosklerozda anjiyogenez sık görülmekteve yüksek riskli plakları karakterize edebilmektedir [39]. Plak gelişimi sırasında, intimal damar duvarındaki reaktif değişikliklerle vasküler yeniden şekillenme ve lüminal stenoz meydana gelebilmektedir [30]. Matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi kollajeni yıkan enzimlerin artışı sonucu inflamatuar hücreler birikerek aterosklerotik lezyonlarda rüptür meydana getirebilir. Yırtılma sonucu plağın trombojenik çekirdeği açığa çıkmaktadır [40] (Şekil 2.3:).



Şekil 2.3: Aterosklerozun patogenezi [41].

2.1.2. Ateroskleroz Gelişiminde Etkili Olan Risk Faktörleri

Aterosklerozun kesin nedenleri ve risk faktörleri tam olarak bilinmemektedir; ancak belirli koşullar, özellikler veya alışkanlıklar ateroskleroz gelişme olasılığını artırabilmektedir. Yüksek LDL kolesterol ve kanda düşük yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyi, hipertansiyon, sigara kullanımı, diabetes mellitus, obezite, sedanter yaşam tarzı, yaş gibi çoğu kontrol altına alınabilir risk faktörleri ateroskleroz gelişimini geciktirilebilmekte veya önleyebilmektedir [42]. Kardiyovasküler hastalıkları hızlandırdığı bilinen risk faktörlerinin prevalansının artması, koroner, serebrovasküler ve periferik arter hastalıkları gibi aterosklerozla ilişkili hastalıkların prevalansını da artırabilmektedir [43].

2.1.2.1. Hiperlipidemi

Lipid metabolizmasının değişmesi aterosklerozun bir risk faktörü ve karakteristik özelliğidir [44] [45]. Yüksek LDL kolesterol düzeylerinin ateroskleroza zemin hazırladığına, Yüksek HDL düzeylerinin ise koruyucu bir etkiye sahip olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır [46] [47]. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL) ve Apolipoprotein B (Apo-B) düzeylerinin yanı sıra daha düşük HDL kolesterol ve Apolipoprotein AI (Apo-AI) düzeyleri aterosklerotik kardiyovasküler hastalık (ASCVD) için artmış risk ile ilişkilidir [48].

2.1.2.2. İnflamasyon

Rudolph Virchow (1821-1902) koroner arterlerin histolojik preparatlarında enflamasyonu fark etmiş ve inflamasyonun aterosklerozda nedensel bir rol oynadığını öne sürmüştür. Bu önemli gözleme rağmen, araştırma ve ilaç geliştirme programlarının ana odağı yalnızca kolesterol olmuş ve inflamasyon zaman içinde daha az ilgi görmüştür [49]. Aterogenezin pasif bir kolesterol depolama hastalığından ziyade aktif bir süreç olarak kabul edilmesi, kilit inflamatuar mekanizmaların etkisini ortaya koymuştur. Deneysel çalışmalar, aterosklerozu teşvik eden moleküler ve hücresel inflamasyon yollarını aydınlatmıştır [50] [51].

2.1.2.3. Diabetes Mellitus

Diyabetik hastaların aterom plaklarında diyabetik olmayan hastalara kıyasla palmitik asit ve linoleik asit gibi yüksek düzeyde yağ asitleri bulunduğunu gösteren bilimsel kanıtlar ortaya konmuştur. Aynı zamanda diyabetli hastaların koroner tromboz şeklinde aterosklerotik kalp hastalıkları prevalansının yüksek olduğu da kanıtlanmıştır [52]. Tip 1 ve tip 2 diyabetin ateroskleroz gelişimini tetikleyebildiği veya ilerlemesini daha da hızlandırabildiği gösterilmiştir. Hastalık gelişimine eşlik eden yüksek glikoz seviyesi, dislipidemi ve diğer metabolik değişiklikler, aterojenik sürecin neredeyse her aşamasında ateroskleroz patogenezinde sıkı bir şekilde yer almaktadır [44]. Epidemiyolojik çalışmalar, insülin direncinin ve dislipidemi, sistemik hipertansiyon, obezite ve hiperkoagülabilite gibi tip 2 diyabet ile ilişkili metabolik değişikliklerin bir araya gelmesinin aterosklerozun erken başlangıcı ve şiddeti üzerinde etkili olduğunu göstermiştir [53].

2.1.2.4. Obezite

Obezite, ateroskleroz ve koroner arter hastalığında önemli bir role sahiptir. Obezite kalpte yapısal ve işlevsel değişikliklere yol açarak kalp yetmezliğine neden olmaktadır [54]. Obezitenin patolojik mekanizmaları, aterosklerozda iş başında olan inflamatuar süreçlerin birçok özelliğini tekrarlamaktadır [55].

2.1.2.5. Yaş

Yaşa bağlı aterosklerotik kardiyovasküler hastalık (ASCVD) riskinin temel öncülleri olarak azalmış insülin duyarlılığı ve bozulmuş vasküler endotel bağımlı dilatasyon gibi biyolojik mekanizmalar tanımlanmıştır [56] [57]. Yaşlanma, dolaşımdaki ve hücre içi IL-6 düzeylerinde yaşa bağlı yükselmelerle ilişkili olabilecek farklı mekanizmalar aracılığıyla aterosklerozun gelişimini ve ilerlemesini tetiklemektedir [58].

2.1.2.6. Homosistein

Yüksek plazma homosisteini, aterosklerotik vasküler hastalık için yeni bir risk faktörüdür ve ekstremite arterlerinde, koroner arterlerde ve serebrovasküler sistemde ilerleyici aterogenezle sonuçlanmaktadır [59]. Hiperhomosisteinemi, genetik mutasyon veya folik asit, B12 vitamini ve B6 vitamini eksikliğine bağlı olarak sistatiyonin-beta-sentaz ve metilentetrahidrofolat redüktaz enzim aktivitesinin yetersizliği veya azalması ile indüklenebilmektedir Homosisteinin homosistine oksidasyonuna hidrojen peroksit üretimi eşlik etmekte ve oksidatif stres yoluyla endotelde hasara yol açmaktadır [60].

2.1.2.7. Sigara Kullanımı ve Pasif İçicilik

Epidemiyolojik ve toksikolojik çalışmalar, ortam hava kirliliğinin ASCVD için bağımsız bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur [61]. Tütün dumanına maruz kalma gibi, hava kirleticilerinin temel bir bileşeni olan ortam partikül maddesinin (PM) de kardiyovasküler sistem üzerinde akut ve kronik etkileri bulunmaktadır. Ortamdaki PM'ye maruz kalmanın akut toksik etkilerine oksidatif stres, sempatoadrenerjik aktivasyon, endotel fonksiyon bozukluğu ve kanın pıhtılaşma özelliği üzerindeki etkileri aracılık etmektedir [62]. Sigara içmek ASCVD için kabul edilen bir risk faktörü olsa da pasif dumana maruz kalmanın sağlığa zararlı etkileri sıklıkla göz ardı edilmektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar, pasif içiciliğe kısa süreli maruz kalmanın bile akut miyokard enfarktüs (AMI) riskini %30 oranında artırdığını göstermektedir [63].

2.1.2.8. Hipertansiyon

Arteriyel hipertansiyon, ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. Aterogenezin ilerlemesinde oksidatif strese, endotel fonksiyon bozukluğu ve inflamasyon süreçleri görülmekte ve hipertansiyon da bu aşamaları tetikleyebilmektedir [64] [65]. İnsülin direnci de hipertansiyon ve ateroskleroz arasındaki nedensel ilişkide yer almaktadır, çünkü araştırmalar

hipertansiyon, glikoz intoleransı ve dislipidemisi olan hastalarda insülin direncinin merkezi bir rolü olduğunu göstermektedir [66].

2.1.2.9. İnsülin Direnci

Son yıllarda, insülin direnci ve endotel fonksiyon bozukluğu ateroskleroz patogenezinde merkezi bir rol oynadığı anlaşılmıştır [67] [68]. İnsülin direnci, diyabet ve aterosklerotik hastalıkta gözlenen glukotoksisiteyi açıklamaktadır. Glukotoksisite, glikoz metabolizmasının glikolitik yoldan sorbitol, hekzosamin ve AGE yolları dahil olmak üzere minör glikoz metabolizması biçimlerine kaymasına bağlıdır. Bu yollar oksidatif stresi artırır ve/veya insülin sinyalini bloke ederek insülin etkisinin daha da azalmasına yol açmaktadır [69].

2.1.2.10. Trigliserid düzeyi

Geniş popülasyon temelli araştırmalar sürekli olarak yüksek trigliseritlerin artmış rezidüel kardiyovasküler risk ile ilişkisini göstermektedir. Bu durum, trigliseritten zengin lipoprotein (TRL) metabolizmasını etkileyen trigliserit yükseltici veya düşürücü genetik varyantlar ile kardiyovasküler risk arasında bağımsız bir ilişki olduğunu gösteren genetik çalışmalarla daha da pekişmiştir [70]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, kardiyovasküler hastalık ile trigliserit bileşenleri (apolipoproteinler A-V, C-I, C-III gibi) ve anjiyopoietin benzeri proteinler gibi metabolizma yolunda yer alan proteinler arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, kalıntılar olarak da bilinen trigliseritten zengin lipoproteinler son zamanlarda aterogenez ile ilişkilendirilmiştir [71].

2.1.2.11. CRP Düzeyi

C-reaktif protein (CRP) ateroskleroz için önemli bir biyobelirteçtir ve CRP lokusundaki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) değişen CRP düzeyleri ile ilişkili bulunmuş ve kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, CRP genindeki genetik varyasyonlar, östrojen kullanımı ve CRP düzeyleri veya genç sağlıklı bireylerde aterosklerozun erken belirtileri arasındaki ilişki tam olarak tanımlanmamıştır [72] [73].

2.1.2.12. Sedanter Yaşam

Fiziksel aktivite eksikliği bağışıklık sistemini ve ateroskleroz riskini büyük ölçüde etkilemektedir [74] [75]. Ateroskleroz tehlikesinin olumsuz etkilerini azaltmada önemli bir etkiye sahip olan fiziksel aktivite yüksek verimliliği, basitliği ve düşük maliyeti ile sedanter yaşamın etkilerini azaltmaya yardımcı olmaktadır [76].

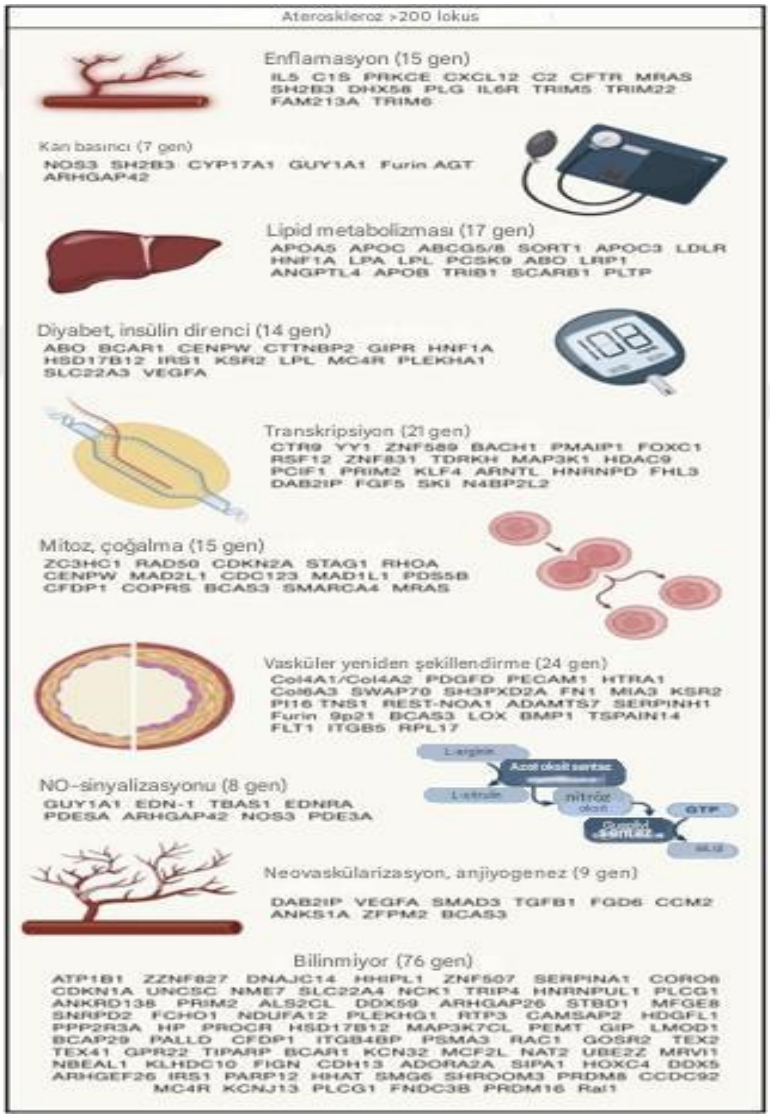
2.1.2.13. Psikososyal Stres

Kronik stres ateroskleroz için bilinen bir risk faktörüdür [77] [78]. Örneğin; savaş gazilerinde travma sonrası stres bozukluğu uzun vadede aterosklerotik olay riskini artırmaktadır [79]. Koroner arter kasifikasyonu ile ölçülen subklinik ateroskleroz ile yaşam stresi arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır; ancak mevcut çalışmalar özellikle davranışsal faktörler kontrol edildikten sonra, bu ilişkinin zayıf olduğunu veya hiç olmadığını göstermektedir [80] [81].

2.1.3. Ateroskleroz Gelişiminde Genlerin Kritik Rolü

Aterosklerotik sürecin genetik etkisini kanıtlamak için son yıllarda çeşitli yaklaşımlar öne sürülmüştür (Şekil 2.4:) [82]. Yapılan araştırmalara göre monogenik kalıtım gösteren (Mendelian) hastalıklar, aterosklerozda genetik etkinin önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar [83]. Örneğin; ailesel hiperkolesterolemi, yüksek plazma kolesterol seviyelerine neden olduğu gösterilen ilk monogenik hastalıktır [84]. PCSK9 (Proprotein konvertaz subtilisin/keksin tip 9) ApoB-100 (Apolipoprotein B), ABCA1 genlerindeki mutasyonlar ailesel hiperkolesterolemide etkili olmaktadırlar [85] [86] [87]. Aterosklerozun genetik temelinin anlaşılması, aday genlerin belirlenmesi, in vitro, in vivo ve ilişki çalışmalarında elde edilen aterosklerozla ilişkili genlerin belirlenmesi ile mümkün olmuştur [88]. Aday genlere iyi bir örnek apolipoprotein E'dir (apoE). ApoE geni 19q13.2 kromozomunda bulunmaktadır [89] [90]. Apo E ve CYBA genlerindeki polimorfizmler hastalığın moleküler mekanizmasının anlaşılmasında önemli bir yere sahiptir [91] [92]. Ayrıca matriks metalloproteinaz 9 (MMP 9) C>T polimorfizmlerinin ateroskleroz gelişme riski ile güçlü bir ilişkisi olduğu bulunmuştur [93]. Son zamanlarda genom bağlantı çalışmaları ve tüm genom ilişkilendirme çalışmaları (WGA) nadir ve ortak alelleri tesbit etmek için kullanılmaktadır. Örneğin; makrofajlar tarafından üretilen ve lipid molekülü araşidonik asidin lökotrienlere dönüştürülmesinde önemli bir enzim olan 5-lipoksijenazın farede yapılan genetik ve knockout çalışmalarında plak büyümesini teşvik etmede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir [94] [95]. Ayrıca transkripsiyon faktörleri aterosklerotik lezyon oluşumu sırasında VSMC düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Transkripsiyon faktörlerinin artırılması veya inhibe edilmesi sonucu VSMC'ler fenotipik değişim, proliferasyon, migrasyon, kalsifikasyon ve apoptozise uğrayabilmektedir [96]. WGA çalışmaları ADIPOQ lokusundaki (adiponektin yapısal geni) DNA varyasyonunun plazma adiponektin düzeylerini etkilediğini desteklemektedir. Ayrıca, bu analizler ADIPOQ lokusundaki SNP'lerin tüm genom boyunca adiponektin varyasyonu ile en güçlü şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir [97]. Vasküler

hastalıkların araştırılmasında transgenik hayvan, modelleri kullanılarak homolog rekombinasyon ile gen hedefleme ve in vivo gen transferi çalışmaları da yapılabilmektedir [98]. Aterosklerozda en sık kullanılan fare modelleri Apo E ve LDLR eksikliği olan farelerin Batı diyetiyle ya da yüksek yağlı ve kolesterollü bir diyetle beslendiği modellerdir [99]. Diş sağlığı ile mikrobiyom arasındaki ilişkileri inceleyen araştırma sonuçları dikkat çekicidir. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) kullanarak yapılan bir araştırmada aterosklerotik plakta bakteri DNA'sı saptanmış ve ardından 16S rRNA genlerinin aterosklerotik plakta ve aynı bireyin oral veya bağırsak örneklerinde çeşitli bakteri filotiplerinin ortak olduğu gösterilmiştir [100].



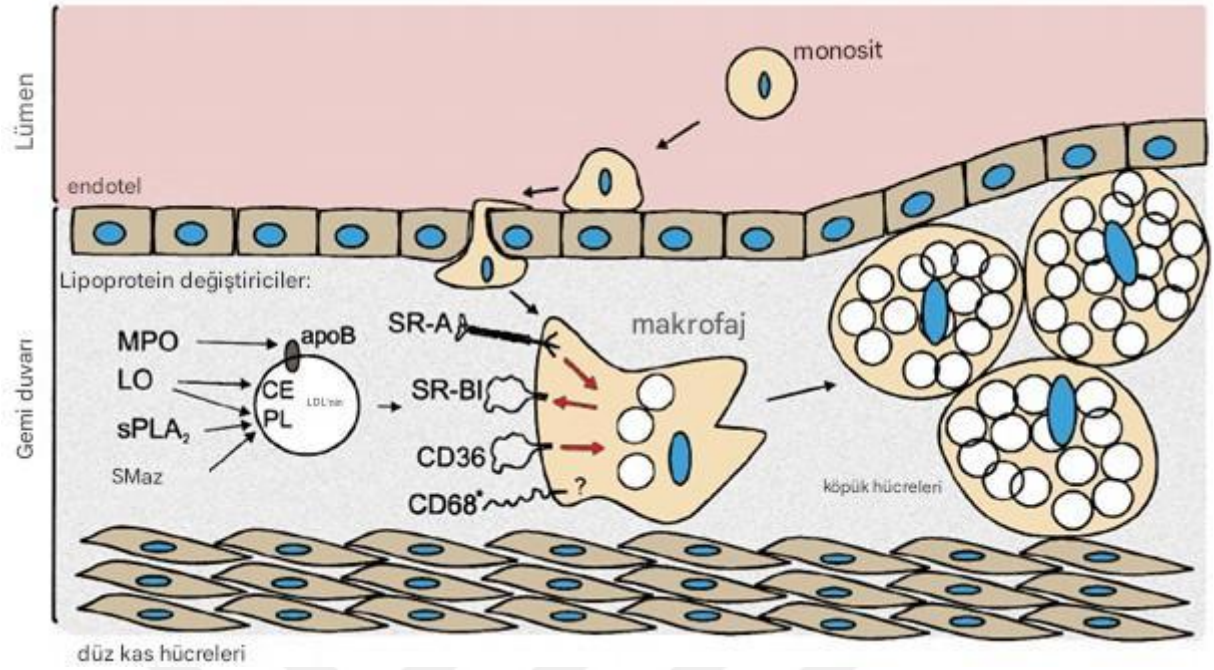
Şekil 2.4: Aterosklerozun genetik lokusları [101].

2.2. OKSİDE LDL

Ateroskleroz günümüzde kronik inflamatuar bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Aşırı ROS oluşumuyla indüklenen oksidatif stres, aterosklerozda kritik bir mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır [102]. Kanda çok sayıda anti-oksidan bulunmasına rağmen, Okside LDL (ox-LDL) sadece aterosklerotik plak içinde değil, aynı zamanda plazma veya serumda da tanımlanabilmektedir [103]. Ateroskleroz sürecini aydınlatmak için öne sürülen kavramlar arasında oksidatif modifikasyon hipotezi çalışmalarda daha fazla araştırılmaktadır [104]. Ox-LDL lökositlerin (monositler ve T hücreleri) yuvarlanmasına ve yapışmasına aracılık eden çeşitli hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükleyerek endotel hücrelerini (EC) aktive etmekte; endotele yapıştıktan sonra lökositler kemokinlere yanıt olarak intimaya göç etmektedirler. Monositler daha sonra hem makrofaj aktivasyonunda rol oynayan Toll benzeri reseptörleri (TLR) hem de apoptotik hücre parçalarını, bakteriyel endotoksinleri ve ox-LDL'yi içselleştirerek lipid birikimine neden olmaktadırlar [105]. Buna ek olarak, ox- LDL, lizofosfatidil-kolin ve oksitlenmiş yağ asitleri sadece bu adezyon moleküllerinin değil aynı zamanda CD-36, SR-A ve LOX-1 gibi çöpçü reseptörlerin de ekspresyonunu indüklemektedir [106]. Makrofaj aktivasyonu proinflamatuar sitokinlerin, ROS'un, matriks yıkımında rol oynayan proteolitik enzimlerin salınımına ve dolayısıyla aterosklerotik plak destabilizasyonuna yol açmaktadır. T hücreleri, antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan lokal peptit antijenlerine yanıt vererek aktive olmakta ve proinflamatuar sitokinleri salgılanmaktadır [105].

2.2.1. Okside LDL Reseptörleri

Kimyasal olarak modifiye edilmiş proteinler ve bunların reseptör sistemleri 1979 yılında Goldstein ve Brown tarafından aterogenezdeki önemli adımlardan biri olan köpük hücre oluşumunda rol oynayan asetillenmiş LDL için reseptör önerisine dayanmaktadır. Daha sonra, temsili bir ligand olarak Ox-LDL kullanılarak yapılan kapsamlı çalışmalar, topluca çöpçü reseptör ailesi (SR) olarak kategorize edilen reseptörleri ortaya çıkarmıştır [107]. Ox-LDL ligandının bağlandığı makrofajlarda ifade edilen farklı çöpçü reseptör süpergen aileleri beş grup altında toplanmaktadır. Bunlar SR-A (SR-AI, SR-AII, SR-AIII, MARCO), SR-B, (SR-BI, SR-BII, CD36), SR-C (DSR-CI), SR-D (Macrosialin) ve SR-E (LOX-1) dahil olmak üzere çeşitli reseptörlere bağlanma yoluyla etki etmektedirler [108] [109] [110] (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Ox-LDL reseptörleri [111].

2.2.1.1. SR-A

SR-A, 77-kDa'lık bir hücre yüzeyi glikoproteinidir. İnsanda SR-A genleri kromozom 8 üzerinde bulunmakta ve sırasıyla üç (SR-AI/II/III) ve iki SR-A ek varyantı üretmek için transkribe edilebilmektedirler. SR-A makrofajlarda yüksek oranda eksprese edilmekte ve ox-LDL'nin makrofajlara alınmasına aracılık etmektedir [112]. Makrofaj indükleyici faktörlerin bloke edilmesi veya SR-A ve CD36 gibi makrofajlar üzerindeki çöpçü reseptörlerinin bozulması ateroskleroz ilerlemesini engelleyebilmektedir [22].

2.2.1.2. SR-B

SR-B sınıfı çöpçü reseptörlerinin SR-BI, SR-BII, CD36 gibi üyeleri bulunmaktadır [110].

Çöpçü reseptör sınıf B tip I (SR-BI) proteini, integral bir membran glikoproteinidir. SR-BI otofaji, efferositoz, hücre sağkalımı ve inflamasyonu düzenleyen çok işlevli bir proteindir. SR-BI'nin kolesteril esterlerin seçici alımına ve serbest kolesterolün çift yönlü akışına aracılık ederek lipoprotein metabolizmasında kritik bir rol oynadığı iyi bilinmektedir [113] [114]. Hepatik SR-BI, HDL kolesterolün safraya yönlendirilmek üzere alınması yoluyla ters kolesterol taşınmasına (RCT) aracılık etmektedir. Makrofaj ve endotelyal hücre SR-BI,

aterosklerotik lezyondaki köpük hücre oluşumunu en aza indirmek için kolesterol trafiğine aracılık ederek ateroskleroz gelişimini engellemektedir [114].

SR-BII, SR-BI ile benzer dokularda eksprese edilmekte; ancak muhtemelen mRNA kararsızlığından dolayı çok daha düşük bir seviyededir. SR-BI gibi, SR-BII de HDL'den kolesteril esterin seçici alımına aracılık etmekte, hücrelerden HDL'ye kolesterol akışını kolaylaştırmakta ve geçici in vivo olarak aşırı eksprese edildiğinde plazma HDL düzeylerini düşürmektedir. Ancak lipid transferinin etkinliği SR-BI'ye göre daha düşüktür [115].

CD36, ox-LDL için yüksek afiniteli bir reseptör olarak işlev görmektedir. CD36 ilk olarak SR sınıf B ailesine ait 88 kDa ağır glikozillenmiş bir transmembran proteini olan trombosit glikoprotein olarak tanımlanmıştır. İki transmembran ve iki sitoplazmik alan tarafından kuşatılmış bir hücre dışı alandan oluşmaktadır. Ox-LDL'nin CD36'ya bağlanması, klatrin aracılı veya kaveolin ile hücre içine alınma yollarından farklı olarak lipid salları yolu aracılığıyla endositozla hücre içine alınmaktadır. Ox-LDL'nin aterosklerozdaki patojenik rolü büyük ölçüde CD36'ya bağlıdır [116]. CD36, miyokard dokusunda ana metabolik substrat olan uzun zincirli yağ asitlerinin alımında önemli bir rol oynamaktadır. CD36'nın olgunlaşması ve taşınması fosforilasyon, ubikitinasyon, glikozilasyon ve palmitoyilasyon dahil olmak üzere post-translasyonel modifikasyonlarla düzenlenmektedir. CD36, iskemi-reperfüzyon ve aşırı basınç yüklenmesinin neden olduğu patolojik kardiyak hipertrofide azalmakta ve diyabetik kardiyomiyopati ve aterosklerozda artmaktadır [117] [118].

2.2.1. 3. SR-C

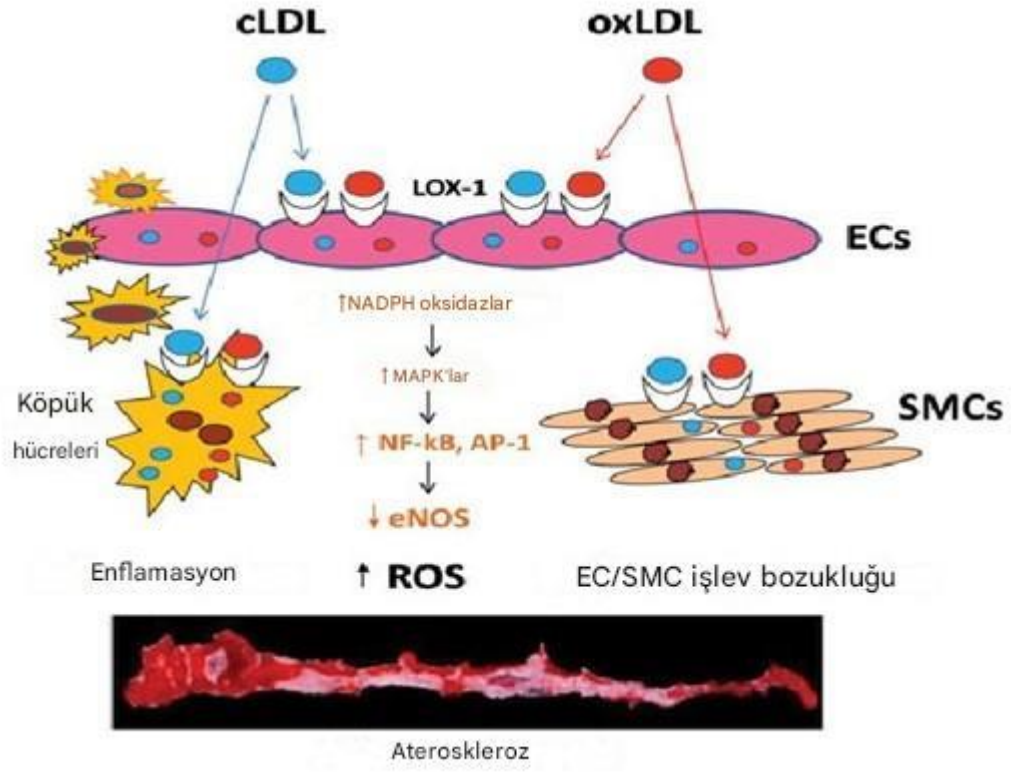
SR-C reseptörleri, patojenlere karşı konak savunmasında birçok önemli rol oynayan önemli bir çöpçü reseptörleri sınıfıdır. Bu reseptör sınıfı yalnızca birkaç omurgasızda tanımlanmıştır [119]. Çöpçü reseptörü C tipi lektin (SRCL), oksitlenmiş lipoproteinlere yönelik bağlanma bölgelerine ek olarak, spesifik glikanlarla etkileşime giren bir C tipi karbonhidrat tanıma alanını da (CRD) içermektedir. Hem insan hem de fare SRCL'si, yaygın olarak lökositlerin ve bazı tümör hücrelerinin yüzeylerinde bulunan Lewis x trisakkaritine karşı oldukça spesifiktir [120]. C sınıfına ait dSR-CI çöpçü reseptör ise Drosophila melanogasterde makrofajlara özgü bir çöpçü reseptör olarak tanımlanmıştır [121].

2.2.1.4. SR-D

CD68 rutin olarak monosit/makrofajların katılımıyla ilişkili inflamasyonun histokimyasal/sitokimyasal belirteci olarak kullanılmaktadır [122]. İnsan CD68 ve farelerdeki anoloğu makrosialin, D tipi çöpçü reseptör ailesinin bir üyesi olarak kabul edilmektedir; çünkü CD68, inflamatuar uyaranlara yanıt veren makrofajlarda önemli ölçüde yukarı doğru regüle edilmekte ve modifiye edilmiş LDL' yi bağlayabilmektedir [123] 124] [125].

2.2.1.5. SR-E

LOX-1, E tipi çöpçü reseptör ailesinin bir üyesi olup ilk olarak EC'lerde başlıca ox-LDL reseptörü olarak tanımlanmıştır [126]. Ox-LDL, LOX-1 aracılığıyla endotel hücreleri, makrofajlar, trombositler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri gibi çok sayıda hücre üzerinde etkili olarak aterosklerozda merkezi bir rol oynamaktadır [127]. LOX-1, kısa bir N-terminal sitoplazmik alan, bir transmembran alan, reseptör oligomerizasyonunu düzenleyen bir boyun bölgesi ve bir ekstraselüler C-tipi lektin benzeri alandan oluşan tip II integral membran glikoproteinidir [128] (Şekil 2.6:).



Şekil 2.6: LOX-1 reseptörü [129].

2.3. KORONER ARTER HASTALIĞI

Koroner arter hastalığı (KAH), küresel insan nüfusunu etkileyen başlıca kardiyovasküler hastalıklardan biridir. Bu hastalığın hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde başlıca ölüm nedeni olduğu kanıtlanmıştır [10]. Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) 2019 yılında kronik koroner sendromların (CCS) tanı ve yönetimi için kılavuzlar yayınlamıştır. Böylece "stabil koroner arter hastalığı" terimi yerini CCS terimine bırakmıştır. CAD, obstrüktif veya obstrüktif olmayan epikardiyal arterlerde aterosklerotik plak birikimi ile karakterize patolojik süreç olarak tanımlanmıştır [130].

Yaşam tarzı, çevresel faktörler ve genetik faktörler kardiyovasküler hastalık gelişimi için risk faktörleri oluşturmaktadır [10]. Diyabet, KAH için üç ila dört kat artmış risk ile ilişkilendirilmektedir ve diabetli hastalar sıklıkla anormal plazma lipid profiline sahiptirler. Özellikle Tip 2 diyabet KAH riskini arttırmaktadır [131]. Lipoproteinler de kardiyovasküler hastalık için önemli bir bağımsız risk faktörü olarak dikkat çekmektedir [132]. KAH nedeniyle ölüm riski yaşlanmayla birlikte önemli ölçüde artmaktadır. Sistolik kan basıncı yaşla birlikte ortaya çıkan bazı ek KAH risklerini açıklayan en önemli değiştirilebilir risk faktörüdür [133]. Birçok ülkede ve çeşitli, büyük gruplar üzerinde yürütülen çok sayıda bilimsel araştırmanın sonuçları her iki cinsiyetten sağlıklı yetişkin insanlarda orta yoğunlukta sistematik fiziksel aktivitenin KAH'ı önlemede ve bu nedenle ölüm riskini azaltmada önemli bir rol oynadığını kanıtlamıştır [76] [134]. Yüksek yaşam stresine sahip bireyler arasında kardiyovasküler hastalık olaylarının görülme riski, hipertansiyon ve obezite gibi geleneksel faktörlerle ilişkilidir [135]. Periodontal hastalıklar da ateroskleroz ile ilişkilendirilmiştir, bu da ağız boşluğundaki bakterilerin ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bağırsak mikrobiyomu kaynaklı kolin, betain ve trimetilamin-N-oksit metabolitlerinin KAH varlığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, daha yüksek trimetilamin-N-oksit düzeyleri, koroner anjiyografi için sevk edilen hastalarda olumsuz kardiyovasküler olay riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir [136] [137].

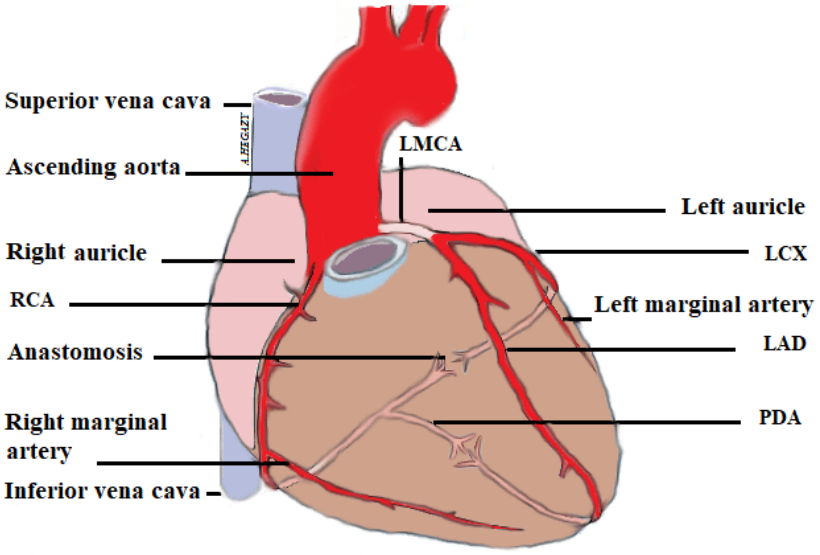
KAH dünya çapında kardiyovasküler mortalitenin önde gelen nedenidir ve gelişmekte olan ülkelerde her yıl >4,5 milyon ölüm meydana gelmektedir. Gelişmiş ülkelerde son zamanlarda görülen düşüşe rağmen, gelişmekte olan ülkelerde hem KAH mortalitesi hem de KAH risk faktörlerinin prevalansı hızla artmaya devam etmektedir [138] [139]. KAH 2015 yılında 8,9 milyon ölüm ve 164 milyon engelli kalma durumundan sorumludur [140]. Avrupa

Birliği REACH (Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması) kayıtlarından elde edilen dünya çapındaki veriler ortalama yaş, cinsiyet ve coğrafi konuma göre KAH prevalansının yaklaşık %5-8 olduğunu belirtmektedir. KAH olan hastaların %18-35'inde ve bir veya daha fazla damarda hastalık olduğunu göstermiştir [141]. Amerikan Kalp Derneği (AHA) tarafından 2009-2012 yılları arasında yapılan bir ankete göre KAH prevalansı 15,5 milyon olarak tahmin edilmiştir. Buna göre ABD'de erkeklerin %7,6'sı ve kadınların %5,0'i KAH hastasıdır [142]. Fransa'da ONACI kayıtlarından alınan verilere göre KAH insidansı 45-65 yaş arası erkeklerde yılda yaklaşık %1 ve aynı yaştaki kadınlarda biraz daha yüksek, cinsiyetten bağımsız olarak 75-84 yaş arası hastalarda yaklaşık %4 olarak tahmin edilmiştir [143]. Erkek ve kadın hastalar arasında kardiyovasküler hastalıkların mekanizması, prognozu ve tedaviye yanıttaki heterojenite farklılıkları bulunmakdır. Davranışsal, kültürel ve toplumsal faktörler altta yatan biyolojik kardiyovasküler sağlık farklılıklarını yaratabilmekte ve güçlendirebilmektedir [144].

2.3.1. Koroner Arter Hastalığının Patogenezi

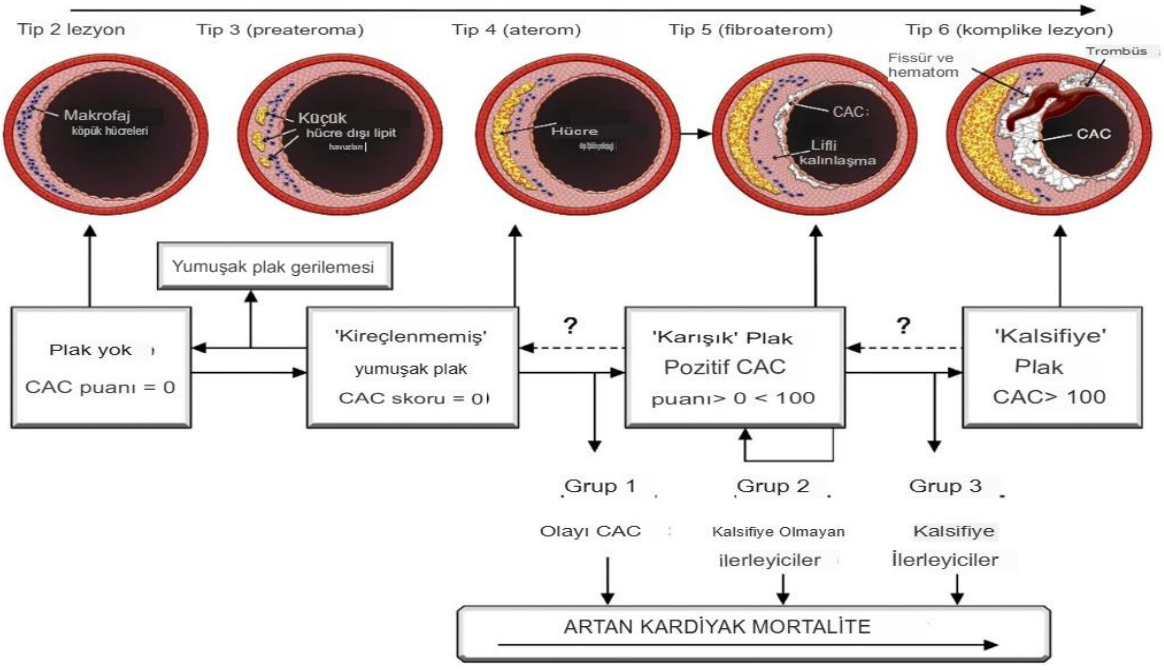
İki koroner arter, aortun kökünde aort yarım ay kapağını takip eden Valsalva'nın üç aort sinüsünün ikisinden köken almaktadır. Sağ koroner arter (RCA) sağ önde yer alan sinüsten, sol ana koroner arter (LMCA) ise sol arka sinüsten kaynaklanmaktadır [145]. LMCA, sol ön inen koroner arter (LAD) ve sol sirkumfleks arter (LCX) olarak ikiye ayrılmakta, kalbin sol yanını ve sol akciğeri beslemektdir [146] [147]. Miyokarda arteriyel kan akımının dağılımı değişkendir. Bununla birlikte, RCA çoğunlukla sağ ventrikülü beslerken, sol koroner arter sol ventrikülün ön duvarını ve inter ventriküler septumun ön kısmını beslemektedir [148] (Şekil 2.7:).

KAH oldukça yaygın bir durumdur ve ateroskleroz altta yatan nedeni oluşturmaktadır [149]. Bu ilerleyici durum hastalıklı bir endotel, düşük dereceli inflamasyon, lipid birikimi ve damar duvarının intimasında plak oluşumu ile karakterizedir [150].



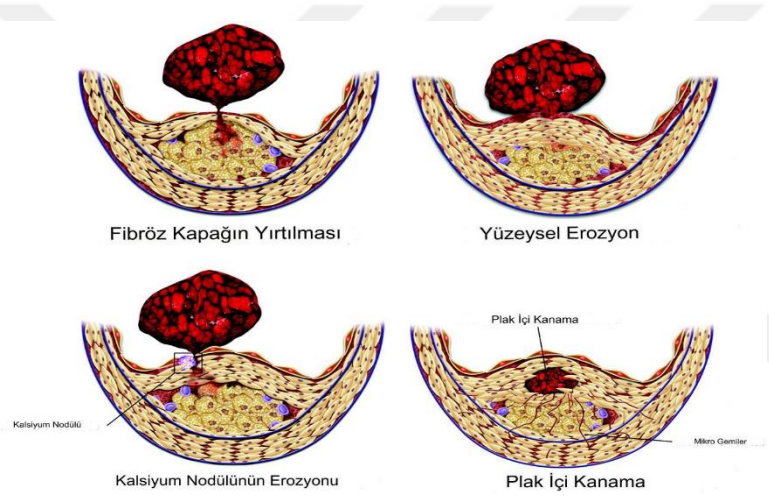
Şekil 2.7: Koroner arterlerin anatomisi [151].

Aterosklerotik plaklarda fokal kalsifikasyon çok yaygındır ve yaşla birlikte artma eğilimi göstermektedir. Toplam kalsifikasyon miktarı- koroner arter kalsiyum skoru- koroner plak yükünün gerçek bir belirtecidir ve prognostik bilgi sağlamakatadır [152] [153]. Yapılan çalışmalarda koroner arter kalsifikasyonu ile koroner aterosklerotik plak yükü arasında korelasyon bulunmaktadır [154] (Şekil 2.8:).



Şekil 2.8: Koroner arter kalsifikasyonun patafizyolojisi [155].

Fibröz kapağın yırtılması, yüzeysel erozyon ve bir kalsiyum nodülünün erozyonu plak bozulması ve tromboza neden olabilmektedir. Ayrıca, aterosklerotik plağın tabanındaki kırılgan mikrodamarlar yırtılabilmekte ve plak içi kanamaya neden olabilmektedir. Bunun sonucunda lokal trombin oluşumu SMC proliferasyonunu, göçü ve kolajen sentezini uyararak fibrozisi ve subakut bazda plak genişlemesini teşvik edebilmektedir. Şiddetli plak içi kanama akut olarak da kitle etkisi ile ani lezyon genişlemesine neden olabilmektedir [2] (Şekil 2.9:). Plak yırtılması veya erozyonu, üst üste binen aterotrombozu ve ardından damar tıkanıklığını tetikleyerek kardiyovasküler hastalıklar, miyokard enfarktüsü (MI) ve daha da ilerleyerek ölüme yol açabilmektedir [156].



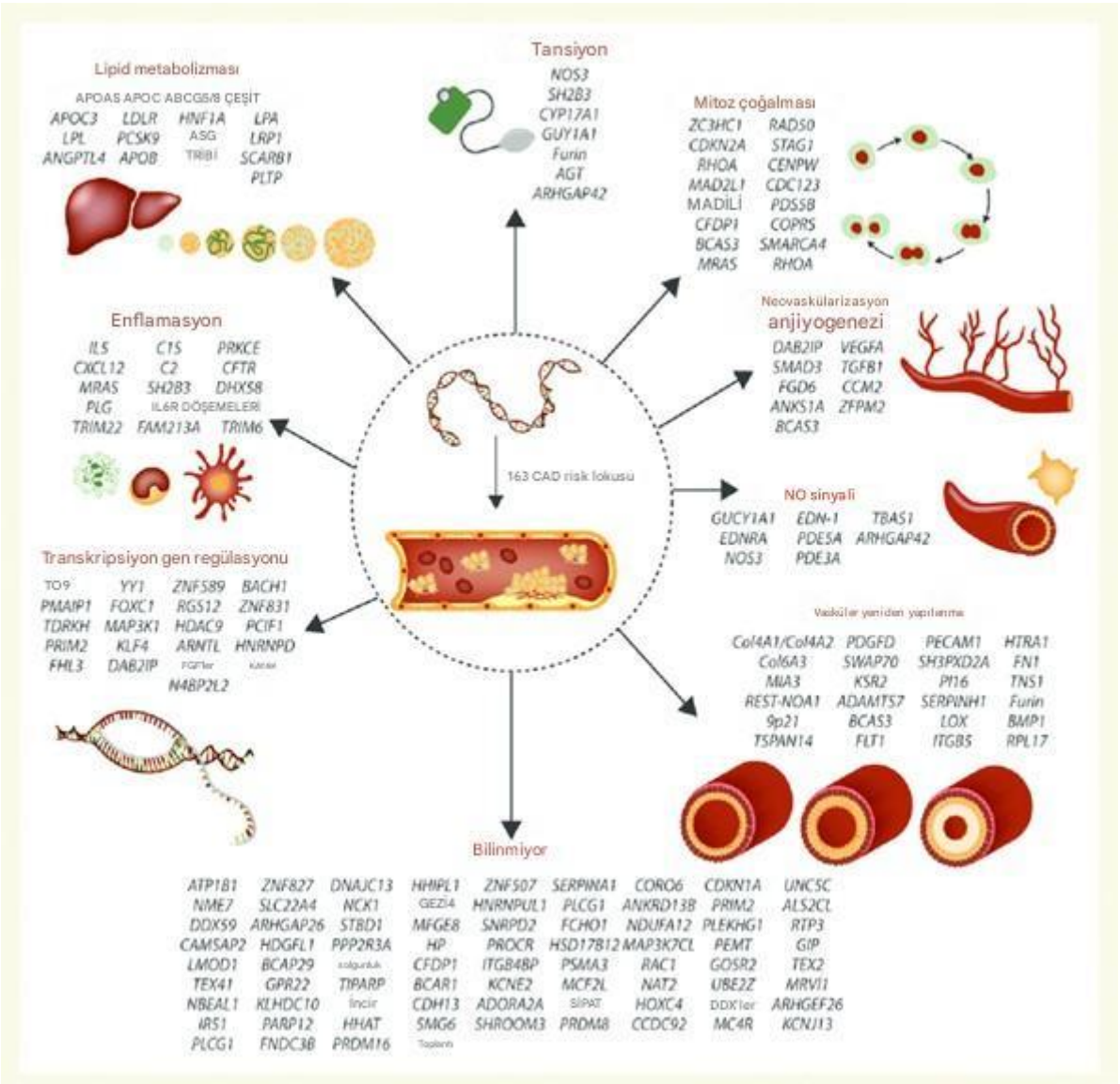
Şekil 2.9: Koroner arter trombozunun mikroanatomisi [157].

2.3.2. Koroner Arter Hastalığının Genetiği

KAH'ın moleküler mekanizmasını etkileyen çok fazla sayıda genetik lokus bulunmaktadır. Bu lokuslar arasında lipid metabolizması, inflamasyon, kan basıncı, mitoz ve proliferasyon, anjiyogenez, Nitrik oksit (NO) sinyalleşmesi, vasküler yeniden şekillenme ve transkripsiyonun düzenlenmesi ile iişkilendirilmiş bölgeler yer almaktadır [159]. Uzun zamandır kalıtsal olduğu kabul edilen KAH'a ilişkin aile çalışmaları LDLR ApoB, PCSK9 ve 15q26 lokusunda yer alan MEF2A (transkripsiyon faktörü miyosit arttırıcı faktör 2A), yaygın varyant ilişkilendirme çalışmaları siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CDKN2A ve CDKN2B), ANRIL (INK4 Lokusunda Antisens Kodlamayan RNA) de dahil olmak üzere çok sayıda genetik lokus koroner risk ile ilişkilendirmiştir. Büyük ölçekli gen dizileme çalışmaları ve fonksiyonel çalışmalar, nedensel risk faktörlerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır [160].

Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları KAH'ın erken başlangıcında 9p21.3 kromozom ilişkisini ortaya koymuştur [10] (Şekil 2.10:).

LOX-1, kromozom 12p13 lokusunda kodlanan oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein lektin benzeri reseptör 1 geni (OLR1) tarafından kodlanmaktadır. Bazı çalışmalarda OLR1 genindeki polimorfizmlerin miyokard enfarktüsüne (MI) yatkınlık ile ilişkisi bildirilmiştir [158].



Şekil 2.10: Koroner arter hastalığı ile ilişkili genetik lokuslar [159].

2.3.3. Koroner Arter Hastalığında Tanı ve Tedavi

KAH'ta tanı, stabil ve aralıklı göğüs ağrısının değerlendirilmesi ile belirlenmektedir. Akut göğüs ağrısının değerlendirilmesinde elektrokardiyogram, miyokard enfarktüsü tanısı için en yararlı belirleyicidir [161]. Kateter bazlı koroner anjiyografi ise şu anda semptomatik hastalarda obstrüktif KAH tanısı için bir standart olarak görülmektedir [162] [163]. Noninvaziv görüntüleme testleri, KAH tanısında, risk sınıflandırmasında ve revaskülarizasyon için rehberlik sağlamada önemli bir rol oynamaktadırlar. Tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi ve pozitron emisyon tomografisini içeren miyokardiyal perfüzyon görüntüleme yöntemleri bu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır [164]. KAH tıbbi tedavisinin hedefleri, hastalığın doğal seyrini değiştirmek ve anjina semptomlarını iyileştirmektir. Noninvaziv koroner arter görüntülemedeki gelişmeler, subklinik hastalığın erken tespitini geliştirmiştir [165]. KAH tedavisindeki en önemli tarihsel gelişmeler farmokolojik tedavinin yanı sıra koroner arter baypas greftleme (CABG), perkütan koroner girişim (PCI) ve lipid düşürücü ilaçların geliştirilmesidir [166].

2.4. PERİFERİK ARTER HASTALIĞI

PAH, alt ekstremitelerdeki arterlerin aterosklerotik daralması veya tıkanması sonucu ortaya çıkan ciddi bir kardiyovasküler hastalıktır [167]. PAH' ın alt ekstremitelerde görülen vaskülit, displastik sendromlar, dejeneratif durumlar, tromboz ve tromboembolizm gibi birçok nedeni bulunmaktadır; ancak en yaygın olanı aterosklerozdur [168] [169]. Bacak iskemisinin nadir nedenleri arasında popliteal tuzak sendromu, kistik adventisyal hastalık, arterit ve arter endofibrozisi yer almaktadır [170] [171]. KAH veya inme öyküsü olmayan semptomatik PAH hastaları, miyokard enfarktüsü veya inme geçiren ancak bilinen PAH'ı olmayan hastalara kıyasla gelecekteki kardiyovasküler hastalıklar açısından iki kat daha fazla riske sahiptirler [172].

PAH dünya çapında 200 milyondan fazla insanı etkilemektedir. Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 8 milyondan fazla kişi PAH 'dan etkilenmektedir [141]. GBD 2017'nin (Hastalıkların, Yaralanmaların ve Risk Faktörlerinin Küresel Yükü Çalışması 2017) 1990'dan 2017'ye kadar 195 ülke ve bölgede 354 değişken için insidans, prevalans ve engellilikle yaşanan yılların kapsamlı bir değerlendirmesini yaptığı araştırma sonucuna göre PAH' ın küresel prevalansı 120 milyon, küresel kardiyovasküler hastalık yükü %25,6 ve genel

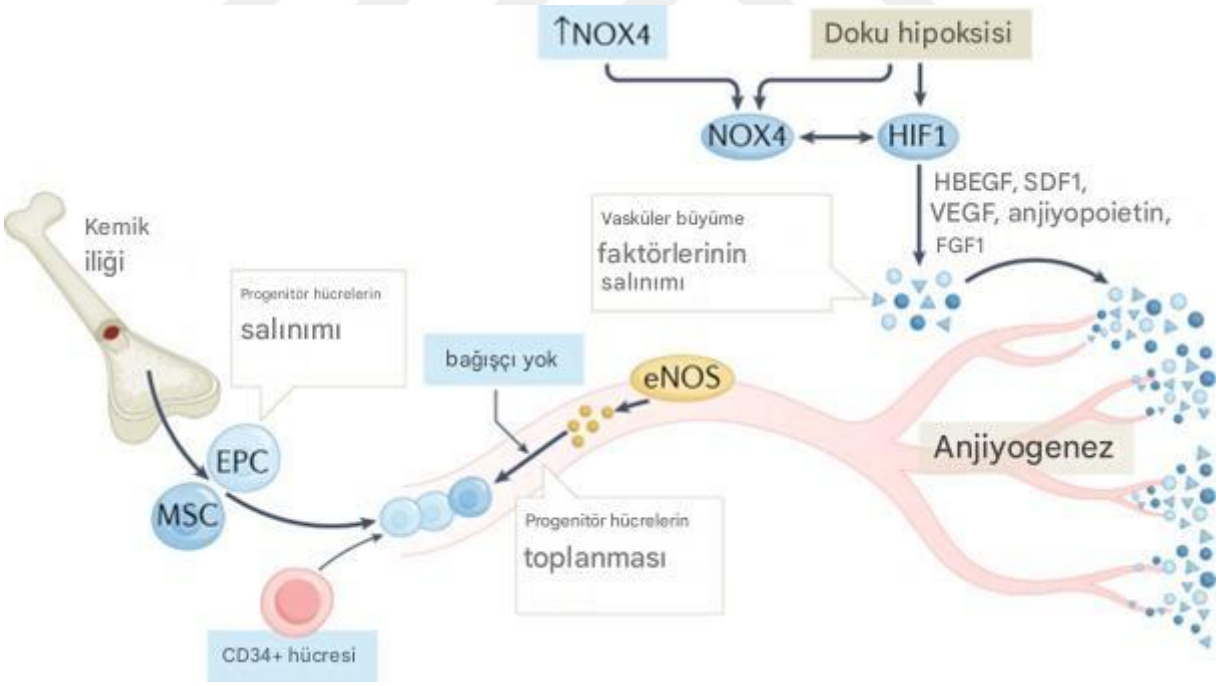
küresel hastalık yükü %1,7 olarak tahmin edilmektedir [173]. Avrupa Birliği REACH kayıtlarından elde edilen verilere göre, PAH olan hastaların %46-68'inde bir veya daha fazla damarda hastalık olduğu saptanmıştır [174]. ABD'de 2004 ve 2008 yılları arasında 40 ila 99 yaş arasındaki 3,3 milyon hasta üzerinde yapılan bir çalışmada PAH prevalansı %3,5 olarak belirlenmiştir [175]. PAH, özellikle düşük gelir ve orta gelir grubu ülkelerde giderek daha ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmeye devam etmektedir [174]. Bu yüzyılın ilk 10 yılında, düşük ve orta gelirli ülkelerde PAH insidansı %30 artarken, en zengin ülkelerde bu oran %13 olmuştur. Hispanik olmayan siyahlar ve yaşlılar PAH' dan daha fazla etkilenmektedir. Örneğin; siyah Amerikalılar beyaz Amerikalılara kıyasla %37 daha fazla ampütasyon insidansına sahiptirler. 2013 yılında ABD'de PAH için yaşa göre ayarlanmış ölüm oranı 17/100.000 iken siyah erkeklerde bu oran 25/100.000 kişi olarak hesaplanmıştır [176].

Yaşlanmaya yönelik demografik eğilim ve önemli risk faktörlerinde öngörülen artışla birlikte, gelecekte daha büyük bir PAH yükü beklenmektedir [177]. PAH için en önemli risk faktörleri hiperlipidemi, ailede vasküler hastalık öyküsü, hipertansiyon, obezite, diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı ve sigara kullanımıdır; üç veya daha fazla faktörün varlığı PAH riskinde 10 kat artışa neden olmaktadır [178] [179]. Sigara ve diabetes mellitus morbidite ve mortalitenin en güçlü belirleyicileridir ve her biri PAH' dan kaynaklanan mortalite veya majör morbidite riskini 2,5 kattan daha fazla artırmaktadır. Diğer taraftan sigaranın bırakılması, kardiyovasküler hastalıkların azalması ve uzuv sonuçlarında iyileşme ile ilişkili bulunmuştur [180]. Kronik böbrek hastalığı birçok çalışmada PAH ile ilişkilendirilmiştir [181] [182] [183]. PAH' ı olmayan 800.000'den fazla kişiyi kapsayan bir meta-analiz çalışmasında daha düşük tahmini glomerüler filtrasyon hızı ve daha yüksek idrar albümin-kreatinin oranının böbrek hastalığının ciddiyetine bağlı olarak 1,5 ila 4 kat daha yüksek PAH insidansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur [184]. Bazı çalışmalarda, çeşitli ağız sağlığı ölçümlerinin PAH ile bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir [185]. Yeni risk faktörleri arasında C-reaktif protein ve fibrinojen gibi inflamatuar belirteçlerde artış bulunmaktadır [186] [187] [188]. Diğer taraftan plazma homosistein düzeyinde tartışmalı bir durum söz konusudur. Eski çalışmalar plazma homosistein düzeyi ile PAH arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken [189] [190] güncel araştırmalarda anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır [191][192][193]. PAH'ta anemi hastalığın seyrinde önemli bir faktördür; çünkü bu hastalarda demir eksikliği veya diğer nedenlere bağlı anemi oranları çok yüksektir. Aralıklı topallamada, anemi orta vadede ölümün bir öngörücüsüdür.

Kritik iskemisi olan hastalarda anemi prevalansı daha yüksektir ve orta vadede amputasyon ve ölümün bir göstergesidir [194].

2.4.1. Periferik Arter Hastalığının Patogenezi

PAH temel olarak hem egzersiz sırasında kan akışının kısıtlanması hem de kasın yeniden şekillenmesiyle birlikte ilerleyici miyosit hasarının bir sonucu olarak alt ekstremitelere kan sağlayan arterlerin aterosklerozu veya trombotik tıkanması ve bir takım risk faktörleri tarafından desteklenen ilişkili mikrovasküler fonksiyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır [195] [196] (Şekil 2.11:). Alt ekstremite arterlerinin aterotrombotik daralması ve tıkanması bacak dolaşım sistemi ve dokularında doku perfüzyonunu korumaya yönelik tepkileri tetiklemektedir [197] [198]. Bacak iskemisine yanıt olarak arteriyogenez olarak bilinen erken telafi edici bir mekanizma sayesinde kollateral dallar genişleyerek etkilenen arter segmenti çevresinde alternatif kan akışı sağlayabilmektedir. Böylece femoral arter tıkanıklığından sonraki birkaç hafta içinde ekstremite kan akımında spontan bir iyileşme gerçekleşebilmektedir [199] [200].



Şekil 2.11: Periferik arter hastalığının patogenezi [212].

PAH sonucu oluşan arteriyel yetmezlik, kan akışındaki hem sabit hem de dinamik azalmaları yansıtmaktadır. Sağlıklı bir vasküler endotel, trombositleri inhibe etmek, düz kas çoğalmasını azaltmak, lökosit yapışmasını önlemek ve anjiyogenezi teşvik etmek gibi

pluripotent vasküler faydaları olan NO dahil olmak üzere çeşitli vazodilatör maddeler üretmektedir [201] Bacaktaki NO biyoaktivitesinin azalması, egzersizle kan akışının artmasını engellemeketedir [202]. Vasküler fonksiyon bozukluğu katekolaminlerin vazokonstriktif etkilerini şiddetlendirebilir ve akış aracılı dilatasyonu sınırlayabilmektedir [203].

Kronik ekstremite iskemisi birçok vasküler yapısal adaptasyonu başlatmaktadır. Hayvan modellerinde anjiyogenezi düzenleyen vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü, hepatosit ve hipoksi ile indüklenebilir faktör 1-a dahil olmak üzere birçok faktör tanımlanmıştır [204] [205]. VEGF, obezite tarafından aktive edilen proinflamatuar Wnt5a/JNK yolu tarafından yönlendirilmektedir. Bu nedenle, metabolik işlev bozukluğu, anti-anjiyojenik faktörler üreterek PAH'ta yetersiz anjiyogeneze aracılık edebilmekte ve anjiyogenezi uyarmayı amaçlayan tedavilere verilen yanıtları karmaşıklaştırabilmektedir [206].

Tekrarlanan iskemi ataklarının ekstremite iskelet kasları üzerinde zararlı etkileri bulunmaktadır [207]. İskemi, ayrıca periferik sinir fonksiyonuna da zarar vermekte ve şiddetli PAH hastalarında sinir iletimini zayıflatmaktadır [208]. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu PAH'ta bozulmuş iskelet kası metabolizmasına katkıda bulunmakta, asilkarnitinler de dahil olmak üzere oksidatif fosforilasyon ara maddelerinin hem dolaşımdaki hem de kastaki düzeyleri PAH'ta daha yüksek olmaktadır [209]. Değişen mitokondriyal fonksiyon, oksijen kullanımını kısıtlamakta ve ayrıca mitokondriyal kaynaklı oksidanlar NO biyoaktivitesini azalttığından dolayı endotelyal fonksiyon bozukluğunu da teşvik edebilmektedir [210].

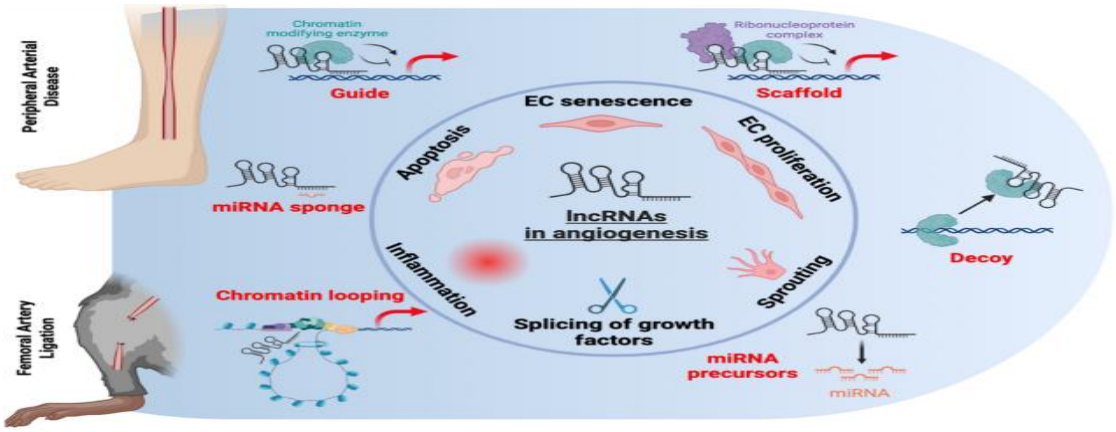
İnflamatuar aktivasyon aterosklerozun gelişimine katkıda bulunmakta ve ekstremite semptomlarının oluşmasında rol oynayabilmektedir. CRP ve çözünebilir hücre içi adezyon molekülü-1 (sICAM-1) de dahil olmak üzere sistemik inflamasyonun dolaşımdaki biyobelirteçleri, klinik PAH geliştirme riskinin daha yüksek olduğuna işaret etmektedir [211].

2.4.2. Periferik Arter Hastalığı ve Genetik

Ailede PAH öyküsünün, PAH prevalansı ve şiddetiyle bağımsız ve güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu durum genetik faktörlerin veya diğer ortak çevresel faktörlerin ya da her ikisinin PAH oluşumunda rol oynadığını göstermektedir [213]. Semptomatik PAH ile arteriyel ve eklem kalsifikasyonları olan üç ailenin üyelerinde ekzom dizileme sonucu adenozin monofosfatı adenozine dönüştüren bir proteini kodlayan bir gen olan NT5E'deki mutasyonların

varlığı gösterilmiştir [214]. Çift yumurta ve tek yumurta ikizleri üzerinde yapılan bir çalışmada, ABI (Ayak Bileği- Brakiel İndeksi) 'deki değişkenliğin %48'inin genetik etkilerle açıklanabileceği tahmin edilmektedir [215]. Başka bir araştırmada da genetik bir bozukluk olan ailesel hiperkolesteroleminin daha yüksek PAH prevalansı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [216]. Bir meta-analiz çalışmasında ABI ile 9p21 kromozomu üzerinde buunan rs10757269 varyantı arasında bir ilişki tespit edilmiştir. PAH için iki aday gen; DAB21P (rs13290547), CYBA (rs3794624) ve KAH için ise bir aday gen LDLR (rs1122608) ABI ile ilişkilendirilmiştir [217]. Yapılan bir GWAS çalışmasında ATXN2-SH2B3 lokusundaki tek nükleotid polimorfizmi (SNP) rs653178'in PAH ve revaskülarizasyonu ile anlamlı şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir [218]. Ayrıca MTHFR A1298C, MTHFR C677T polimorfizmleri ve PAI 4G/5G homozigot varyantlarının PAH gelişimi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir [219] [220] [221]. Birden fazla aile üyesinde PAH görülen bir aile temelli bağlantı çalışmasında 1p31 kromozomu üzerinde PAH ile ilişkili bir lokus tanımlanmıştır [222].

Kodlayıcı olmayan RNA'lar gen ifadesinin önemli epigenetik düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir [223] [224]. miR-503'ün diyabetik PAH ve ekstremite iskemisi olan insan doku örneklerinde düzenleyici bir rolü olduğu gösterilmiştir [225]. Periferik kanda ölçülen 12 miRNA'dan oluşan bir panel PAH varlığı ile ilişkilendirilmiştir [226]. PAH'ta oluşan anjiyogenez sürecinde lncRNA'lar endotel hücrelerindeki yaşlanma ve aktivasyon, proliferasyon, tomurcuklanma ve apoptoz dahil olmak üzere anjiyogenik yolların düzenlenmesi; büyüme faktörlerinin ekspresyonunu modüle edebilme, inflamasyona dahil olma gibi görevler yapabilmektedirler [227] (Şekil 2.12:).



Şekil 2.12: Periferik arter hastalığında anjiyogenezde lncRNA'nın potansiyel etki yolları [227].

2.4.3. Periferik Arter Hastalığının Tanı ve Tedavisi

PAH' ın en yaygın semptomu topallama; baldırlarda, uyluklarda veya kalçalarda kramp şeklinde ağrıdır. Karakteristik olarak yürümekle tetiklenmekte ve dinlenmekle azalmaktadır. Diğer semptomlar arasında efor sırasında tipik ağrı ve iskemik ağrı da yer alabilmektedir. Son aşamalar doku kaybı ve ampütasyonla sonuçlanabilmektedir [228] [229]. PAH ile ilgili önceki çalışmalar, PAH için bir belirteç olarak öncelikle aralıklı kladikasyona (topallama) odaklanmıştırlar. Aralıklı topallamayı tanımlamak ve diğer bacak ağrısı türlerinden ayırt etmek için birçok hasta anketi geliştirilmiştir. Bunlardan en önemlileri Dünya Sağlık Örgütü tarafından geliştirilen Rose anketi ve Rose anketinin bir modifikasyonu olan San Diego Kladikasyon Anketidir [230] [231]. Daha sonra bacak ağrısı değerlendirmesinin sınırlamaları nedeniyle, daha objektif ölçümler geliştirilmiştir. PAH için 1950 tarihinde ayak bileğindeki kan basıncının ölçülmesine dayanan ABI testi geliştirilmiştir [232]. ABI, ayak bileğindeki sistolik kan basıncının koldakine oranı olarak tanımlanmaktadır. ABI değerinin anormal derecede düşük olması bacakta ateroskleroz olduğunun göstergesidir. ABI değerinin ≤0,90 olması hem klinik uygulamada hem de epidemiyolojik araştırmalarda semptomatik ve asemptomatik PAH tanısı koymak için yaygın olarak kullanılmaktadır [233]. ABI temelli tanıyı bacaklardaki aterosklerozun belirlenmesinde altın standart olarak kabul edilen anjiyografi ile karşılaştıran çalışma sonuçlarına göre ABI' nın duyarlılık ve özgüllüğü %97 ile %100 aralığında değişmektedir [234] [235]. Diğer taraftan hastaların büyük bir çoğunluğu ABI> 0.9 olsa bile asemptomatik kalmaktadır. Asemptomatik Periferik Arter Hastalığı (APAD) geleneksel risk faktörleriyle (hipertansiyon, diyabet ve sigara) birleştiğinde kardiyovasküler hastalık riski önemli ölçüde artmaktadır [236].

Hastalığın tanısında öncelikle noninvaziv bir arteriyel değerlendirme yapılmalıdır. Ayak bileği basıncı ölçümü, ayak bileği-brakiyal indeksinin ölçülmesi, segmenter basınç ölçümü, yürüme testi, transkütanöz oksijen basıncı ölçümü, sürekli dalga doppler ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme hastalığın yerini belirlemek için yararlı olabilmektedir. İnvaziv tanı yöntemleri arasında ise anjiografi bulunmaktadır [237] [238] [239].

PAH Kuzey Amerika ve Avrupa'da 55 yaş üstü yetişkinlerin yaklaşık %20'sini etkilemektedir [240] [241]. Tedavinin hedefleri gelecekteki majör koroner ve serebrovasküler

olayları önlemek ve bacak semptomlarını iyileştirmektir [242]. PAH'ın komplikasyonlarını azaltmak için yaşam tarzı değişiklikleri (sigaranın bırakılması, egzersiz, glikoz kontrolü), tıbbi tedaviler (antihipertansif ilaçlar, statinler ve antiplatelet ilaçlar) [243] [244] [245] [246] [247] ve kadınlarda menopoz sonrası östrojen replasman tedavisi kullanılmaktadır [248]. Periferik atardamar hastalıklarında temel olarak cerrahi (aortofemoral bypass) ve radyolojik yöntemleri içeren endovasküler cerrahi (balon anjiyoplasti, stentleme ve aterektomi) olmak üzere başlıca iki revaskülarizasyon yöntemi bulunmaktadır [249] [250] [251].

2.5. KODLAYICI OLMAYAN RNA'LAR

Son zamanlarda genom çapında yapılan çalışmalar, işlevi ve önemi belirsiz olan binlerce kodlamayan transkriptin varlığını ortaya çıkarmıştır. Bu gizli transkriptomun keşfi mRNA'lar ve ncRNA'lar arasında ayrım yapma ihtiyacını daha karmaşık hale getirmiştir. [252] [253]. Protein kodlayan RNA'lar, yüksek ökaryotlardaki transkripsiyonel çıktının yalnızca küçük bir kısmını temsil etmektedir. Geri kalan RNA türleri, RNA polimerlerinin bir sonucu olarak geniş bir moleküler işlev ve düzenleyici rol yelpazesine sahiptirler [254]; ancak çoğu lncRNA'nın işlev ve mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir [255].

Ulusal İnsan Genomu Araştırma Enstitüsü tarafından Eylül 2003'te başlatılan ENCODE (DNA Elemanları Ansiklopedisi) projesi sonucu insan genom dizisindeki tüm işlevsel unsurları tanımlamaktır. ENCODE projesi sonucunda (çoğunlukla kodlama yapmayan) transkriptlerin genomumuzun %62-75'ini kapsadığı ve DNA'mızdaki potansiyel işlevsel dizinin %80'inine katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir [256] [257].

Proteinlere çevrilmeyen kodlamayan RNA'lar, housekeeping kodlamayan RNA'lar ve düzenleyici kodlamayan RNA'lar olarak ikiye ayrılmaktadır. Housekeeping kodlamayan RNA'lar ribozomal, transfer, küçük nükleer ve küçük nükleolar RNA'ları içermekte ve genellikle yapısal kodlamayan RNA olarak ifade edilmektedir [258]. Düzenleyici kodlamayan RNA'lar temel olarak büyüklüklerine göre kısa zincirli kodlamayan RNA'lar (siRNA'lar, miRNA'lar ve piRNA'lar dahil) ve uzun kodlamauan RNA'lar (lncRNA'lar) olarak iki kategoriye ayrılmaktadır [259] [260] (Tablo 2.1:).

Tablo 2.1: Kodlamayan RNA'ların görevleri.

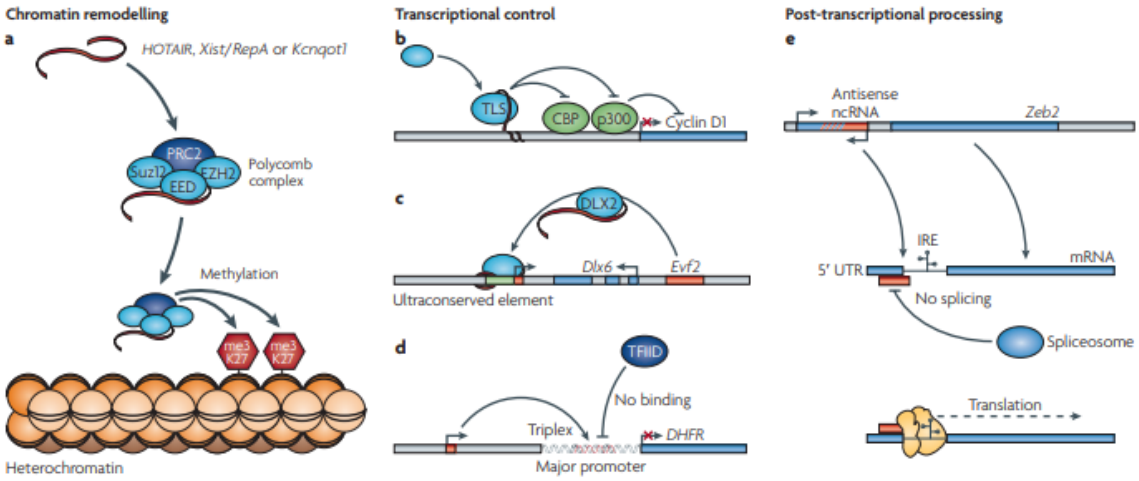
Grup adı	RNA adı	Uzunluk	Rna'nın Görevi	Ref.
Housekeeping kodlamayan RNA'lar	Ribozomal RNA'lar		Translasyon	261
	Transfer RNA'lar	75-90 bç	Translasyon	267
	Küçük Nükleer RNA'lar	19-28 bç	Translasyon	262
	Küçük Nükleolar RNA'lar	60-300 bç	Gen ifadesinin susturulması ve alternatif splicing'in düzenlenmesi	263
Regülatör kodlamayan RNA'lar	Kısa Zincirli kodlamayan RNA'lar	siRNA'lar 20-25 bç	Argonaute ailesi proteinleri aracılığıyla gen sessizleştirme	264
		miRNA'lar 19-24 bç	Argonaute ailesi proteinleri aracılığıyla gen sessizleştirme	267
		piRNA'lar 26-31 bç	Piwi ailesi proteinleri aracılığıyla gen sessizleştirme	264
	Circular RNA'lar	30-40 bç	Transkripsiyonel düzenleyici, miRNA süngerleri, protein şablonları, tuzakları, iskeleleri	265
	Uzun Zincirli Kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar)	>200 bç	Kromatin yeniden şekillenmesi Trnskripsiyonel düzenleme Post-transkripsiyonel süreçler	266

2.5.1.Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA'lar

Transkripsiyonel bir sınıf olarak lncRNA'lar ilk olarak farede tam uzunluktaki cDNA kütüphanelerinin büyük ölçekli dizilimi sırasında tanımlanmıştır [268]. Beklenmedik bir şekilde çok sayıda olmaları göz önüne alındığında, lncRNA'ların başlangıçta düşük RNA polimeraz bağlanmasından kaynaklanan transkripsiyonel bozulmalar olduğu düşünülmüştür [269]. Kodlamayan transkriptomun gerçek boyutları ve karmaşıklığı bilinmese de transkriptom dizilemesinin derinliği ve kalitesindeki gelişmeler özellikle antisens, intronik, intergenik ve örtüşen protein kodlama lokusları olan genomik bölgelerden türetilen lncRNA'lar birçok yeni sınıfını ortaya çıkarmıştır [270] [254]. Ayrıca lncRNA'ların homojen bir molekül sınıfı olmadığı, bunun yerine farklı biyolojik mekanizma ve rollere sahip çoklu fonksiyonel sınıfların bir karışımı olduğu saptanmıştır [255]. Bununla birlikte, lncRNA'lar ile ilgili çok sayıda moleküler ve hücresel süreçle ilişkilendirilen büyük hacimde bilimsel veri olmasına rağmen,

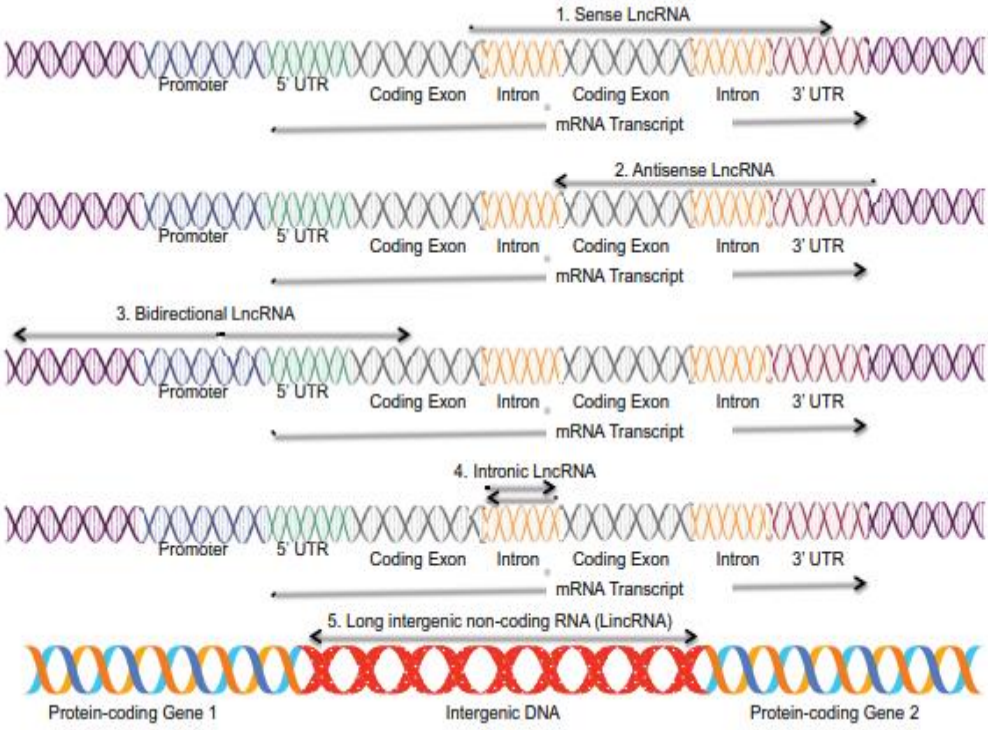
konu ile ilgili çok sayıda tartışma da bulunmaktadır. Bu tartışmanın ana nedenlerinden biri, lncRNA'ları karakterize etmek için kullanılan mevcut yöntemlerin sınırlı olmasıdır. Bu durum sayılarının çokluğu ve yetersiz sınıflandırılmaları ile birleştiğinde, transkriptlerin kapsamlı bir şekilde açıklanması zorlaşmaktadır [271]. Fare genomunda lncRNA'ların sayısının yaklaşık 30.000 olduğu tahmin edilmektedir. İnsan genomunda transkripsiyonun çoğunluğu lncRNA'lar aracılığı ile gerçekleşmektedir [272] [273].

Son yıllarda lncRNA'ların X kromozomu inaktivasyonu, genomik imprinting, kromatin modifikasyonu, transkripsiyonel aktivasyon ve interference ile nükleer trafik gibi çeşitli düzenleyici süreçlere dahil oldukları saptanmıştır [274] [275]. NcRNA'ların işlevini belirlemede önemli bir faktör de hücre altı lokalizasyonlarıdır. Çekirdeğe lokalize olan ncRNA'lar epigenetik modifikasyonları ve transkripsiyonu modüle edebilmekte, splicing'i değiştirebilmekte veya RNA'yı modifiye edebilmekte iken sitoplazmik ncRNA'lar daha ziyade RNA stabilitesi ve translasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar [276] [277]. Çok sayıda araştırma kodlamayan RNA'ların epigenetik modifikasyonda önemli bir rol oynadığını ve hücre farklılaşmasını kontrol etmek için gen düzeyinde ve kromozom düzeyinde ifadeyi düzenleyebildiğini göstermiştir [278][279]. Genomik imprinting ve X kromozomu inaktivasyonu çalışmaları sırasıyla H19 RNA ve Xist RNA olmak üzere iki lncRNA'nın rollerini tanımlayarak, epigenetik düzenlemedeki rollerini ortaya koyan ilk çalışmalardır [280] [295] (Şekil 2.13:). Birçok lncRNA'nın ifadesi belirli gelişimsel süreçlerle sınırlıdır ve çok sayıda fare ncRNA'sı, embriyonik kök hücre farklılaşması sırasında ve beyinde spesifik olarak ifade edilmektedir [281] [282] [283]. Transkripsiyon faktörlerinin kodlamayan lokuslara bağlanması, ncRNA promotörleri üzerinde etkili olan bu tür ifadenin açıkça düzenlendiğini göstermektedir [284] [285]. LncRNA'ların transkripsiyonel başlangıç bölgeleri ile etkileşimleri yoluyla transkripsiyon faktörü toplayıcıları olarak işlev gördükleri, transkripsiyonel koaktivatörler olarak hareket ettikleri veya genel olarak proteinler için iskele işlevi gördükleri gösterilmiştir. Eşdeğer olarak, lncRNA'lar transkripsiyon faktörlerini bağlayan moleküler tuzak olarak işlev görmekte ve transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma bölgeleriyle ilişki kurma yeteneğini sınırlandırabilmektedirler [286] [287].



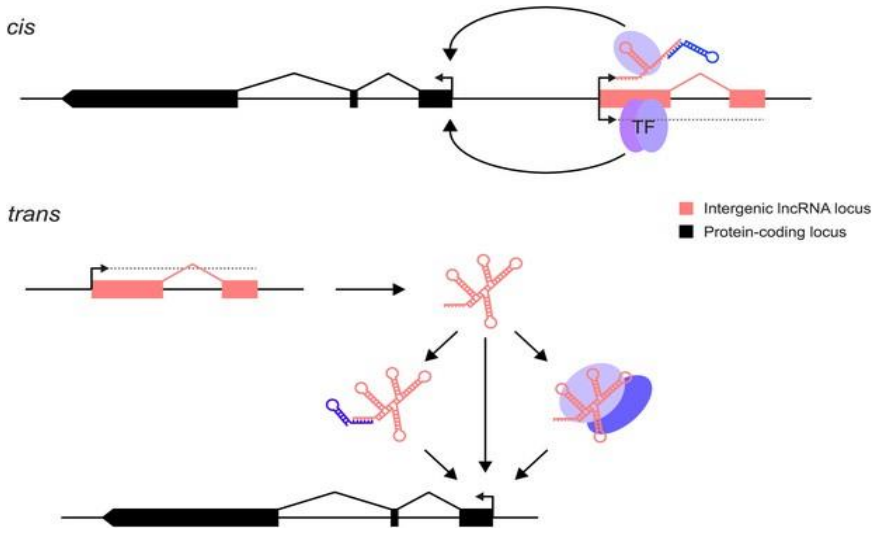
Şekil 2.13: LncRNA'ların görevleri a) Kromatin yeniden şekillenmesi, b c d) Transkripsiyonel düzenleme, e) Post-transkripsiyonel süreçler [288].

Araştırmalar transkriptomun karmaşık bir yapıya sahip olduğunu, lncRNA'ların genellikle birden fazla kodlayıcı ve kodlayıcı olmayan transkript ile örtüştüğünü veya iki bölge arasında bulunduğunu göstermiştir [289] [290]. LncRNA'lar da kendi içerisinde antisense, bidirectional, intronic, enhancer-associated ve intergenic olmak üzere beş kategoriye ayrılmaktadırlar [260] (Şekil 2.14:). İntergenik ve enhancer lncRNA'lar kendi promotörlerini içermekte ve protein kodlayan genlerden ayrılmaktadırlar. Çift yönlü lncRNA'lar bir promotörü paylaşmakta ve protein kodlayan bir genin karşı dizisinden transkribe edilmekte iken, intronik lncRNA'lar protein kodlayan bir genin intronik bir bölgesinde transkribe edilmektedirler [291] [292].



Şekil 2.14: Uzun kodlanmayan RNA'ların türleri [293].

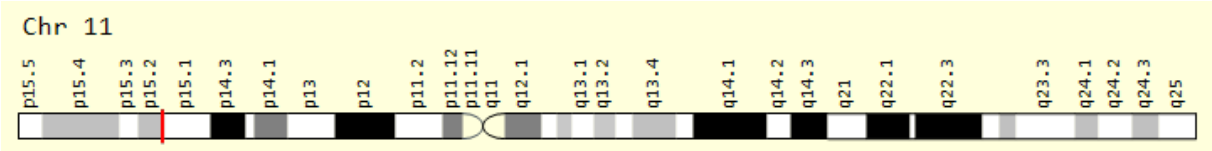
LncRNA'ların ayrıca komşu genlerin (cis) ve daha uzak genlerin (trans) ifadesini düzenlediği varsayılmaktadır [296] (Şekil 2.15:). LncRNA'lar önemli bir düzenleyici molekül sınıfı oluşturmakta, dokuya ve duruma özgü ekspresyonları özelleşmiş işlevlere işaret etmekte, bu durum onları biyobelirteç adayları veya tedavi hedefleri haline getirmektedir [297].



Şekil 2.15: LncRNA'ların cis ve trans düzenlemesi [294].

2.5.1.1. Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA CoroMarker

LncRNA'ların ateroskleroz ve miyokard enfarktüsü gibi patolojik vasküler durumlarda rol oynadığı gösterilmiştir [298] [299]. 11p15.2 lokusunda bulunan Coromarker geninin aterosklerozda rol oynadığı bildirilmiştir. Bir lncRNA kodlayan Coromarker'ın bir diğer adı da aldo-keto reductase family 1 member B1 pseudogene 3 (AKR1B1P3)'tür [300]. Aldoz redüktazlar glikoz da dahil olmak üzere çeşitli aldehitlerin ilgili şeker alkolüne indirgenmesini katalize etmektedirler [301] (Şekil 2.16).



Şekil 2.16: lncRNA Coromarker geninin yerleşimi [300].

CoroMarker (lncRNA AC100865.1), KAH hastalarında mikroarray yöntemi ile tanımlanmıştır ve periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC'ler) Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR) ile doğrulanmıştır [17]. KAH hastalarında lncRNA CoroMarker'ın yüksek düzeyde eksprese olduğu, yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir. THP-1 hücrelerinde CoroMarker ekspresyonunun baskılanması, IL-1, IL-6 ve TNF-α düzeylerinde anlamlı bir düşüşe yol açmıştır. Bu bulgu, CoroMarker'ın aterosklerozun inflamatuvar yanıtında önemli bir düzenleyici rol oynayabileceğini göstermektedir [19]. Yapılan klinik bir çalışmada KAH hastalarının %78'inde Coromarker ekspresyonu yüksek bulunmuş ve KAH için biyolojik belirteç olarak önerilmiştir. LncRNA CoroMarker plazmada stabil halde bulunmuş ve çoğunlukla monositlerde olmak üzere ekstrasellüler veziküllerde yer aldığı gösterilmiştir [302]. Çalışmalar ayrıca CoroMarker'ın köpük hücre oluşumunu, arteriyosklerozu, inflamasyonu ve ilişkili bağışıklık yanıtlarını pozitif olarak düzenleyebildiğini ve hücre apoptozunu inhibe edebildiğini göstermiştir [302]. Diğer bir çalışmada ise KAH hastalarında dolaşımdaki lncRNA Coromarker ekspresyon düzeylerinin önemli ölçüde artış gösterdiği, bu artışın inflamasyonun yanı sıra plak hassasiyeti ile de ilişkili olduğu saptanmıştır [18]. Son olarak yapılan bir araştırmada kaynak dumanı içinde yer alan çinko/bakırın (Zn/Cu) kısa süreli solunmasının, yüksek kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkili subklinik sistemik inflamasyonu tetiklediği gösterilmiştir [303]. THP-1 makrofajlarında CoroMarker'ın artan ekspresyonu bu bulguları desteklemiştir. Zn/Cu kaynak dumanına maruz

kalan bireylerin altı saat sonra tam kan hücrelerinde CoroMarker düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [303].

2.5.2. Uzun Kodlayıcı Olmayan RNA'lar ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres, oksidatif ajanların üretimi ile antioksidan kapasite arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Bu süreçte ROS'un birikmesi, doku ve organlarda tüm organizmayı etkileyebilecek çeşitli patolojik olayların indüklenmesine yol açmaktadır. Yapılan deneysel çalışmalar hem mikroRNA'lar (miRNA'lar) hem de lncRNA'lar dahil olmak üzere kodlamayan RNA'ların oksidatif stresin patojenik sürecinde ve hücrelerin bu sürece verdiği yanıttaki rolünü ortaya koymaktadır [304].

Örneğin; anjina hastalığına sahip olan bireylerde lncRNA MALAT 1 (Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1) 'in yüksek düzeyde eksprese olduğu saptanmıştır. MALAT1'in knock down edilmesinin miR-22-3p'nin hedef geni CXCR 2 (CXC chemokine receptor 2) 'nin ekspresyonunu azaltarak ox-LDL kaynaklı endotel hasarının artmasına yol açtığı gösterilmiştir [305]. Diyabetik kardiyomiyopati patogenezinde lncRNA MALAT 1'in rolünün incelendiği bir araştırmada yüksek glikoz ile indüklenen kardiyomiyositlerde MALAT 1'in miR-185-5p'yi süngerleyerek RhoA/ROCK yolağını aktive ettiği gösterilmiştir. MALAT1'in devre dışı bırakılmasının ise yüksek glikoz ile indüklenen oksidatif stresi inhibe ettiği, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu hafiflettiği ve kardiyomiyosit apoptozunda azalmaya neden olduğu saptanmıştır [306].

Ox-LDL makrofaj inflamasyonunu ve oksidatif stresi indükleyebilmektedir. Örneğin; RAW264.7 hücrelerinde lncRNA NEAT 1 (Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1)′ in azaltılması CD36 ekspresyonunu ve köpük hücre oluşumunu baskılarken, NEAT 1'in aşırı ekspresyonu ise tersi bir işlev göstermiştir. Ek olarak NEAT 1'in ekspresyonunun azalması IL-6, IL-1β ve TNF-α gibi inflamasyon moleküllerini inhibe etmiştir. Bununla birlikte NEAT 1'in sünger görevi görerek miR-128'i baskılaması ve ateroskleroz gelişiminde ox-LDL ile indüklenen inflamasyon ve oksidatif strese katıldığı anlaşılmıştır [307].

İn vitro ve in vivo miyokardiyal iskemik ve reperfüzyon hasarının düzenlenmesinde lncRNA H19 ve H19 türevi miR-675'in potansiyel rolleri araştırılmış ve sonuçlar reperfüzyona maruz kalan kardiyomiyositlerde H19 ve H19 türevi miR-675 ekspresyonunun attığını

göstermiştir. Diğer taraftan H19'un azaltılması hücre canlılığını artırmış, hücre apoptozunu ve inflamatuar sitokinleri azaltmış ve oksidatif stresi inhibe etmiştir [308]. Ox-LDL kaynaklı endotelyal hücre fonksiyon bozukluğu, ateroskleroz patogenezinde önemli bir olay olarak görülmektedir. LncRNA H19'un knock down edilmesinin insan umbilikal ven endotel hücrelerinde ox-LDL kaynaklı inflamasyon, apoptoz ve oksidatif stresi baskıladığı gösterilmiştir [309].

LncRNA ZEB1-AS1'in karotis arter aterosklerozundaki rolünün araştırıldığı bir çalışmada lncRNA ZEB1-AS1'in miR-942/HMGB1 (High-mobility group box 1) sinyali yoluyla HCtAEC hücrelerinin ox-LDL ile indüklenen hasarını ve apoptozunu, THP-1 hücrelerinin ise oksidatif stres ve inflamatuar olaylarını kolaylaştırdığı gösterilmiştir [310].

LncRNA UCA 1 (Urothelial cancer associated 1)' in aterosklerozdaki biyolojik rolünün araştırıldığı bir çalışmada ox-LDL'nin THP-1 hücrelerinde UCA1 ekspresyonunu büyük ölçüde artırdığı gözlenmiştir. UCA1'in azaltılmasının aterosklerozda önemli bir biyobelirteç olan CD36 ekspresyonunu büyük ölçüde engellediği saptanmıştır. Ek olarak, miR-206'nın UCA1'in bir hedefi olduğu tahmin edilmiş ve UCA1'in baskılanmasının miR-206 ekspresyonunu baskılayabildiği gösterilmiştir. Sonuç olarak, UCA1'in THP-1 hücrelerinde ox-LDL tarafından indüklenen ateroskleroz olaylarını şiddetlendirmek için miR-206'yı süngerlediği anlaşılmıştır [311].

HOX transkript antisens RNA (HOTAIR) birçok temel biyolojik süreç ve hastalıkla ilişkilendirilmiştir. İn vivo olarak, tip 1 diyabet oluşturmak için streptozotosin enjekte edilen farelerde HOTAIR'in baskılanmasının yüksek glikozla indüklenen H9c2 hücrelerinde oksidatif hasarı, inflamasyonu ve apoptozu arttırdığı saptanmıştır. HOTAIR'in kardiyomiyositlere özgü aşırı ekspresyonunun streptozotosin enjekte edilen farelerde kardiyak fonksiyonu iyileştirdiği, oksidatif stresi ve iltihabı azalttığı ve miyosit ölümünü hafiflettiği gösterilmiştir [312].

Septik kardiyomiyopatide inflamatuvar yanıtları ve oksidatif stresi düzenlemede lncRNA MIAT ve miR-330-5p'nin rollerinin araştırıldığı bir çalışmada LncRNA MIAT'ın doğrudan miR330-5p'ye bağlanarak TRAF6/NF-κB sinyal yolağını aktive ettiği ve lipopolisakkaritler ile indüklenen septik kardiyomiyopatide inflamasyon yanıtını ve oksidatif stresi desteklediği belirlenmiştir [313].

2.6. KANTİTATİF GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (RT-qPCR) YÖNTEMİ

Gen ekspresyon profilinin çıkarılması, birçok hastalığın ilerlemesine yönelik mekanizmalar hakkındaki bilgimizi arttırmıştır [314]. Nükleik asitler, proteinlere kıyasla biyobelirteç olarak birçok avantaj sunmaktadırlar. Örneğin; DNA ve RNA sırasıyla kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve ters transkriptaz PCR (RT-qPCR) ile kolaylıkla amplifiye edilebildiklerinden, proteinlere göre tespit edilebilmeleri daha kolaydır [315]. Bu nedenle RT-qPCR, gen ekspresyonu profillemesinde "altın standart" olarak kullanılmaktadır ve spesifik tek zincirli nükleik asitlerin (cDNA veya RNA) hem varlığını hem de miktarını gerçek zamanlı olarak tespit edebilmektedir [316]. Ancak RT-qPCR kullanılırken başarılı ve güvenilir bir sonuç elde edebilmek için uygun referans genlerin seçimi, yazılımı, normalizasyon, numune ve tahlil kalitesine dikkat edilmelidir [317]. RT-qPCR, çoğaltılan DNA miktarının eş zamanlı olarak ölçülmesini sağlamaktadır. Analiz için çoğaltılan DNA bölgesine özgü komplementer oligonükleotid parçaları olan problar veya boyalar (Şekil 2.17:) amplifikasyon süreci devam ederken hem DNA artışı hem de nükleotid değişimi hakkında bilgi vermektedir [318]. Gen ekspresyonunun analizinden önce, cDNA numuneleri arasındaki spesifik olmayan varyasyonların kontrol edilmesi için uygun bir normalleştirme stratejisinin seçilmesi önemlidir. RT-qPCR verilerini normalleştirmek için en yaygın kullanılan yöntem, bir veya daha fazla endojen referans genin kullanılmasıdır [319] [320]. Normalleştirme, referans ve hedef genler arasındaki Ct değerlerine dayalı farklı sonuçların yanlış yorumlanmasını önleyen ve güvenilir Ct değerleri veren bir gen ekspresyonu sağlamaktadır [321] [322]. Ct veya eşik döngü değeri, bir reaksiyon içinde üretilen floresansın, arka plan floresansının önemli ölçüde üzerinde bir floresan sinyali olan floresans eşiğini geçtiği döngü numarasıdır [323].

2.6.1. DNA Bağlama Boyaları

Etidyum bromür, EvaGreen, YO-PRO-1, BOXTO, BEBO, SYBR® Green, SYTO ve SYBR® Gold gibi ticari olarak temin edilebilen çok çeşitli floresan DNA boyaları bulunmaktadır. DNA bağlayıcı boyaların kullanılması, RT-qPCR reaksiyonu sırasında üretilen spesifik ürünlerin, spesifik olmayan ürünlerin ve primer dimerlerin saptanmasına olanak tanımaktadır [324]. En yaygın olarak kullanılan boya, asimetrik bir siyanin boyası olan SYBR® Green I 'dir ve standart PCR reaksiyon koşulları altında iki pozitif yük ile yüksek dsDNA bağlanma afinitesine katkıda bulunmaktadır [325] [326].

2.6.2. Florofor Etiketli Oligonükleotitler

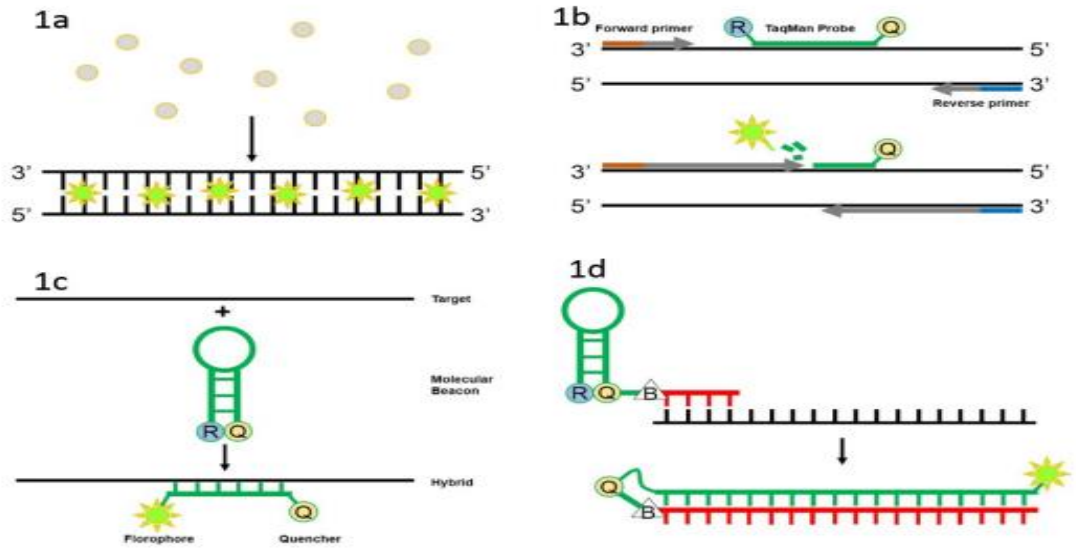
Floroforlar, qPCR teknolojisinde prob görevi görmek üzere oligonükleotidlere bağlanan küçük floresan moleküllerdir. Donör veya raportör ve alıcı veya söndürücü olmak üzere iki tür florofor bulunmaktadır. Donör floroforu ışıktan enerji aldığında uyarılmış bir duruma geçmektedir. Temel duruma geri dönme süreci, enerjinin floresans olarak yayılmasıyla sağlanmaktadır. Vericiden yayılan bu ışık, emilen ışıktan daha düşük bir enerjiye, frekansa ve daha uzun bir dalga boyuna sahiptir ve bir alıcı florofora aktarılabilmektedir. Her iki florofor da belirli bir mesafe içindeyse, genellikle 10 ila 100 Å uyarılmış durum enerjisinin bir raportörden bir söndürücüye aktarımı Floresan Rezonans Enerji Transferi (FRET) olarak isimlendirilmektedir [326] [327].

2.6.2.1. Hidroliz Probları

Bu probların etki mekanizmaları, amplifikasyon sırasında bağlı probu bozan Taq polimerazın 5′–3′ eksonükleaz aktivitesine dayanmaktadır. Bu durum aynı zamanda erime eğrisi analizinin yapılmasını da engellemektedir. Bu sistemde floresans, uzama fazının sonunda ölçülmekte ve amplifiye edilen spesifik ürünün miktarıyla orantılı olmaktadır [328]. TaqMan probları 5'-ucunda bir donör floresan kısmı ve 3'-ucunda donör molekülünden yayılan floresanı söndüren bir alıcı florofor kısmını içeren oligonükleotitlerdir [329]. Hidroliz probları hedef DNA'nın spesifik bir bölgesine bağlanacak şekilde tasarlanmıştır [330]. Çözeltide, donör floroforundan gelen floresan sinyali, alıcı florofor tarafından bastırılmakta; ancak kalan floresans tespit edilebilmektedir [331]. Uzatma fazı sırasında, bağlı hidroliz probu, DNA polimerazın 5'-3'-eksonükleaz aktivitesi tarafından parçalanmakta ve donörden floresans üretilmektedir [332] [333].

2.6.2.2. Hibridizasyon Probları

Hibridizasyon problarının bağlanmasıyla yayılan floresan miktarı, annealing veya uzama aşamasında ölçülebilmektedir. Bu probların kullanılması sonucu amplifiye fragmanların erime eğrileri oluşturularak analiz edilmesine olanak tanımaktadır; bu durum hibridizasyon problarının hidroliz problarına göre ana avantajıdır. Tespit edilen floresan sinyalin miktarı, qPCR reaksiyonu sırasında amplifiye edilen hedefin miktarıyla doğru orantılıdır [328].



Şekil 2.17: RT-PCR'de kullanılan boya ve problar a) SYBR Green b) TaqMan c) Molecular Beacon d) Scorpions [334].

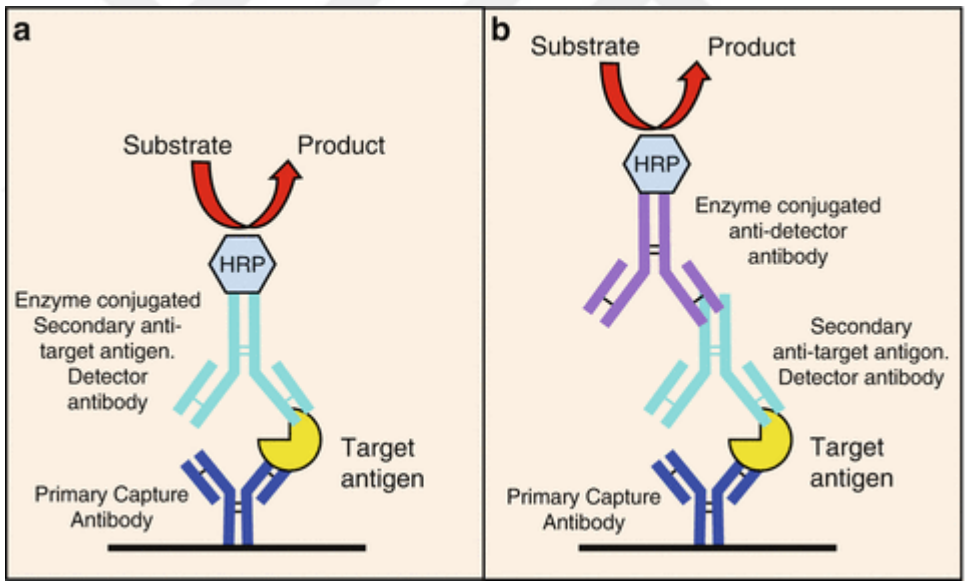
2.7. ELISA METODU

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay/Enzime bağlı immünosorbent analizi) temel bilim araştırmalarında, klinik uygulama çalışmalarında yaygın olarak teşhis amacıyla proteinler, peptidler, hormonlar, antikor ve antijenlerin saptanmasında kullanılan immünolojik bir testtir [335] [336]. Yalow ve Berson (1960), radyoaktif bir sinyale bağlı antikor aracılı tespitin kullanıldığı bu tekniği ilk tanımlayan kişilerdir [337]. ELISA yöntemi, 1971 yılında İsveç Stockholm Üniversitesi'nden Peter Perlmann ve Eva Engvall [338] ile Hollanda Organon Araştırma Laboratuvarı'ndan Van Weemen ve Schuurs tarafından eş zamanlı olarak geliştirilmiştir [339]. ELISA yöntemi, bir numunedeki belirli bir maddeyi, genellikle bir antijeni tespit etmek için kullanılmaktadır. Antijen, bir mikro plaka kuyusunda doğrudan veya spesifik bir antikorla immobilize edilmektedir. Bu antijen-antikor kompleksine bir birincil tespit antikoru eklenmektedir [340]. Birincil tespit antikoru ya doğrudan bir enzimle etiketlenmekte (doğrudan ELISA) ya da kendisi ikincil bir enzime bağlanmaktadır (dolaylı ELISA). Her adım arasında kuyucuk bir tampon solüsyonla yıkanmaktadır. Son olarak bir substratın eklenmesi, numunede antijenin varlığını gösteren bir renk sinyali üretmekte, optik yoğunluğun ölçümü numunedeki antijen miktarını göstermektedir [340]. ELISA hemen hemen her antijenin ölçümüne uygulanabilmektedir [341]. Genel olarak güvenli ve çevre dostu olan bu metot uygun maliyetli bir analiz imkânı sunmaktadır. Yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip

bu yöntemde eş zamanlı analiz basit bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Diğer taraftan ELISA metodunda yüksek yanlış pozitif/negatif sonuç olasılığı da bulunmaktadır. Hareketsizleştirilmiş antijenin yetersiz bloke edilmesi yanlış sonuçlara yol açabilmektedir. Ayrıca gelişmiş teknikler ve pahalı kültür ortamları da gerektirmektedir [342].

ELISA antijenin nasıl immobilize ve tespit edildiğine bağlı olarak farklı kategorilere ayrılmaktadır. Bu kategoriler direkt ELISA [343], indirekt ELISA [343], rekabetçi ELISA [344], sandviç ELISA [344], hücre-ELISA [345], polimeraz zincir reaksiyonu-enzime bağlı immünosorbent tahlili (PCR-ELISA) [346] ve kâğıt bazlı enzime bağlı immünosorbent ELISA (p-ELISA) [347] şeklinde isimlendirilebilir.

Sandviç ELISA sisteminde hedef antijen, farklı epitopları tanıyan iki antikor veya sandviç sistemi olarak adlandırılan iki antikor arasına bağlanma yoluyla tespit edilmektedir [344] (Şekil 2.18:).



Şekil 2.18: Sandwich ELISA türleri (a) Direkt Sandwich ELISA (b) İndirekt Sandwich ELISA [348].

3. YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Çalışma grubu İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa, Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalında Mart 2024-Mart 2025 tarihleri arasında ateroskleroz tanısı alan 94 hasta (50 koroner arter hastalığı bulunan, 44 periferik arter hastalığı bulunan) ve 97 sağlıklı kontrolden oluşmaktadır.

Koroner arter bypass hasta grubu için ana kriter, en az bir ana koroner arterde ≥%50 darlık olması veya koroner anjiyografi ile birden fazla koroner arterde ateroskleroza bağlı birden fazla ciddi darlık tespit edilmesi olarak belirlenmiştir. Periferik arter hastalığı için ise kriterler fizik muayene, ayak bileği brakiyal indeksi (ABI), dupleks Doppler ultrason, bilgisayarlı tomografi-anjiyografi, manyetik rezonans anjiyografi ile periferik arterlerinde aterosklerotik darlığı (≥%50) olması şeklinde belirlenmiştir. Çalışmamızda ateroskleroz tanısı alan hastalar ile sağlıklı kontrollerden 2 tüp 5'er ml venöz kan alınmıştır. KAH tanısı alan 50 hasta, PAH tanısı alan 44 hasta ve 97 sağlıklı bireyin periferik kanları kullanılarak Coromarker gen ekspresyonu ve kan plazma örneklerinden okside LDL düzeylerinin belirlenmesi ELİSA testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile uyumlu, herhangi bir klinik ateroskleroz bulgusu olmayan düzenli sağlık taramaları için Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'ne gelen rastgele seçilmiş 97 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur. Hasta ve kontrol grubundaki kişilere çalışmanın amacı açıklanarak yazılı izinleri alınmıştır.

Otoimmün hastalığı, ciddi böbrek ve hepatik hastalıkları olan bireyler, kanser hastaları ve hamile bireyler hem hasta hem kontrol grubu için çalışmaya dahil edilmemiştir.

Hasta ve kontrol gruplarının venöz kan örnekleri kullanılarak biyokimyasal değişkenler arasında yer alan ürik asit, Magnezyum, total protein, CRP, LDH, total-kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, açlık kan glikoz düzeyi, trigliserid, üre, kreatin, Albümin, ALT, AST, CK ve CK-MB düzeyleri Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında ölçülmüştür.

3.2. KULLANILAN CİHAZLAR

Buzdolabı (+4 ºC, Arçelik)

Çalkalamalı Su Banyosu (Kottermann)

Çeker Ocak (Termal)

Derin Dondurucu (-20 ºC, Arçelik)

Etüv (Memmert)

Hassas Terazi (CHYO)

LightCycler® 480 (Roche)

Manyetik Karıştırıcı (Ühromag)

Mikropipetler (Socorex)

Nanodrop (Implen)

Otoklav (Hirayama)

Ph Metre (WTW)

Santrifüj (Hettich)

Saf Su Cihazı (Millipore Elix 3)

Sterilizatör (Elektro-Mag M420)

Soğutmalı Santrifüj (Hettich)

Termal Döngü Cihazı (Applied Biosystems)

Vorteks (Velp)

Ultra Derin Dondurucu (-80 ºC, New Brunswick Scientific- Sanyo)

3.3. KULLANILAN ÇÖZELTİLER VE TAMPONLAR

3.3.1. Lökosit İzolasyonunda Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Fosfat Tuz Tamponu (PBS) (pH: 7,2-7,4)

Distile su 1000 ml

NaH_2PO_4 1,44 g

KH_2PO_4 0.24 g

NaCl 8 g

KCl 0.2 g

3.3.2. RNA İzolasyon Kitinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Yıkama Tamponu

24 ml'lik RNA Yıkama Tamponu' na 96 ml %100 etanol eklenerek karıştırıldı. 25°C oda sıcaklığında saklandı.

3.3.3. ELİSA Metodunda Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

1X Yıkama Tamponu: 10X Yıkama Tamponu Konsantresi deiyonize suyla 1X'e seyreltildi. Homojenlik elde edene kadar karıştırıldı.

Biyotinlenmiş Anti-Human ApoB-100 Antikoru: Kullanımdan hemen önce Anti-ApoB-100 antikoru 1:1000 oranında Assay Diluent ile seyreltildi.

Streptavidin-Enzim Konjugatı: Kullanımdan hemen önce Streptavidin-Enzim Konjugatını 1:1000 oranında Assay Diluent ile seyreltildi.

Blokaj Reaktifi: Kullanımdan hemen önce Blokaj Reaktifini 1:100 oranında PBS ile seyreltildi.

3.4. KULLANILAN KİMYASALLAR

İzopropanol (Merck)

Etanol (Merck)

NaCl (Sigma)

Proteinaz K (Roche)

NaH_2PO_4 (Fluka)

Na_2HPO_4 (Fluka)

NaH_2PO_4 H_2O (Merck)

$Na_2HPO_42H_2O$ (Merck)

B-Merkaptoetanol (Gibco)

$MgCl_2$ (Roche)

SYBR® Green

Deoksinükleotid Karışımı (Roche)

Revers Transkriptaz Reaksiyon Tamponu (Roche)

Revers Transkriptaz Enzimi (Roche)

Koruyucu RNaz İnhibitörü (Roche)

DTT (Roche)

3.5. COROMARKER GEN İFADESİNİN ÖLÇÜLMESİ

3.5.1. Tam Kandan Lenfosit İzolasyonu

Koroner arter hastları ve periferik arter hastaları ile kontrol örneklerinden elde edilen tam kandan, Ficoll (Histopaque) 1077 kullanılarak lenfositlerin izolasyonu yapılmıştır.

1. Periferik kan örnekleri EDTA'lı steril tüpler kullanılarak toplandı.

2.Kan örnekleri 1:1 oranında PBS kullanılarak sulandırıldı.

3. 15 ml'lik falcon tüplere 3 ml Ficoll (Histopaque) 1077 eklenerek üzerine 1 ml PBS ile sulandırılmış olan 1 ml tam kan sızdırma yolu ile ilave edildi.

4. Tüpler 1600 rpm'de 35 dk. santrifüjlenerek tam kandan lenfosit fraksiyonu elde edildi.

5. Elde edilen lenfosit fraksiyonu toplanarak yeni bir falcon tüpe alındı.

6. Lenfosit fraksiyonu üzerine 1:1 oranında PBS eklenerek tüpler 1600 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

7.Süpernatant atılarak pellet içerisinde bulunan lenfosit fraksiyonu -80°C'de saklandı.

3.5.2. RNA İzolasyonu

İzole edilen lenfosit örneklerinden Quick RNA Miniprep Zymo İzolasyon Kiti (Almanya) kullanılarak protokole uygun bir şekilde RNA izolasyonu yapılmıştır. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında hasta ve kontrol örneklerine ait RNA'lar -80°C dondurucuda saklanmıştır.

1.Tam kandan izole edilen lenfosit örnekleri 5 dk çözünmesi için bekletildi.

2. Her bir lenfosit örneği üzerine 600 µL RNA Lizis Tamponu ilave edildi.

3.Hücre zarının parçalanmasını sağlamak için tüpler hızlı devirde vortekslendi.

4. Lizis işleminin daha güçlü bir şekilde gerçekleşmesi için oda sıcaklığında tüpler 20 dakika bekletildi.

5.10 saniye vorteksleme işlemi yapıldı.

6. Tüm örnekler hasta isimleri yazılan sarı kapaklı santrifüj tüplerine transfer edildi.

7. Örnekler 22°C 12.000 g' de 30 saniye santrifüj edildi.

8. Her bir örneğin üzerine 1:1 oranında %100 etanol eklenerek pipetaj yapıldı.

9. Pipetaj işleminden sonra içerik yeşil santrifüj tüpüne aktarıldı.

10. Örnekler 22°C 12.000 g' de 30 saniye santrifüj edildi.

11. RNA'lar filtrede kalacak şekilde yeşil tüplerin alt kısmında bulunan sıvılar boşaltıldı.

12. Her bir tüpteki örneklerin üzerine 400 µL RNA Prep Tamponu ilave edildi.

13. Örnekler 22°C 12.000 g' de 30 saniye santrifüj edildi.

14. Süpernatant atılarak tüp tekrar yerine takıldı.

15. Örneklerin üzerine 700 µL RNA Yıkama tamponu eklendi.

16. Örnekler 22 °C 12.000 g' de 30 saniye santrifüj edildi.

17. Süpernatant tekrar atılarak tüp yerine takıldı.

18. Örneklerin üzerine 400 µL RNA Yıkama tamponu ilave edildi.

19. Örnekler 22°C 12.000 g'de 30 saniye santrifüj edildi.

20. Tüplerin alt kısımları atıldı.

21. Hazırlanan 1,5 µL epandorf tüplerin içerisine santrifüj tüplerinin üst kısımları takıldı.

22. RNaz içermeyen sudan 50 µL alınarak örneklerin üzerine bırakılmıştır.

23. Örnekler 22°C 12.000 g' de 30 saniye santrifüj edildi.

24. Santrifüj tüplerinin üst kısımları atılarak ependorf tüpler kapatıldı.

25. Örnekler -80°C'de muhafaza edildi.

3.5.2.1. RNA Miktarı ve Saflığının Tayini

İzole edilen RNA'lardan 1'er µl RNA örneği Nanodrop (İmplen) cihazı kullanılarak ölçüldü. RNA'nın konsantrasyonu 260 nm'deki optik yoğunluktan (OD), RNA'nın saflığı ise 260 nm/ 280 nm'deki OD değeri dikkate alınarak belirlendi. RNA'nın konsantrasyonu ve saflığını belirlemede kullanılan formüller aşağıda verilmiştir.

RNA'nın konsantrasyonu (ng/µl) = OD 260 nm x seyreltilme faktörü x 40

RNA'nın saflığı= OD 260/ OD 280= 2

3.5.2.2. Birinci Normalizasyon

RNA örneklerinden eşit miktarda (400 ng) total RNA alınarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

3.5.3. cDNA Sentezi

cDNA sentezi cDNA Sentez Kiti (Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kiti, Roche, Mannheim, Almanya) kullanılarak aşağıdaki protokole uygun olarak gerçekleştirildi.

1. cDNA sentezi için gerekli kit malzemeleri buz üzerine yerleştirildi.

2.Toplam hacim 13 µl olacak şekilde hexamer primerler ve total RNA karışımı steril PCR tüpü içerisinde Tablo 3.1'e uygun olacak şekilde hazırlandı.

Tablo 3.1: Total RNA ve hexamer primer karışımının oranı.

Bileşen	Hacim	Final Konsantrasyon
Total RNA	400 ng	
Random Hexamer Primer	2 µl	60 µM
dH20	Değişken	Toplam hacim 13 µl
Toplam Hacim	13 µl	

3. Total RNA-primer- su karışımı 65°C'de 10 dk ve 4°C'de 1 dk inkübasyon yapılarak RNA denatüre edildi.

4. Total RNA-primer karışımını içeren tüpe, buz üzerinde RT reaksiyonunun diğer bileşenleri Tablo 3.2'ye uygun şekilde eklendi.

Tablo 3.2: RT reaksiyonunda kullanılan maddelerin konsantrasyonları

Bileşen	Hacim	Final Konsantrasyon
Transkriptör Ters Transkriptaz Reaksiyon Buffer,5x kons.	4 µl	1x 8 mM $MgCl_2$
Koruyucu RNase Inhibitor, 40 U/µl	0,5 µl	20 U
Deoksinükleotid Mix, 10 mM	2 µl	1 mM
Transkriptör Ters Transkriptaz, 20U/µl	0,5 µl	10 U
Toplam Hacim	20 µl	

5. PCR tüpü içerisine alınan reaksiyon karışımı pipetaj yapıldı ve santrifüjlendi.

6. RT reaksiyonu termal döngü cihazı kullanılarak 25°C'de 10 dk, 55°C'de 30 dk, 85°C'de 5 dk ve +4°C'de ∞ sıcaklık döngüleri kullanılarak gerçekleştirildi**.**

7. cDNA sentezi sonrası örnekler -20°C'de muhafaza edildi.

3.5.4. Kantitatif-Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Gen İfade Düzeyinin Belirlenmesi

Hasta ve kontrol gruplarının RNA'ları cDNA'ya çevrildikten sonra RT-qPCR tekniği kullanılarak Coromarker genine ait lncRNA ifade düzeyi belirlendi. Elde edilen cDNA

örneklerinden gen ifadesi analizi LightCycler® 480 (Rotkreuz, İsviçre) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Spesifik primer kullanılarak PCR ürünü miktarının ölçülmesine izin veren bir dsDNA bağlayıcı boya olan SYBR Green I kullanılarak kantitatif gerçek zamanlı PCR (RT-qPCR) yöntemi ile gen ifade düzeyleri belirlendi. Coromarker genine (Tablo 3.3:) ait lncRNA ifade düzeyinin doğru bir şekilde ölçülebilmesi için her dokuda ifade edilen genler olan GAPDH housekeeping geni kullanılarak ikinci normalizasyon yapıldı. Kontaminasyon gerçekleşip gerçekleşmediğini saptamak amacı ile kalıp cDNA konulmayan bir örnek negatif kontrol olarak seçildi. Reaksiyonlar 20 µl'lik plakalar içerisinde gerçekleştirildi.

3.5.4.1.İkinci Normalizasyon

Hedef genin ekspresyon düzeyleri GAPDH housekeeping gen ile karşılaştırılarak belirlendi.

Tablo 3.3: RT-qPCR primer özellikleri.

Gen Adı	Dizi	Uzunluk
Coromarker Forward (ileri) primer	5'-AGGGCTGGTGAAAGCTATTGG-3'	21 bç
Coromarker Reverse (geri) primer	5'-ACCACAATGCCTTTGGACTTAACTT-3'	25 bç
Amplikon boyutu	588 bps	

3.5.4.2.RT-qPCR Reaksiyon İçeriğinin Hazırlanması

LncRNA Coromarker geninin ifade düzeyini belirlemek için RT-qPCR işlemi Transcriptor First Strand cDNA Sentez Kiti, Roche, Mannheim, Almanya) ile Roche LightCycler® 480 (Rotkreuz, İsviçre) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. RT-qPCR işlemi için aşağıdaki adımlar izlendi.

1. İleri ve geri primerler 8'e 1 oranında dilüe edildi.

2. Tablo 3. 4'e göre PCR karışımının içeriği hazırlandı.

Tablo 3. 4: PCR karışımının içeriği.

Bileşen	Hacim
H_2O	3 µl
Master Mix	10 µl
PCR Primer Mix, 10x Kons.	2 µl
Toplam Hacim	15

3.Önceden hazırlanan 96'lık plakanın her bir kuyucuğuna 15 µl PCR karışımı ve üzerine 5 µl cDNA eklendi.

4. Tablo 3. 5'te yer alan sıcaklık ve döngü sayısı dikkate alınarak LightCycler® 480 cihazı ile RT-qPCR işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3. 5: LightCycler® 480 RT-qPCR program parametreleri

Programlar				
Program adı	**Döngüler**	**Analiz Modu**		
Pre-İnkübasyon	1	None		
Amplifikasyon	45	Quantification		
Erime Eğrisi	1	Melting Curve		
Soğutma	1	None		
Sıcaklıklar				
Program adı	**Hedef Sıcaklık [°C]**	**Süre [hh:mm:ss]**	**Ramp oranı [°C/s]**	**Acquisition Modu [per °C]**
Pre-İnkübasyon	95 °C	00:10:00	20	None
Amplifikasyon	95 °C	00:00:10	20	None
	62 °C	00:00:00 - 00:00:10	20	None
	72 °C	00:00:05 - 00:00:30	20	Single
Erime Eğrisi	95 °C	00:00:00	20	None
	65 °C	00:00:15	20	None
	95 °C	00:00:00	0,1	Continious
Soğutma	40 °C	00:00:30	20	None

3.6. OKSİDE LDL DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

3.6.1. Kan Plazması İzolasyonu

1. ETDA'lı tüpler 15 dk oda sıcaklığında bekletildi.

2. Daha sonra tüpler +4°C'de 2500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi.

3. Kan plazması mikropipet yardımı ile toplanarak 2-3 ependorf tüpe alındı.

4. Tüpler -20°C'de muhafaza edildi.

3.6. 2. ELİSA Testi ile Okside LDL Düzeyinin Belirlenmesi

1. **Örneklerin Hazırlanması:** Örnekler çözününce her bir örnekten 200 µl plazma çekilerek numaralandırılan 2 ml'lik ependorf tüplere konuldu. Daha sonra her örneğin üzerine 200 µl LDL Precipitation Solution konuldu. Pipetaj yapılarak 5 dk oda sıcaklığında bekletildi. 2000 x g'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice aspire edilerek pellet toplandı. 1,6 mL PBS içinde pellet yeniden süspanse edilerek çözündürüldü ve iyice vortekslendi.

2. Örnekleri sulandırılması: Örnekler 1:800 oranında sulandırıldı.

3. Standartları hazırlanmsı: 1.5 ml lik ependorf tüplere 1-8 arası numara verildi.

Std 1- 10 µl standart + 998 µl Assay diluent konuldu.

Std 2- Std 1'den 250 µl çekilerek üzerine 250 µl Assay diluent konuldu.

Std 3- Std 2'den 250 µl çekilerek üzerine 250 µl Assay diluent konuldu.

Std 4- Std 3'ten 250 µl çekilerek üzerine 250 µl Assay diluent konuldu.

Std 5-Std 4'ten 250 µl çekilerek üzerine 250 µl Assay diluent konuldu.

Std 6- Std 5'ten 250 µl çekilerek üzerine 250 µl Assay diluent konuldu.

Std 7-Std 6'dan 250 µl çekilerek üzerine 250 µl Assay diluent konuldu.

Std 8- Son tüpe sadece 250 µl Assay diluent konuldu.

4. Anti-CML Antikor Kaplı Plate'e 100 µL 8x2 standart ve 78 adet 100 µL örnek ilave edildi.

5. Plate Al folyo ile kapatılarak çalkalayıcıda 2 saat boyunca inkübe edildi.

6. Plate 250 µL 1X Yıkama Tamponu ile 3 kez yıkandı.

7. Her bir kuyucuğa 100 µL Bloklama Reaktifi konuldu.

8. Plate Al folyo ile kapatılarak çalkalayıcıda 1 saat boyunca inkübe edildi.

9. Plate 250 µL 1X Yıkama Tamponu ile 5 kez yıkandı.

10. Her bir kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş Biyotinlenmiş Anti-İnsan ApoB-100 antikoru ilave edildi.

11. Plate Al folyo ile kapatılarak çalkalayıcıda 1 saat boyunca inkübe edildi.

12. Plate 250 µL 1X Yıkama Tamponu ile 5 kez yıkandı.

13.Her bir kuyucuğa 100 µL seyreltilmiş Streptavidin-Enzim Konjugatı eklendi.

14. Plate Al folyo ile kapatılarak çalkalayıcıda 1 saat boyunca inkübe edildi.

15. Plate 250 µL 1X Yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.

16. Substrat Solüsyonunu oda sıcaklığına getirilerek boş kuyucuklar da dahil olmak üzere her kuyucuğa 100 µL Substrat Solüsyonu ilave edildi.

17. Plate Al folyo ile kapatılarak çalkalayıcıda 5 dakika inkübe edildi.

18. Her bir kuyucuğa 100 µL Durdurma Çözeltisi eklenerek enzim reaksiyonu durduruldu.

19. Her bir kuyucuğun absorbansı 450 nm'de bir mikroplaka okuyucuda okundu.

3.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel analiz SPSS 23.00 yazılım programı kullanılarak yapıldı. Nicel veriler için normallik analizi Kolmogorov Smirnov testi kullanılarak hesaplandı. Gruplar arası karşılaştırma için Mann Whithey U testi kullanıldı. Sürekli sayısal değerler ortalama ± standart sapma (SD) ve kategorik değerler gözlem sayısı (n) ve/veya yüzde (%) ile ifade edildi. Çalışma ve kontrol grubundaki kategorik değişkenler ki-kare ($\chi 2$) veya Fisher's exact testi ile karşılaştırıldı. RT-qPCR deneyleri sonucu elde edilen Ct değerleri, göreceli ekspresyon düzeylerini belirlemek üzere $2^{-\Delta Ct}$ ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formüllerine göre hesaplandı. Gen ekspresyon düzeyleri ile kan değerleri arasındaki ilişki Spearman's korelasyon testi kullanılarak karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Aterosklerozlu hastalarda lncRNA Coromarker ekspresyonu ile ox-LDL düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptığımız çalışmamız hasta ve kontrol grupları olmak üzere iki grup üzerinde yürütülmüştür. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Polikliniğine başvurarak ateroskleroz tanısı alan 94 hasta (n=50 KAH ve n=44 PAH) ve 97 sağlıklı kontrolden alınan kan örnekleri analiz edilerek tez çalışmamız gerçekleştirildi. Hasta grubu 43-83 yaş aralığında 72 erkek ve 22 kadın, kontrol grubu ise 25-82 yaş aralığında 62 erkek ve 35 kadından oluşturuldu.

Tablo 4.1'de hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal ve demografik özellikleri açısından karşılaştırılması gösterilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet, ALT, AST, LDH, trigliserid, Magnezyum, CK, CK-MB, ürik asit değerleri karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Diğer taraftan yaş, üre, açlık kan şekeri (AKŞ), total protein, kreatinin, albümin, CRP, total kolesterol, LDL-, HDL-kolesterol değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 4.1:).

Tablo 4.1: Hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal ve demografik özellikleri açısından karşılaştırılması.

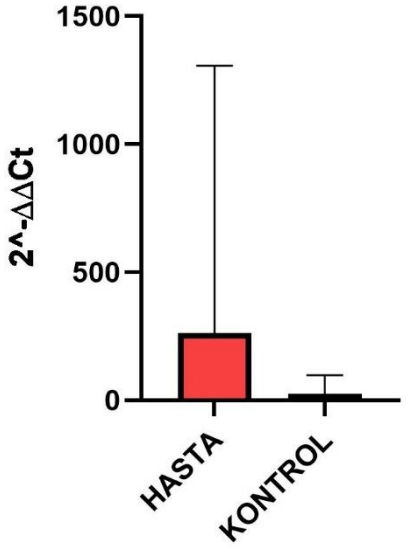
Değişken	Hasta Grubu (n=94)	Kontrol Grubu (n=97)	p
Yaş (Ort. ± SD)	62,73 ± 8,84	57,11 ± 9,84	**<0,001**
Cinsiyet (E/K)	72/22	62/35	0.056
ALT (IU/L)	20,45 ± 11,25	20,78 ± 10,11	0,584
AST (IU/L)	26,73 ± 21,14	19,27 ± 5,21	0.285
Albümin (g/dl)	3,73 ±0,54	6,55 ± 8,84	**<0,001**
Total Protein (g/dl)	6,17± 0,94	7,17 ± 0.36	**<0,001**
Kreatinin (mg/dl)	1,12 ± 0.96	0,82 ± 0.23	**<0,001**
AKŞ (mg/dl)	140,70 ± 66,68	96,71 ± 28,58	**<0,001**
Üre (mg/dl)	43,05 ± 22,42	30,73 ± 8,83	**<0,001**
LDH (U/L)	257,91± 140,08	210,41 ± 51,47	0.637
CRP (mg/L)	46,96 ± 77,07	4,90 ± 5,44	**<0,001**
HDL-kolesterol (mg/dl)	41,86 ± 13,02	51,11 ± 16,27	**<0,001**
LDL-kolesterol (mg/dl)	111,33 ± 85,61	129,25 ± 43,04	**0.002**
Total Kolestrol (mg/dl)	170,99 ± 45,06	195,15 ± 47,24	**0.012**
Trigliserid (mg/dl)	184,60 ± 229,14	144,02 ± 79,92	0.406
Mg (mg/dl)	2,08 ± 0,61	2,14 ± 0,20	0.067
CK (U/L)	282,77 ± 429,13	151,00 ± 117,51	0.968
CK-MB (U/L)	27,40 ± 22,73	14,04 ± 6,99	0.108
Ürik Asit (mg/dl)	5,74 ± 1,87	5,46 ± 2,09	0.885

Sonuçlar ort ± SD olarak verilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarına ait lncRNA Coromarker geninin ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda Coromarker ekspresyon düzeyleri yüksek bulunmuş ancak istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamamıştır (p>0,05) (Tablo 4.2:) (Şekil 4.1:).

Tablo 4.2: Hasta ve kontrol gruplarının lncRNA Coromarker gen ekspresyonu açısından kıyaslanması

LncRNA Coromarker Ekspresyonu	Hasta Grubu (n=94)	Kontrol Grubu (n=97)	p
Coromarker ($2^{-\Delta Ct}$)	1,36 ± 5,40	0,13 ± 0,37	0,320
Coromarker ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	262,74 ± 1044,12	25,25 ± 73,07	0,320



Şekil 4.1: Hasta ve kontrol gruplarının lncRNA Coromarker geni kat değişimi

Hasta ve kontrol grupları arasında ox-LDL düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0,05) (Tablo 4.3:).

Tablo 4.3: Hasta (KAH ve PAH) ve kontrol gruplarının ox-LDL düzeyleri açısından kıyaslanması

	Hasta Grubu [KAH ve PAH (n=43)]	Kontrol Grubu (n=23)	p
Ox-LDL	1628,15 ± 1674,31	2695,27 ± 3047,92	0.189

Coromarker gen ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet değişkenine göre karşılaştırıldığında hem kontrol hem de hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı (p>0,05) (Tablo 4.4:).

Tablo 4.4: Hasta ve kontrol gruplarında lncRNA Coromarker geninin ekspresyon düzeyinin cinsiyet açısından karşılaştırılması

	Cinsiyet	Coromarker lncRNA Ekspresyon Düzeyi ($2^{-\Delta Ct}$)	Coromarker lncRNA Ekspresyon Düzeyi ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	p
Hasta	Erkek (n=72)	1,70 ± 6,14	328,84 ± 1186,41	0,851
Grubu	Kadın (n=22)	0,24 ± 0,37	46,40 ± 71,49	
Kontrol	Erkek (n=62)	0,11 ± 0,38	23,11 ± 74,80	0,702
Grubu	Kadın (n=35)	0,15 ± 0,36	29,04 ± 70,82	

Ox-LDL düzeylerinin cinsiyet açısından karşılaştırılması sonucunda hem hasta hem de kontrol gruplarında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05) (Tablo 4.5:).

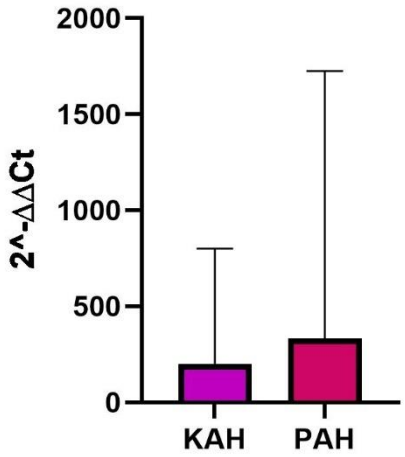
Tablo 4.5: Hasta ve kontrol gruplarında ox-LDL düzeyinin cinsiyet açısından karşılaştırılması.

	Cinsiyet	Ox-LDL Düzeyi	p
Hasta	Erkek (n=32)	1434,23 ± 1379,81	0.436
Grubu	Kadın (n=11)	2192,28 ± 2324,09	
Kontrol	Erkek (n=19)	2601,60 ± 2714,56	0.417
Grubu	Kadın (n=4)	3140,17 ± 4857,26	

Hasta grubu vaka tiplerinden PAH ve KAH gruplarına ait lncRNA Coromarker geninin ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p>0,05) (Tablo 4.6:) (Şekil 4.2:).

Tablo 4.6: KAH ve PAH gruplarının lncRNA Coromarker gen ekspresyonu açısından kıyaslanması

LncRNA Coromarker Ekspresyonu	KAH (n=50)	PAH (n=44)	p
Coromarker ($2^{-\Delta Ct}$)	1,04 ± 3,10	1,72 ± 7,21	0,289
Coromarker ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	201,02 ± 599,40	332,87 ± 1392,48	0,289



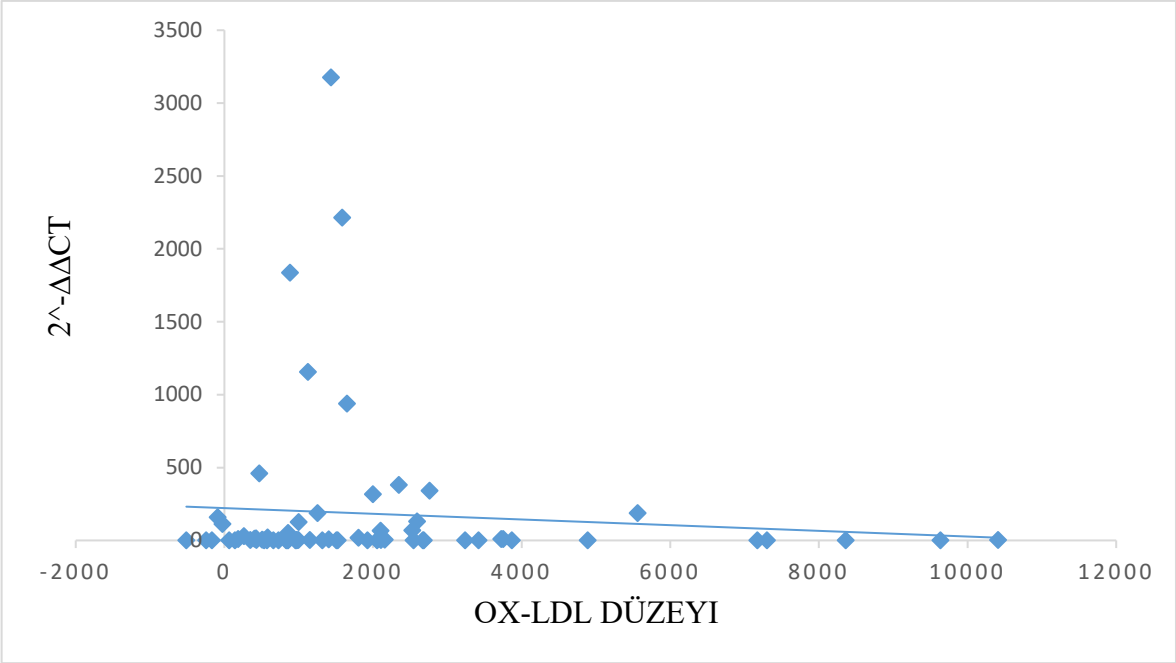
Şekil 4.2: KAH ve PAH gruplarının lncRNA Coromarker gen ekspresyon düzeyleri

KAH ve PAH grupları arasındaki ox-LDL düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0,05) (Tablo 4.7:).

Tablo 4.7: KAH ve PAH gruplarının ox-LDL düzeyleri açısından kıyaslanması.

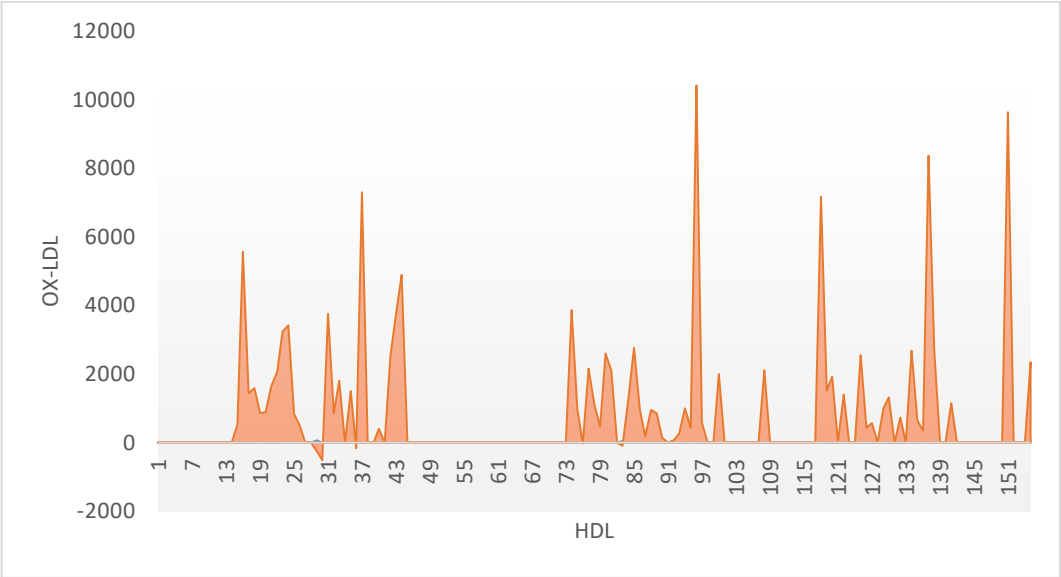
	KAH (n=24)	**PAH (n=19)**	p
Ox-LDL	2016,49 ± 1956,63	1137,62 ± 1092,77	0,203

Coromarker gen ekspresyon düzeyleri ile ox-LDL düzeyleri arasındaki ilişki verilerimiz normal dağılım göstermediği için Spearman's rho korelasyon testi kullanılarak incelendi. Hasta grubunda Coromarker gen ekspresyon düzeyleri ile ox-LDL düzeyleri arasında pozitif yönlü ve zayıf bir korelasyon olduğu tespit edildi (r_s=0,06, p=0,712), ancak sonuçlar istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı (Şekil 4.3:).



Şekil 4.3: Hasta grubu Coromarker kat değişimi ile ox-LDL düzeyleri arasındaki ilişki.

Coromarker gen ekspresyonu düzeyleri ile açlık kan şekeri düzeyleri karşılaştırıldığında düşük düzeyde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edildi ancak istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı (r_s = 0,18, p = 0,086). Hasta grubunda ox-LDL düzeyleri ile HDL-kolesterol düzeyleri arasında ters yönde, orta düzeyde ve anlamlı bir korelasyon olduğu gözlendi (r_s =-0.421, p = 0,009) (Şekil 4.4:).



Şekil 4.4: Hasta grubu ox-LDL düzeyleri ile HDL-kolesterol düzeyleri arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Ateroskleroz, lipid birikimi ve büyük arterlerde gelişen inflamasyon sonucu ortaya çıkan, miyokard enfarktüsü (MI) ve inme gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilen en yaygın kardiyovasküler hastalıktır. Yavaş ilerleyen bir hastalık olan ateroskleroz sıklıkla yaşlı bireylerde görülmekte ve bazı ülkelerdeki insidansın azalmasına rağmen dünya çapında önde gelen ölüm nedeni olmaya devam etmektedir [101].

LDL oksidasyonunun aterosklerotik modifikasyonların en belirgin biçimlerinden birini temsil ettiği ve insan aterosklerotik plaklarında ox-LDL'nin varlığı göz önüne alındığında, ox-LDL endotel fonksiyon bozukluğunu tetiklemek ve vasküler bozukluklara aracılık etmek için proaterojenik bir uyarıcı görevi görmektedir. Araştırmacılar, ox-LDL'nin endotel fonksiyon bozukluğu için umut verici bir terapötik hedef olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ox-LDL'nin aterojenik rolü ve dahil olduğu sinyal yollarının daha iyi anlaşılması, kardiyovasküler hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için yeni terapötik hedeflerin keşfine zemin hazırlayabilir [349]. Ox-LDL'nin epigenetik mekanizmalarının anlaşılması, gen ekspresyonu değişikliklerine dahil olan yolakların ayrıntılı analizi yeni kardiyovasküler ilaç geliştirmede önemli rol oynayabilir. Özellikle, KAH hastalarındaki yüksek ox-LDL düzeylerini düşürmek için yaşam tarzı değişiklikleri ve farmakolojik tedavi, metabolik ve epigenetik yeniden programlama yoluyla endotel hücrelerindeki bağışıklık yolaklarını indükleyebilir [350]. Oksidasyona özgü biyobelirteçler, özellikle apolipoprotein B-100 içeren lipoproteinler (OxPL/ApoB) ve lipoprotein (a) üzerindeki oksitlenmiş fosfolipidler (OxPL) periferik arter hastalığı (PAH) riski ile ilişkilendirilmiştir ve bu da OxPL'nin Lp(a)'ya aracılık ettiği aterosklerozun patofizyolojisindeki temel rolünü güçlendirmektedir [351].

Ateroskleroz mekanizmasının temelinde yer aldığı PAH VE KAH'nın oluşum sürecinde oksidasyona sebep olan biyobelirteçler önemli bir rol oynamaktadır. Bu belirteçlerden ox-LDL'nin etkisi birçok araştırmada gösterilmiştir. Ortaya çıkan kanıtlar, ox-LDL ve diğer aterojenik uyarıcıların endotel hücrelerinde lncRNA'lar gibi epigenetik faktörlerin ifadesini de düzenlediğini göstermiştir [352]. Singh ve diğ.'nin [353] yaptıkları araştırmada ox-LDL stimülasyonunu takiben endotel hücrelerindeki lncRNA'ların ifade profilleri değerlendirilmiş, taranan 30.584 lncRNA'dan 923'ünün ox-LDL maruziyetine yanıt olarak önemli ölçüde ekspresyonunun artış gösterdiği ve 975'inin ise azalma gösterdiği saptanmıştır.

Uzun kodlamayan RNA'ların kardiyovasküler hastalık patogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir. Dolaşımdaki lncRNA'ların KAH için bir biyobelirteç olma olasılığı Yang ve diğ. [302] tarafından yapılan bir araştırmada ortaya konmuştur. Esas olarak monositlerden gelen hücre dışı veziküllerde bulunan lncRNA AC100865.1'in (CoroMarker) düzeylerinin plazmada stabil olduğu gösterilmiştir. LncRNA CoroMarker'ın KAH için stabil, hassas ve spesifik bir biyobelirteç olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bian ve diğ. [354] tarafından yapılan araştırmada ise lncRNA NORAD'ın baskılanması, ox-LDL kaynaklı reaktif oksijen türlerini, malondialdehiti, p-IKBα ekspresyon düzeylerini ve NF-κB'nin nükleer translokasyonunu ve proinflamatuar moleküllerden ICAM, VCAM ve IL-8 düzeyini artırmıştır. Ren ve diğ. [355] de lncRNA AC100865.1'in aşırı ekspresyonunun, miR-7/GDF5/p38/LFA-1 yolağı aracılığıyla RAW264.7 hücrelerinin adezyonunu ve CD36 seviyelerini yükselterek ox-LDL alımını artırdığını saptamıştırlar. Son olarak Gao ve diğ. [356] tarafından yapılan araştırmada da ox-LDL verilen insan göbek kordonu endotel hücrelerinde lncRNA MIAT ekspresyonunun artış gösterdiği ve MIAT'ın baskılanmasının hücre canlılığını, invazyonu, göçünü ve epitel-mezenkimal geçişi önemli ölçüde artırdığı ve ayrıca hücre apoptozunu ve interlökin (IL)-1β, tümör nekroz faktörü (TNF)-α ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) düzeylerini baskıladığı gösterilmiştir.

Biz de çalışmamızda, aterosklerozlu hasta ve sağlıklı kontrol grubunda kardiyovasküler bir biyobelirteç olarak bildirilmiş olan lncRNA CoroMarker'ın ekspresyon düzeylerini ve ox-LDL düzeyleri ile olan ilişkisini belirlemeyi amaçladık. Hasta ve kontrol grupları biyokimyasal parametreler açısından incelendiğinde serum CRP, üre, kreatinin, açlık kan şekeri ve HDL-kolesterol düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi. Ayrıca, CoroMarker ekspresyon düzeylerinin aterosklerozlu hastalarda (KAH ve PAH) sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde ifade edildiği saptandı, ancak sonuçlarımız istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı. Bunun nedeni çalışmamıza dahil edilen aterosklerozlu hasta sayısının yeterli sayıda olmamasından kaynaklanabilir.

Yang ve diğ.'nin çalışmasında plazma CoroMarker düzeyleri ile erkek cinsiyeti, sigara ve alkol kullanımı, hipertansiyon arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir [302]. Çalışmamızda, hasta ve kontrol gruplarında CoroMarker gen ekspresyon düzeyleri ile cinsiyet dağılımı arasındaki olası ilişki değerlendirilmiş, ancak bu iki değişken arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bu bulgu, CoroMarker ekspresyonunun cinsiyetten bağımsız olarak düzenlenebileceğini düşündürmektedir. Ancak, örneklem büyüklüğünün sınırlı

olması ve komorbidite ve ilaç kullanımı gibi diğer olası etmenlerin göz önünde bulundurulamamış olması, bu sonucun genellenebilirliğini kısıtlayabilir.

LncRNA Coromarker'ın KAH gelişimi ve ilerlemesindeki işlevleri henüz tam olarak araştırılmamıştır. Liu ve diğ. [18] tarafından yapılan bir araştırmada KAH hastalarında CoroMarker ile koroner stenoz, inflamatuar sitokin düzeyleri ve plak kırılganlığı arasındaki ilişki incelenmiştir. Dolaşımdaki lncRNA CoroMarker ekspresyonunun, KAH hastalarında hastalık şiddetinin ve inflamasyonun artışının yanı sıra plak kırılganlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan Scheurer ve diğ. [303] tarafından yapılan çalışmada, kardiyovasküler hastalık, inflamasyon, enfeksiyon hastalıkları ve hava kiriliiği ile ilişkili akciğer hastalığı ile ilişkilendirilmiş dört lncRNA'nın in vivo ve in vitro ortamda ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Zn/Cu metal kaynak dumanına maruz kalan 14 bireyden alınan tam kan hücrelerinde, başlangıç seviyesine kıyasla maruziyet başlangıcından altı saat sonra CoroMarker ekspresyonunda önemli bir azalma tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Zn/Cu metal dumanına maruz kalan THP-1 makrofajlarında 4 saatte CoroMarker ekspresyonunda anlamlı olmayan bir artış gözlenmiştir. THP-1 makrofajlarında iki saat ve dört saat sonra CoroMarker düzeylerinin artışı bulgusunun nedeni için ise ek araştırmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda, CoroMarker ekspresyon düzeyleri ile ox-LDL arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık. Coromarker ekspresyonu ile oxLDL arasında zayıf yönlü pozitif bir korelasyon saptandı ancak istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı. Hasta grubunda ox-LDL düzeyleri kontrol grubuna kıyasla daha düşük olarak gözlendi. Bu durumun, hasta grubundaki bireylerin tamamının kolesterol düşürücü ilaç kullanmasıyla ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir.

Cai ve diğ. [19] tarafından yapılan bir çalışmada, CoroMarker'ın KAH biyobelirteci olarak duyarlılığının %76, özgüllüğünün ise %92,5 olduğu saptanmıştır. CoroMarker'ın sinyal iletimi, transmembran taşıma, sinaptik iletim ve doğuştan bağışıklık ile ilgili genlerle pozitif ilişkili, inflamasyonla ilişkili genlerle negatif ilişkili olduğu saptanmıştır. THP-1 hücrelerinde CoroMarker'ın siRNA kullanılarak susturulması sonucu kültür ortamındaki proinflamatuar sitokinlerin [interlökin (IL)-1β, IL-6 ve tümör nekroz faktörü α] konsantrasyonlarının azaldığı gözlenmiş ve CoroMarker'ın aterosklerozun inflamatuvar yanıtında önemli bir düzenleyici rol oynayabileceği bildirilmiştir.

Lipid profili, düşük HDL kolesterol, yüksek LDL kolesterol, yüksek total kolesterol, yüksek trigliseritler ve LDL'nin oksitlenmiş fraksiyonu risk faktörleri olarak KAH oluşum

sürecinde önemli bir rol oynamaktadır [357]. Çalışmamızda, ox-LDL düzeyleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde ox-LDL düzeyleri ile PAH ve KAH hastalarının HDL-kolesterol düzeyleri arasında ters yönde, orta düzeyde ve anlamlı bir korelasyon olduğu saptandı. Bunun yanı sıra, CoroMarker gen ekspresyonu düzeyleri ile açlık kan şekeri düzeyleri karşılatırıldığında düşük düzeyde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edildi ancak istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamadı.

Literatürde, lncRNA CoroMarker KAH için stabil, hassas ve spesifik bir biyobelirteç olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu periferik kan mononükleer hücreleri lncRNA CoroMarker ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında, hasta grubunda Coromarker ekspresyonunun yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamaması, lncRNA CoroMarker ile hastalık etiyolojisi arasında zayıf bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Ateroskleroz, ana bileşeni lipid birikimi ve büyük arterlerin iltihabı olan, klinik komplikasyonlara, miyokard enfarktüsüne (MI) ve inmeye yol açabilen en yaygın kardiyovasküler hastalık türüdür. Ateroskleroz, dünya çapında önde gelen ölüm nedeni olmaya devam etmektedir. Ateroskleroz temelli hastalıklar olan KAH ve PAH önemli bir sosyoekonomik yük oluşturmaktadır. Bu nedenle, aterosklerozun erken evrede teşhis edilebilmesi için uygun biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. LncRNA CoroMarker son yıllarda KAH için bir biyobelirteç olarak önerilmesine rağmen bu konuda sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır. Çalışmamızın amacı aterosklerozlu hastalarda lncRNA Coromarker ile ox-LDL düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesidir. Çalışmamız, aterosklerozda lncRNA CoroMarker ile ox-LDL düzeylerinin karşılaştırıldığı ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Araştırma sonucunda hasta grubunda Coromarker gen ekspresyon düzeyleri ile ox-LDL düzeyleri arasında pozitif yönlü ve düşük düzeyde bir korelasyon olduğu tespit edilmiş ancak sonuçlar istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşamamıştır. Bunun nedeni sınırlı örneklem büyüklüğünden kaynaklı olabilir. Ayrıca, çalışmamız PAH grubunda lncRNA CoroMarker ekspresyonunu inceleyen literatürde ilk araştırma olma özelliğini taşıdığından dolayı literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada sınırlı sayıda hastaya ulaşıldığı için ileride yapılacak çalışmalarda geçerliliği ve güvenirliği arttırmak için hasta sayısının artırılması hedeflenmektedir. Çalışmamız, daha ileri araştırmalar için temel teşkil etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Sanada, F., Taniyama, Y., Muratsu, J., Otsu. R., Shimizu, H., Rakugi, H. and Morishita, R., 2018, Gene-therapeutic strategies targeting angiogenesis in peripheral artery disease, *Medicines,* 5 (2),31.
2. Soehnlein, O. and Libby, P., 2021, Targeting inflammation in atherosclerosis - from experimental insights to the clinic, *Nat. rev. drug disco,* 20, 589–610.
3. Libby, P.,2021, The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*, 592 (7855), 524-533.
4. Malakar, A. K., Choudhury, D., Halder, B., Paul P., Uddin, A. and Chakraborty, S., 2019, A review on coronary artery disease, its risk factors and therapeutics, *J cell physiol.,* 234 (10),16812-16823.
5. Oteiza, A., Li, R., McCuskey, R. S., Smedsrød, B., Sørensen and K. K., 2011, Effects of oxidized low-density lipoproteins on the hepatic microvasculature, *Am j physiol gastrointest liver physiol*, 301, 684-93.
6. Ginckels, P., and Holvoet, P., 2022, Focus: the science of stress: oxidative stress and inflammation in cardiovascular diseases and cancer: role of non-coding RNAs, *The yale journal of biology and medicine*, 95(1), 129.
7. Libby, P., 2013, Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy, *New england journal of medicine,* 368 (21).
8. Mori, H., Torii, S., Kutyna, M., Sakamoto, A., Finn, A.V., and Virmani, R.,2018, Coronary Artery Calcification and its progression: what does it really mean?, *JACC cardiovasc imaging,* 11(1):127-142.
9. Bonaca, M. P., Scirica, B. M., Creager, M. A., Olin, J., Bounameaux, H., Dellborg, M., ... and Morrow, D. A., 2013, Vorapaxar in patients with peripheral artery disease: results from TRA2° P-TIMI 50, *Circulation*, 127 (14), 1522-1529.
10. Malakar, A.K., Choudhury, D, Halder, B., Paul, P., Uddin, A., and Chakraborty, S., 2019, A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics, *J cell physiol*, 234(10):16812-16823.
11. Divakaran, S., Krawisz, A. K., Secemsky, E.A. and Kant, S., 2023, Sex and racial disparities in peripheral artery disease, *Arterioscler thromb vasc biol.,* 43(11), 2099-2114.
12. Firnhaber, J.M. and Powell, C.S., 2019, Lower extremity peripheral artery disease: diagnosis and treatment, *Am fam physician.,* 99 (6), 362-369.
13. Medina-Leyte, D.J., Zepeda-García, O., Domínguez-Pérez, M., González-Garrido, A., Villarreal-Molina, T. and Jacobo-Albavera, L.,2021, Endothelial dysfunction, ınflammation and coronary artery disease: potential biomarkers and promising therapeutical approaches, *Int j mol sci*., 22(8), 3850.
14. Palazzo A. F. And Lee, E. S.,2015, Non-coding RNA: what is functional and what is junk?, *Frontiers in genetics*, 6, 2.
15. Arunkumar, G., 2024, LncRNAs: the good, the bad, and the unknown, *Biochem cell Biol.*, 102 (1), 9-27.
16. Dempsey, J. L. and Cui, J.Y.,2017, Long non-coding RNAs: a novel paradigm for toxicology, *Toxicol sci.,* 155 (1), 3-21.

17. Cai, H., Yang, Y., Zhou, L. et al.,2015, GW26-e0218 Ccirculating lncRNA AC100865.1 from monocytes as a novel biomarker for coronary artery diseases, *Jacc,* 66 (16S), C73-C73.
18. Liu, G., Hu, X., Li, Y. And Long M., 2022, Circulating long non-coding RNA coromarker expression correlated with inflammation, coronary artery stenosis, and plaque vulnerability in patients with coronary artery disease, *J clin lab anal,* 36 (11).
19. Cai, Y., Yang, Y., Chen, X., Wu, G., Zhang, X., Liu, Y., Yu, J., Wang, X., Fu, J,. Li, C., Jose, P. A., Zeng, C. and Zhou, L., 2016, Circulating 'lncRNA OTTHUMT00000387022' from monocytes as a novel biomarker for coronary artery disease, *Cardiovasc res.,* 112 (3),714-724.
20. Hennekens, C.H and Gaziano, J.M.,1993, Antioxidants and heart disease: epidemiology and clinical evidence, *Clin cardiol.,* 16(S1), 10-15.
21. Baradaran A.,2012, Lipoprotein(a), type 2 diabetes and nephropathy; the mystery continues, *J nephropathol*., 1, 126-9.
22. Ohashi, R., Mu, H., Yao, Q. and Chen, C.,2004, Atherosclerosis: immunopathogenesis and immunotherapy, *Med sci monit.,* 10 (11), 255-60.
23. Zhang, W. J., Liu, W., Cui, L., and Cao, Y., 2007, Tissue engineering of blood vessel. *Journal of cellular and molecular medicine*, 11 (5), 945-957.
24. Berillis, P., 2013, The role of collagen in the aorta's structure, *The open circulation and vascular journal*, 6 (1).
25. Stegemann, J. P., Kaszuba, S. N., and Rowe, S. L.,2007, Advances in vascular tissue engineering using protein-based biomaterials, *Tissue engineering*, 13 (11), 2601-2613.
26. Ng, H. Y., Lee, K. X. A., Kuo, C. N., and Shen, Y. F., 2018, Bioprinting of artificial blood vessels, *International journal of bioprinting*, 4 (2).
27. Glass, C.K, Witztum, J.L.,2002, Atherosclerosis: the road ahead. *Cell,* 104,503–16
28. Libby, P.,2002, Inflammation in atherosclerosis, *Nature,* 420, 868–74.
29. Hansson, G.K.,2005, Inflammation, atherosclerosis, and coronary arterydisease, *N engl J med,* 352,1685–95.
30. Maiolino, G., Rossitto, G., Caielli, P., Bisogni, V., Rossi, G. P., & Calò, L. A.,2013, The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the facts, *Mediators of inflammation*, 2013 (1), 714653.
31. Libby, P., and Lee, R. T., 2000, Matrix matters, *Circulation*, 102 (16), 1874-1876.
32. Williams, K. J., and Tabas, I., 1998, The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced, *Current opinion in lipidology*, 9 (5), 471-474.
33. Berliner, J. A., Subbanagounder, G., Leitinger, N., Watson, A. D., & Vora, D., 2001, Evidence for a role of phospholipid oxidation products in atherogenesis, *Trends in cardiovascular medicine*, 11 (3-4), 142-147.
34. Yu, X.H., Fu, Y.C., Zhang, D, W., Yin, K. and Tang, C. K.,2013, Foam cells in atherosclerosis, *Clin chim acta.,* 23 (424), 245-52.
35. Guyton, J.R.,2001, Phospholipid hydrolytic enzymes in a ’cesspool’ of arterialintimal lipoproteins: a mechanism for atherogenic lipid accumulation, Arterioscler thromb vasc biol, (21), 884–6.
36. Demer, L. L., 2002, Vascular calcification and osteoporosis: inflammatory responses to oxidized lipids, *International journal of epidemiology*, 31 (4), 737-741.
37. Geng, Y. J., and Libby, P., 2002, Progression of atheroma: a struggle between death and procreation, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 22 (9), 1370-1380.
38. Casscells, W., Hassan, K., Vaseghi, M. F., et al.,2003, Plaque blush, branch location, and calcification are angiographic predictors of progression of mild to moderate coronary stenoses, *American heart journal,* 145 (8) 13–20.

39. Vink, A., Schoneveld, A.H., Richard, W., et al., 2001, Plaque burden, arterial remodeling and plaque vulnerability: determined by systemic factors?, *J am coll cardiol*, 38, 718 – 23.
40. Schaar, J.A., Muller. J.E., Falk, E., et al.,2004, Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. *Europe heart journal,* 25,1077– 82.
41. Minelli, S., Minelli, P. and Montinari, M. R.,2020, Reflections on Atherosclerosis: lesson from the past and future research directions, *J multidiscip healthc.,* 13, 621-633
42. Weber, C. and Noels, H.,2011, Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options, *Nature,* 17, 1410-22.
43. Owen, D.R., Lindsay, A.C., Choudhury, R.P. and Fayad, Z.A.,2011, Imaging of atherosclerosis., *Annu rev med.,* 62, 25-40.
44. Poznyak, A., Grechko, A.V., Poggio, P., Myasoedova, V.A., Alfieri, V. and Orekhov, A.N.,2020, The diabetes mellitus-atherosclerosis connection: the role of lipid and glucose metabolism and chronic ınflammation, *Int j mol sci.,* 6, 21 (5), 1835.
45. Dal Palù, C.,1996, Hypertension and atherosclerosis. *J hum hypertens.,* 10, Suppl 3, 89-92.
46. Pedersen, T.R., Olsson, A.G., Faergeman, O., et al.,1998, Lipoprotein changes and reduction in the incidence of major coronary heart disease events in the scandinavian simvastatin survival study, *Circulation,* 97,1453-1460.
47. von Eckardstein, A., Nordestgaard, B. G., Remaley, A. T., and Catapano, A. L.,2023, High-density lipoprotein revisited: biological functions and clinical relevance*, European heart journal,* 44 (16), 1394-1407.
48. Bajaj, A., Xie, D., Cedillo-Couvert, E., Charleston, J., Chen, J., Deo, R., Feldman, H.I., Go, A.S., He, J., Horwitz, E., Kallem, R., Rahman, M., Weir, M.R., Anderson, A.H. and Rader, D.J.,2019, Cric study investigators. lipids, apolipoproteins, and risk of atherosclerotic cardiovascular disease in persons with ckd, *Am j kidney dis.,* 73 (6), 827-836.
49. Raggi, P., Genest, J., Giles, J.T., Rayner, K.J., Dwivedi, G., Beanlands, R.S. and Gupta, M.,2018, Role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and therapeutic interventions, *Atherosclerosis,* 276, 98-108.
50. Pedro-Botet, J., Climent, E. And Benaiges, D.,2020, Atherosclerosis and inflammation: new therapeutic approaches*, Med clin (barc).,* 155 (6), 256-262.
51. Blinc L, Mlinaric M, Battelino T. and Groselj U.,2020, High-sensitivity c-reactive protein and carotid ıntima media thickness as markers of subclinical ınflammation and atherosclerosis in pediatric patients with hypercholesterolemia, *Molecules,* 25 (21), 5118.
52. Perales-Torres, A.L., Castillo-Ruíz, O., Castañeda Licón, M.T., Alemán-Castillo S.E., Jiménez Andrade J.M.,2016, La diabetes y la alimentación determinantes en la progresión de aterosclerosis [Diabetes and type of diet as determinant factor in the progression of atherosclerosis], *Arch cardiol mex.,* 86 (4), 326-334.
53. Sánchez-Recalde, A. and Carlos Kaski, J., 2001, Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura [Diabetes mellitus, inflammation and coronary atherosclerosis: current and future perspectives], *Rev esp cardiol,* 54 (6), 751-63.
54. Csige, I., Ujvárosy, D., Szabó, Z., Lőrincz, I., Paragh, G., Harangi, M. and Somodi, S., 2018, The ımpact of obesity on the cardiovascular system, *J diabetes res.,* 3407306.
55. Rocha, V.Z. and Libby, P.,2009, Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat rev cardiol.,* 6 (6), 399-409.

56. Young, D.R., Hivert, M.F., Alhassan, S., et al.,2016, Sedentary behavior and cardiovascular morbidity and mortality: A science advisory from the American Heart Association, *Circulation*, 134, 262–279.
57. Piercy, K.L., Troiano, R.P., Ballard, R.M., et al.2018, The physical activity guidelines for Americans, *Jama,* 320, 2020–2028.
58. Tyrrell, D. J., and Goldstein, D. R.,2021, Ageing and atherosclerosis: vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6, *Nature reviews cardiology,* 18 (1), 58-68.
59. Debreceni L.,2001, Homocisztein--az érelmeszesedés rizikófaktora [Homocysteine--a risk factor for atherosclerosis], *Orv hetil.,* 142 (27), 1439-44.
60. Stanger, O., Herrmann, W., Pietrzik, K., Fowler, B., Geisel, J., Dierkes, J, and Weger M.,2004, Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. *Z kardiol.,* 93 (6), 439-53.
61. Münzel, T., Sørensen, M., Gori, T., et al.,2017, Environmental stressors and cardio-metabolic disease: part II –mechanistic insights. *Eur heart j*, 38, 557–564.
62. Munzel, T., Sorensen, M., Gori, T. et al., 2017, Environmental stressors and cardio-metabolic disease: part I –Epidemiologic evidence supporting a role for noise and air pollution and effects of mitigation strategies, *Eur heart j* 38, 550–556.
63. Barnoya, J. And Glantz, S.A.2005, Cardiovascular effects of secondhand smoke: Nearly as large as smoking, *Circulation*, 111, 2684–2698.
64. Hurtubise, J., McLellan, K., Durr, K., Onasanya, O., Nwabuko, D., and Ndisang, J. F.,2016, The different facets of dyslipidemia and hypertension in atherosclerosis, *Current atherosclerosis reports,* 18, 1-12.
65. Gronewold, J., Kropp, R., Lehmann, N., Stang, A., Mahabadi, A. A., Kälsch, H., ... and Hermann, D. M.,2019, Cardiovascular risk and atherosclerosis progression in hypertensive persons treated to blood pressure targets, *Hypertension,* 74 (6), 1436-1447.
66. Kobayashi, M., and Uesugi, S.,1995, The role of hypertension as a risk factor of atherosclerosis. Rinsho byori, *The japanese journal of clinical pathology,* 43 (2), 104-110.
67. Cersosimo, E., and DeFronzo, R. A.,2006, Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases, *Diabetes/metabolism research and reviews,* 22 (6), 423-436.
68. Kearney, M.T., Duncan, E.R., Kahn, M. and Wheatcroft, S.B.,2008, Insulin resistance and endothelial cell dysfunction: studies in mammalian models, *Exp physiol.,* 93 (1), 158-63.
69. Federici, M. and Lauro, R.,2005, Review article: diabetes and atherosclerosis--running on a common road. *Aliment pharmacol ther*, Suppl 2, 11-5.
70. Vallejo-Vaz A. J,. Corral, P., Schreier. L.and Ray, K.K.,2020, Triglycerides and residual risk, *Curr opin endocrinol diabetes obes.,* 27 (2), 95-103.
71. Generoso, G., Janovsky, C. C., and Bittencourt, M. S.,2019, Triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins in the development and progression of atherosclerosis *Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity,* 26 (2), 109-116.
72. Fransén, K., Pettersson, C. and Hurtig-Wennlöf A.,2022, Crp levels are significantly associated with crp genotype and estrogen use in the lifestyle, biomarker and atherosclerosis (lba) study, *Bmc cardiovasc disord*., 22 (1), 170.

73. Moutachakkir, M., Lamrani Hanchi, A., Baraou, A., Boukhira, A. and Chellak, S., 2017, Immunoanalytical characteristics of c-reactive protein and high sensitivity c-reactive protein, *Ann biol clin (paris),* 75 (2), 225-229.
74. Kohl, H. W., Craig, C. L., Lambert, E. V., Inoue, S., Alkandari, J. R., Leetongin, G., and Kahlmeier, S.,2012, The pandemic of physical inactivity: global action for public health, *The lancet*, 380 (9838), 294-305.
75. Buch, A. N., Coote, J. H., and Townend, J. N.,2002, Mortality, cardiac vagal control and physical training–what's the link?, *Experimental physiology*, 87 (4), 423-435.
76. Sobieszczańska, M., Kałka, D., Pilecki, W., Adamus, J.,2009, Physical activity in basic and primary prevention of cardiovascular disease], *Pol merkur lekarski.,* 26 (156):659-64.
77. Rosengren, A., Hawken, S., Ôunpuu, S., Sliwa, K., Zubaid, M., Almahmeed, W. A., ... and Yusuf, S.,2004, Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11 119 cases and 13 648 controls from 52 countries (the Interheart study): case-control study, *The Lancet*, 364 (9438), 953-962.
78. Steptoe, A., and Kivimäki, M.,2012, Stress and cardiovascular disease, *Nature reviews cardiology*, 9 (6), 360-370.
79. Ahmadi, N., Hajsadeghi, F., Mirshkarlo, H. B., Budoff, M., Yehuda, R. and Ebrahimi, R., 2011, Post-traumatic stress disorder, coronary atherosclerosis, and mortality, *The american journal of cardiology*, 108 (1), 29-33.
80. Diez Roux A.V., Ranjit, N., Powell L, et al.,2006, Psychosocial factors and coronary calcium in adults without clinical cardiovascular disease, *Annals of internal medicine,* 144, 822-831
81. Albert, M.A., Ravenell, J., Glynn, R.J., Khera, A., Halevy, N. Aand de Lemos, J.A.,2008, Cardiovascular risk indicators and perceived race/ethnic discrimination in the Dallas Heart Study, *American heart journal,* 156, 1103-1109.
82. Kovacic, S., and Bakran, M.,2012, Genetic susceptibility to atherosclerosis, *Stroke research and treatment,* 2012 (1), 362941.
83. Milewicz, D. M. and Seidman, C. E.,2000, Genetics of cardiovascular disease, *Circulation,* 102, 20, 103–111.
84. Goldstein, J. L., Hobbs, H. H. and Brown, M. S.,2001, *Familial hypercholesterolemia,* metabolic & molecular bases of ınherited disease, In: Scriver C. R., Beaudet A. L., Sly W. S. and Valle D.(ed.)., chapter 2, McGraw-Hill, New York, NY, USA, 8th edition, 2863–22913.
85. Defesche, J. C., Pricker, K. L., Hayden, M. R., van der Ende, B. E. and Kastelein, J. J. P., 1993, Familial defective apolipoprotein B-100 is clinically indistinguishable from familial hypercholesterolemia, *Archives of internal medicine,* 153 (20), 2349–2356.
86. Abifadel, M., Varret, M., Rabes, J. P. et al.,2003, Mutations in PCSK9 ` cause autosomal dominant hypercholesterolemia, *Nature genetics,* 34 (2), 154–156.
87. Bodzioch, M., Orso, E., Klucken, J. et al., 1999, The gene encoding ´ ATP-binding cassette transporter I is mutated in tangier disease, *Nature genetics,* 22 (4), 347–351.
88. Chen, Y., Rollins, J., Paigen, B. And Wang, X.,2007, Genetic and genomic insights into the molecular basis of atherosclerosis, *Cell metabolism,* 6 (3), 164–179.
89. Utermann, G., Pruin, N. and Steinmetz, A., 1979, Polymorphism of apolipoprotein E. III. effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man, *Clinical genetics,* 15 (1), 63–72.

90. Davignon, J., Gregg, R. E. and Sing, C. F.,1988, Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis, *Arteriosclerosis,* 8 (1), 1–21.
91. Eichner, J. E., Dunn, S. T., Perveen, G., Thompson, D. M., Stewart, K. E. and Stroehla, B. C.,2002, Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a huge review, *American journal of epidemiology,*155 (6), 487–495.
92. Calo, L. A., Pagnin, E., Sartori, M., Pessina, A., & Semplicini, A.,2002, P-199: Lack of C242T polymorphism of p22phox in Bartter's and Gitelman's syndromes.:implications for redox state and vascular tone regulation, *American journal of hypertension,* 15(S3), 100A-100A.
93. Ahmad, Z., Blin, J., Rampal, L., Adnan, R.S., Mohtarrudin, N. And Abang Yusuf, DSY., 2023, Association of LDLR, TP53 and MMP9 gene polymorphisms with atherosclerosis in a malaysian study population, *Curr probl cardiol.,* 48 (6), 101659.
94. Jiang, Y. and Qian, H.Y.,2023, Transcription factors: key regulatory targets of vascular smooth muscle cell in atherosclerosis, *Mol med.,*29 (1), 2.
95. Yang, R., Li, L., Seidelmann, S. B. et al., 2010, A genome-wide linkage scan identifies multiple quantitative trait loci for HDL cholesterol levels in families with premature CAD and MI, *Journal of lipid research,* 51 (6), 1442–1451.
96. Mehrabian, M., Allayee, H., Wong, J. et al.,2002, Identification of 5- Lipoxygenase as a major gene contributing to atherosclerosis susceptibility in mice, *Circulation esearch,* 91 (2), 120–126.
97. Ling, D. M. Waterworth, H. A. Stirnadel et al.,2009, Genomewide linkage and association analyses to identify genes influencing adiponectin levels: the GEMS study, *Obesity,* 17 (4), 737–744.
98. Dzau, V. J., Gibbons, G. H., Kobilka, B. K., Lawn, R. M. and Pratt, R. E., 1995, Genetic models of human vascular disease, *Circulation,* vol. 91 (2), 521–531.
99. Paigen, B., Morrow, A. and Brandon, C.,1985, Variation in susceptibility to atherosclerosis among inbred strains of mice, *Atherosclerosis,* vol. 57 (1), 65–73.
100. Koren, O., Spor, A., Felin, J., Fåk, F., Stombaugh, J., Tremaroli, V., Behre, C.J., Knight, R., Fagerberg, B., Ley, R.E., Bäckhed, F.,2011, Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis., *Proc natl acad sci USA,* 108, (suppl 1), 4592–4598.
101. Björkegren, J. L., and Lusis, A. J.,2022, Atherosclerosis: recent developments, Cell, 185 (10), 1630-1645.
102. Kattoor, A.J., Pothineni, N.V.K, Palagiri, D., Mehta, J.L.,2017, Oxidative stress in atherosclerosis, *Curr atheroscler rep.,* 19 (11), 42.
103. Hartley, A., Haskard, D. and Khamis, R.,2019, Oxidized LDL and anti-oxidized LDL antibodies in atherosclerosisn Novel insights and future directions in diagnosis and therapy, *Trends cardiovasc med.,* 29 (1), 22-26.
104. Najafi, M., Roustazadeh, A. and Alipoor, B.,2011, Ox-LDL particles: modified components, cellular uptake, biological roles and clinical assessments, *Cardiovasc hematol disord drug targets,* 11 (2), 119-28.
105. Hansson, G. K., Robertson, A. K. and Soderberg-Naucler, C.,2006, Inflammation and atherosclerosis, *Annual review of pathology*, 1, 297–329.
106. Kita, T., Kume, N., Minami, M., Hayashida, K., Murayama, T., Sano, H., Moriwaki, H., Kataoka, H., Nishi, E., Horiuchi, H., Arai, H., Yokode, M.,2001, Role of oxidized LDL in atherosclerosis, *Ann ny acad sci.,* 947, 199-205, 205-206.

107.Horiuchi, S., Sakamoto, Y., Sakai, M.,2003, Scavenger receptors for oxidized and glycated proteins. *Amino acids.*,25 (3-4), 283-92.
108.Levitan, I., Volkov, S., and Subbaiah, P. V.,2010, Oxidized LDL: diversity, patterns of recognition, and pathophysiology, *Antioxidants & redox signaling,* 13 (1), 39-75.
109.Sakurai, K. and Sawamura, T.,2003, Stress and vascular responses: endothelial dysfunction via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1: close relationships with oxidative stress, *J pharmacol sci.,* 91, 182-6.
110.De Villiers, W. J. S. and Smart, E. J.,1999, Macrophage scavenger receptors and foam cell formation, *Journal of leukocyte biology,* 66 (5), 740–746.
111. De Winther, M. P. and Hofker, M. H.,2000, Scavenging new insights into atherogenesis, *The journal of clinical investigation*, 105 (8), 1039-1041.
112.Dai, X. Y., Cai, Y., Mao, D. D., Qi, Y. F., Tang, C., Xu, Q., ... and Wang, X.,2012, Increased stability of phosphatase and tensin homolog by intermedin leading to scavenger receptor a inhibition of macrophages reduces atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 53 (4), 509-520.
113.Wang D, Huang J, Gui T, Yang Y, Feng T, Tzvetkov NT, Xu T, Gai Z, Zhou Y, Zhang J, Atanasov AG.,2022, SR-BI as a target of natural products and its significance in cancer. *Semin cancer biol.,* 80,18-38.
114.Linton, M. F., Tao, H., Linton, E. F., & Yancey, P. G.,2017, SR-BI: a multifunctional receptor in cholesterol homeostasis and atherosclerosis, *Trends in endocrinology & Metabolism,* 28 (6), 461-472.
115.Webb, N. R., Connell, P. M., Graf, G. A., Smart, E. J., de Villiers, W. J. S., de Beer, F. C.v and an der Westhuyzen, D. R.,1998, SR-BII, an isoform of the scavenger receptor BI containing an alternate cytoplasmic tail, mediates lipid transfer between high density lipoprotein and cells, *J. biol. chem.,* 273, 15241–15248.
116.Kunjathoor, V. V., Febbraio, M., Podrez, E. A., Moore, K. J., Andersson, L., Koehn, S., ... and Freeman, M. W.,2002, Scavenger receptors class AI/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *Journal of biological chemistry*, 277 (51), 49982-49988.
117.Shu, H., Peng, Y., Hang, W., Nie, J., Zhou, N. And Wang, D.W.,2022, The role of CD36 in cardiovascular disease, *Cardiovasc res.,* 118 (1), 115-129.
118.Wang, J. and Li, Y.,2019, CD36 tango in cancer: signaling pathways and functions, *Theranostics.,* 9 (17), 4893-4908.
119.Yang, M. C., Shi, X. Z., Yang, H. T., Sun, J. J., Xu, L., Wang, X. W., ... & Wang, J. X.,2016, Scavenger receptor C mediates phagocytosis of white spot syndrome virus and restricts virus proliferation in shrimp, *Plos pathogens*, 12 (12).
120.Feinberg, H., Taylor, M. E., and Weis, W. I.,2007, Scavenger receptor C-type lectin binds to the leukocyte cell surface glycan Lewisx by a novel mechanism, *Journal of biological chemistry*, 282 (23), 17250-17258.
121.Yamada, Y., Doi, T., Hamakubo, T. And Kodama T.,1998, Scavenger receptor family proteins: roles for atherosclerosis, host defence and disorders of the central nervous system, *Cell mol life sci.,* 54 (7), 628-40.
122.Ferenbach, D. and Hughes, J.,2008, Macrophages and dendritic cells: what is the difference? *Kidney int*., 74, 5–7.

123. Ramprasad, M.P., Terpstra, V., Kondratenko, N. *et al*.,1996, Cell surface expression of mouse macrosialin and human CD68 and their role as macrophage receptors for oxidized low density lipoprotein. *Proc natl acad sci usa*, 93, 14833–14838.
124. Moore, K.J. and Freeman, M.W.,2006, Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake, *Arterioscler thromb vasc biol*., 26,1702–1711.
125. Ottnad, E., Parthasarathy, S., Sambrano, G.R. et al.,1995, A macrophage receptor for oxidized low density lipoprotein distinct from the receptor for acetyl low density lipoprotein: partial purification and role in recognition of oxidatively damaged cells, *Proc natl acad sci usa,* 92, 1391–1395.
126. Sawamura, T., Kume, N., Aoyama, T., et al., 1997, An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein, *Nature,* 386, 6620, 73–77.
127. Kattoor, A.J., Kanuri, S.H. and Mehta, J.L.,2019, Role of Ox-LDL and LOX-1 in Atherogenesis, *Curr med chem*., 26 (9), 1693-1700.
128. Dunn, S., Vohra, R. S., Murphy, J. E., Homer-Vanniasinkam, S., Walker, J. H. and Ponnambalam, S.,2008, The lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor: a pro-inflammatory factor in vascular disease, *Biochemical journal,* 409 (2), 349– 355.
129. Mehta, J. L., and Basnakian, A. G.,2014, Interaction of carbamylated LDL with LOX-1 in the induction of endothelial dysfunction and atherosclerosis, *European heart journal*, 35 (43), 2996-2997.
130. Vrints, C., Andreotti, F., Koskinas, K. C., Rossello, X., Adamo, M., Ainslie, J., ... and Winther, S. (2024). 2024 ESC guidelines for the management of chronic coronary syndromes: developed by the task force for the management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC) endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European heart journal*, 45 (36), 3415-3537.
131. Sánchez-Recalde A. and Carlos Kaski, J.,2001, Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura [Diabetes mellitus, inflammation and coronary atherosclerosis: current and future perspectives], *Rev esp cardiol.,* 54 (6), 751-763.
132. Martínez, M.T., Pérez, F., Calvillán, M,. Gutiérrez-López, M.D. and Serrano-Ríos, M.,1994, Lipoproteina (a), aterosclerosis y diabetes mellitus [Lipoprotein (a), atherosclerosis, and diabetes mellitus]., *Rev med chil.,* 122 (10), 1189-95.
133. Ferreira-González, I.,2014, The epidemiology of coronary heart disease, *Revista española de cardiología (english edition)*, 67 (2), 139-144.
134. Fokkema, M.R., Muskiet, F.A. and van Doormaal, J.J.,2005, Leefstijlinterventie ter preventie van hart- en vaatziekten [Lifestyle intervention for the prevention of cardiovascular disease]. *Ned tijdschr geneeskd.,* 149 (47), 2607-12.
135. Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., et al.,2004, Effect of potentially modifiable risk factorsassociated with myocardial infarction in 52 countries (the ınterheart study): Case-control study, *Lancet,* 364, 937-952.
136. Tang, W.H., Wang, Z., Levison, B.S., Koeth, R.A., Britt, E.B., Fu, X., Wu, Y. and Hazen, S.L.,2013, Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk, *N engl j med*., 368, 1575–15
137. Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B.J., et al.,2011, Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease, *Nature,* 472, 57–63.

138.Mensah, G. A., Roth, G. A., and Fuster, V.,2019, The global burden of cardiovascular diseases and risk factors: 2020 and beyond, *Journal of the american college of cardiology*, 74 (20), 2529-2532.
139.Okrainec, K., Banerjee, D. K., and Eisenberg, M. J.,2004, Coronary artery disease in the developing world, *American heart journal*, 148 (1), 7-15.
140.Zhang, G., Yu, C., Zhou, M., Wang, L., Zhang, Y., and Luo, L.,2018, Burden of Ischaemic heart disease and attributable risk factors in China from 1990 to 2015: findings from the global burden of disease 2015 study, *BMC cardiovascular disorders*, 18, 1-13.
141.Bauersachs, R., Zeymer, U., Brière, J. B., Marre, C., Bowrin, K., and Huelsebeck, M.,2019, Burden of coronary artery disease and peripheral artery disease: a literature review, *Cardiovascular therapeutics,* 2019 (1), 8295054.
142.Gowdak, L. H. W.,2017, Prevalence of refractory angina in clinical practice, *Heart metab*, 72, 9-12.
143.Puymirat, É.,2015, Epidemiology of coronary artery disease, *La revue du praticien*, 65 (3), 317-320.
144.Connelly, P. J., Azizi, Z., Alipour, P., Delles, C., Pilote, L., and Raparelli, V.,2021, The importance of gender to understand sex differences in cardiovascular disease. *Canadian journal of cardiology*, 37 (5), 699-710.
145.Hegazy, A.,2018, *Clinical anatomy of thorax for medical students and doctors*, LAP, Lambert Academic Publishing.
146.Desmet, W., Vanhaecke, J., Vrolix, M., Van de Werf, F., Piessens, J., Willems, J. and de Geest H.,1992, Isolated single coronary artery: a review of 50,000 consecutive coronary angiographies. *Eur heart j*., 13, 1637-40.
147.Yamanaka, O. and Hobbs, R.E,1990, Coronary artery anomalies in 126,595 patients undergoing coronary arteriography. *Cathet cardiovasc diagn*., 21, 28-40.
148.Kini, S., Bis, K. G., and Weaver, L.,2007, Normal and variant coronary arterial and venous anatomy on high-resolution CT angiography, *American journal of roentgenology,* 188 (6), 1665-1674.
149.Libby, P.,2013, Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy, *The new england journal of medicine,* 368, 21, 2004–2013.
150.Hiatt, W. R., Armstrong, E. J., Larson, C. J. and Brass, E. P.,2015, Pathogenesis of the limb manifestations and exercise limitations in peripheral artery disease*, Circulation research,* 116 (9), 1527–1539.
151.Hegazy, M. A., Mansour, K. S., Alzyat, A. M., Mohammad, M. A., & Hegazy, A. A.,2022, A systematic review on normal and abnormal anatomy of coronary arteries, *Eur j anat*, 26 (3), 355-368.
152.Hoffmann, U., Brady, T.J., Muller, J.,2003, Cardiology patient page: use of newimaging techniques to screen for coronary artery disease, *Circulation,* 108, 50–3.28.
153.Pletcher, M.J., Tice, J.A., Pignone, M. and Browner, W.S., 2004, Using the coronaryartery calcium score to predict coronary heart disease events: a systematicreview and meta-analysis, *Arch intern med,* 164, 1285–92
154.Horiguchi, J., Yamamoto, H., Akiyama, Y., Marukawa, K., Hirai, N. and Ito, K.,2004, Coronary artery calcium scoring using 16-MDCT and a retrospective ECG-gating reconstruction algorithm, *American journal of roentgenology,*183 (1), 103-108.
155.McEvoy, J. W., Blaha, M. J., DeFilippis, A. P., Budoff, M. J., Nasir, K., Blumenthal, R. S., and Jones, S. R.,2010, Coronary artery calcium progression: an important clinical

measurement? A review of published reports, *Journal of the american college of cardiology*, 56 (20), 1613-1622.
156. Bauersachs, R. and Zannad, F.,2018, Rivaroxaban: a new treatment paradigm in the setting of vascular protection?, *Trombosis and haemostasis,* 118, 12–22.
157. Libby, P, and Theroux P.,2005, Pathophysiology of coronary artery disease, *Circulation,* 111 (25), 3481-8.
158. Mango,R., Predazzi, I. M., Romeo, F. and Novelli, G., 2011, LOX1/LOXIN: the Yin/Yang of atheroscleorosis, *Cardiovascular drugs and therapy,* 25, 5, 489–494.
159. Erdmann, J., Kessler, T., Munoz Venegas, L., & Schunkert, H.,2018, A decade of genome-wide association studies for coronary artery disease: the challenges ahead, *Cardiovascular research,* 114 (9), 1241-1257.
160. Khera, A.V., Kathiresan, S.,2017, Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation, *Nat rev genet,* 18 (6), 331-344.
161. Chun, A. A., and McGee, S. R.,2004, Bedside diagnosis of coronary artery disease: a systematic review, *The american journal of medicine*, 117 (5), 334-343.
162. Zanzonico, P., Rothenberg, L. N., and Strauss, H. W.,2006, Radiation exposure of computed tomography and direct intracoronary angiography: risk has its reward, *Journal of the american college of cardiology*, 47 (9), 1846-1849.
163. Sarwar, A., Shaw, L. J., Shapiro, M. D., Blankstein, R., Hoffman, U., Cury, R. C., ... and Nasir, K.,2009, Diagnostic and prognostic value of absence of coronary artery calcification, *Jacc: cardiovascular imaging*, 2 (6), 675-688.
164. Li, D.L. and Kronenberg, M.W.,2021, Myocardial perfusion and viability ımaging in coronary artery disease: clinical value in diagnosis, prognosis, and therapeutic guidance. *Am j med,* 134 (8), 968-975.
165. McCullough, P.A.2007, Coronary artery disease, *Clin j am soc nephrol*, 2 (3), 611-6.
166. Duggan, J.P., Peters, A.S., Trachiotis, G.D. And Antevil, J.L.,2022, *Epidemiology of coronary artery disease,* 102 (3), 499-516.
167. Song, P., Rudan, D., Zhu, Y., Fowkes, F. J., Rahimi, K., Fowkes, F. G. R., and Rudan, I.,2019, Global, regional, and national prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2015: an updated systematic review and analysis, *The lancet global health*, 7 (8), 1020-1030.
168. Conte, S. M. and Vale, P. R.,2018, Peripheral arterial disease, *Heart, lung and circulation*, 27 (4), 427-432.
169. Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., Go, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., ... and Turner, M. B.,2016, Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association, *Circulation*, 133 (4), e38-e360.
170. Pandya, Y. K., Lowenkamp, M. N. and Chapman, S. C.,2019, Functional popliteal artery entrapment syndrome: a review of diagnostic and management approaches, *Vasc. med,* 24, 455–460.
171. Francois, C. J.,2020, Peripheral vascular imaging focusing on nonatherosclerotic disease, *Radiol. clin. north am,* 58, 831–839.
172. Virani, S. S., Alonso, A., Benjamin, E. J., Bittencourt, M. S., Callaway, C. W., Carson, A. P., ... and American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee.,2020, Heart disease and stroke statistics—2020 update: a report from the american heart association. *Circulation*, 141 (9), 139-596.

173. Berger, J. S., Hochman, J., Lobach, I., Adelman, M. A., Riles, T. S., and Rockman, C. B., 2013, Modifiable risk factor burden and the prevalence of peripheral artery disease in different vascular territories, *Journal of vascular surgery*, 58 (3), 673-681.
174. Collaborators, G. B. D., 2018, Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017.
175. Patel, R. A., Sakhuja, R., and White, C. J.,2020, The medical and endovascular treatment of PAD: a review of the guidelines and pivotal clinical trials, *Current problems in cardiology*, 45 (7).
176. Firnhaber, J.M. and Powell, C.S.,2019, Lower extremity peripheral artery disease: diagnosis and treatment, *Am fam physician,* 99 (6),362-369.
177. Selvin, E. and Erlinger T.P.,2004, Prevalence of and risk factors for peripheral arterial diseasein theunited statesresults from thenationalhealth andnutrition examination survey, 1999–2000, *Circulation,* 110, 738–43.
178. Lu, L., Mackay, D.F. and Pell, J.P.,2014, Meta-analysis of the association between cigarette smoking and peripheral arterial disease, *Heart,* 100 (5), 414
179. Rutherford, R. B., Baker, J. D., Ernst, C., Johnston, K. W., Porter, J. M., Ahn, S., and Jones, D. N.,1997, Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version, *Journal of vascular surgery*, 26 (3), 517-538.
180. Liew, Y. P., Bartholomew, J. R., Demirjian, S., Michaels, J., and Schreiber Jr, M. J.,2008, Combined effect of chronic kidney disease and peripheral arterial disease on all-cause mortality in a high-risk population, *Clinical journal of the american society of nephrology,* 3 (4), 1084-1089.
181. Birkeland, K.I., Bodegard, J., Eriksson, J.W., Norhammar, A., Haller, H., Linssen, G.C.M., Banerjee, A., Thuresson, M., Okami, S., Garal-Pantaler, E., Overbeek, J., Mamza, J.B., Zhang, R., Yajima, T., Komuro, I., Kadowaki, T.,2020, Heart failure and chronic kidney disease manifestation and mortality risk associations in type 2 diabetes: a large multinational cohort study, *Diabetes obes metab,* 22 (9), 1607-1618.
182. Borg, R., Kriegbaum, M., Grand, M.K., Lind, B., Andersen, C.L. and Persson, F.,2023, Chronic kidney disease in primary care: risk of cardiovascular events, end stage kidney disease and death, *BMC prim care,* 24 (1),128.
183. Matsushita, K., Ballew, S. H., Coresh, J., Arima, H., Ärnlöv, J., Cirillo, M., ... and Kwak, L.,2017, Measures of chronic kidney disease and risk of incident peripheral artery disease: a collaborative meta-analysis of individual participant data, *The lancet diabetes & endocrinology*, 5 (9), 718-728.
184. Bloemenkamp, D.G., van den Bosch, M.A., Mali, W.P., Tanis, B.C., Rosendaal, F.R., Kemmeren, J.M., Algra, A., Visseren, F.L. and van der Graaf, Y.,2002, Novel risk factors for peripheral arterial disease in young women, *Am j med,* 113, 462–467
185. Hung, H.C., Willett, W., Merchant, A., Rosner, B.A., Ascherio, A. and Joshipura, K.J.,2003, Oral health and peripheral arterial disease, *Circulation,* 107, 1152–1157
186. Singh, T.P., Morris, D.R., Smith, S., Moxon, J.V. and Golledge, J.,2017, Systematic review and meta-analysis of the association between c-reactive protein and major cardiovascular events in patients with peripheral artery disease, *Eur j vasc endovasc surg*, 54 (2), 220-233.

187. Bosevski, M., Bosevska, G. and Stojanovska L.,2013, Influence of fibrinogen and C-RP on progression of peripheral arterial disease in type 2 diabetes: a preliminary report, *Cardiovasc diabetol*., 1, 12:29.
188. Doweik, L., Maca, T., Schillinger, M., Budinsky, A., Sabeti, S., and Minar, E.,2003, Fibrinogen predicts mortality in high risk patients with peripheral artery disease, *European journal of vascular and endovascular surgery,* 26 (4), 381-386.
189. Taylor, L. M., Moneta, G. L., Sexton, G. J., Schuff, R. A., and Porter, J. M.,1999, Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease, *J vasc surg,* 29, 8–19.
190. Hoogeveen, E. K., Kostense, P. J., Beks, P. J., Mackaay, A. J., Jakobs, C., Bouter, L. M., …and Stehouwer, C. D.,1998, Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: a population-based study, *Arterioscler thromb vasc biol,* 18, 133–138.
191. Bertoia, M. L., Pai, J. K., Cooke, J. P., Joosten, M. M., Mittleman, M. A., Rimm, E. B., and Mukamal, K. J.,2014, Plasma homocysteine, dietary B vitamins, betaine, and choline and risk of peripheral artery disease, *Atherosclerosis,* 235 (1), 94–101.
192. Garofolo, L., Barros, N., Miranda, F., 'almeida, D., Cardien, V., and Ferreira, L. C.,2007, Association of increased levels of homocysteine and peripheral arterial disease in a Japanese-Brazilian population, *Eur j vasc endovasc surg,* 34 (1), 23–28.
193. Wang, H., Wu, P., Jiang, D., Zhang, H., Zhang, J., Zong, Y. and Han, Y.,2022, Relationship between serum homocysteine, fibrinogen, lipoprotein-a level, and peripheral arterial disease: a dose-response meta-analysis, *Eur j med res.,* 27 (1), 261.
194. Esteban, C., and Hernández-Rodríguez, I.,2002, Peripheral arterial disease and anaemia. *Medicina clínica (english edition)*, 158 (5), 221-228.
195. Narula, N., Olin, J. W. and Narula, N.,2020, Pathologic disparities between peripheral artery disease and coronary artery disease, *Arterioscler. thromb., vasc. biol.* 40, 1982–1989.
196. McDermott, M. M., Ferrucci, L., Liu, K., Guralnik, J. M., Tian, L., Liao, Y., and Criqui, M. H.,2010, Leg symptom categories and rates of mobility decline in peripheral arterial disease. *Journal of the american geriatrics society*, 58 (7), 1256-1262.
197. McDermott, M. M., Ferrucci, L., Gonzalez-Freire, M., Kosmac, K., Leeuwenburgh, C., Peterson, C. A., ... and Sufit, R.,2020, Skeletal muscle pathology in peripheral artery disease: a brief review, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology,* 40 (11), 2577-2585.
198. Farber, A. and Eberhardt, R. T.,2016, The current state of critical limb ischemia: a systematic review, *Jama Surg.* 151, 1070–1077.
199. Krishna, S. M., Omer, S. M. and Golledge, J., 2016, Evaluation of the clinical relevance and limitations of current preclinical models of peripheral artery disease, *Clin. sci.,* 130, 127–150.
200. Krishna, S. M., Moxon, J. V. and Golledge, J.,2015, A review of the pathophysiology and potential biomarkers for peripheral artery disease, *Int. j. mol. sci.,* 16, 11294–11322.
201. Flammer, A.J., Anderson, T., Celermajer, D.S., Creager, M.A., Deanfield, J., Ganz, P, et al.,2012, The assessment of endothelial function: From research into clinical practice, *Circulation,* 126, 753–767.

202. Vita, J.A. and Hamburg, N.M.,2010, Does endothelial dysfunction contribute to the clinical status of patients with peripheral arterial disease?, *Can. j. cardiol.,* 26(Suppl A): 45A–50A.
203. Meredith, I.T., Currie, K.E., Anderson, T.J., Roddy, M.A., Ganz, P. and Creager M.A.,1996, Postischemic vasodilation in human forearm is dependent on endothelium-derived nitric oxide, *American journal of physiology-heart and circulatory physiology,* 270: H1435–H1440.
204. Aicher, A., Rentsch, M., Sasaki, K., Ellwart, J.W., Fandrich, F., Siebert, R., et al.,2007, Nonbone marrow-derived circulating progenitor cells contribute to postnatal neovascularization following tissue ischemia, *Circ. res.,* 100, 581–589.
205. Murasawa S and Asahara T.,2005, Endothelial progenitor cells for vasculogenesis, *Physiology (Bethesda),* 20, 36–42
206. Zhang, M.J., Sansbury, B.E., Hellmann, J., Baker, J.F., Guo, L., Parmer, C.M., et al.,2016, Resolvin D2 enhances postischemic revascularization while resolving inflammation, *Circulation,* 134, 666–680.
207. Paradis, S., Charles, A.L., Meyer, A., Lejay, A., Scholey, J.W., Chakfe, N., et al.,2016, Chronology of mitochondrial and cellular events during skeletal muscle ischemia-reperfusion, *Am j physiol cell physiol.,* 310, C968–C982.
208. Garg, P.K., Liu, K., Ferrucci, L., Guralnik, J.M., Criqui, M.H., Tian, L., et al.,2011, Lower extremity nerve function, calf skeletal muscle characteristics, and functional performance in peripheral arterial disease, *J am geriatr soc.,* 59, 1855–1863.
209. Hiatt, W.R., Wolfel, E.E., Regensteiner, J.G., Brass, E.P.,1992, Skeletal muscle carnitine metabolism in patients with unilateral peripheral arterial disease, *J appl physiol.,* 73, 346–353
210. Bauer, T.A., Brass, E.P., Hiatt, W.R.,2004, Impaired muscle oxygen use at onset of exercise in peripheral arterial disease, *J vasc surg.,* 40, 488–493.
211. Pradhan, A. D., Shrivastava, S., Cook, N. R., Rifai, N., Creager, M. A., and Ridker, P. M.,2008, Symptomatic peripheral arterial disease in women: Nontraditional biomarkers of elevated risk, *Circulation,* 117, 823–831.
212. Golledge, J.,2022, Update on the pathophysiology and medical treatment of peripheral artery disease, *Nat rev cardiol,* 19, 456–474.
213. Wassel, C. L., Loomba, R., Ix, J. H., Allison, M. A., Denenberg, J. O., and Criqui, M. H.,2011, Family history of peripheral artery disease is associated with prevalence and severity of peripheral artery disease: the San Diego population study, *J am. coll. cardiol.*, 58, 1386–1392.
214. St Hilaire, C., Ziegler, S. G., and Markello, T. C.,2011, NT5E mutations and arterial calcifications, *N engl j med,* 364, 432–442.
215. Carmelli, D., Fabsitz, R. R., Swan, G. E., Reed, T., Miller, B., and Wolf, P. A.,2000, Contribution of genetic and environmental influences to ankle-brachial blood pressure index in the NHLBI Twin Study. National Heart, Lung, and Blood Institute, *Am j epidemiol*, 151, 452–458.
216. Kroon, A. A., Ajubi, N., Van Asten, W. N., and Stalenhoef, A. F.,1995, The prevalence of peripheral vascular disease in familial hypercholesterolaemia, *J ıntern med*, 238, 451–459.

217. Murabito, J. M., White, C. C., and Kavousi, M.,2012, Association between chromosome 9p21 variants and the ankle-brachial index identified by a meta-analysis of 21 genome-wide association studies, *Circ cardiovasc genet*, 5, 100–112.
218. Kullo, I. J., Shameer, K., Jouni, H., Lesnick, T. G., Pathak, J., Chute, C. G., and De Andrade, M.,2014, The ATXN2-SH2B3 locus is associated with peripheral arterial disease: an electronic medical record-based genome-wide association study, *Front genet*, 5.
219. Sabino, A., Fernandes, A. P., Lima, L. M., Ribeiro, D. D., Sousa, M. O., De, C., and Santos, M. E.,2009, Polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) gene and homocysteine levels: a comparison in Brazilian patients with coronary arterial disease, ischemic stroke and peripheral arterial obstructive disease, *J thromb thrombolysis,* 27, 82–87.
220. Todesco, L., Angst, C., Litynski, P., Loehrer, F., Fowler, B. and Haefeli, W.E.,1999, Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma homocysteine and age, *Eur j clin ınvest.,* 29, 1003–9.
221. Yalım, Z., Onrat, S. T., Yalım, S. A., Aldemir, M., Avşar, A., Doğan, İ., and Onrat, E.,2020, The effects of genetic polymorphisms and diabetes mellitus on the development of peripheral artery disease, *Archives of the turkish society of cardiology/türk kardiyoloji derneği arşivi,* 48(5).
222. Murabito, J. M., Guo, C. Y., Fox, C. S., and D'Agostino, R. B.,2006, Heritability of the ankle-brachial index: the Framingham Offspring study, *American journal of epidemiology*, 164 (10), 963-968.
223. Fatica, A., and Bozzoni, I.,2014, Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development, *Nat rev genet,* 15, 7–21.
224. Peschansky, V. J., and Wahlestedt, C.,2014, Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation, *Epigenetics,* 9, 3–12.
225. Caporali, A., Meloni, M., and Völlenkle, C.,2011, Deregulation of microRNA-503 contributes to diabetes mellitus-induced impairment of endothelial function and reparative angiogenesis after limb ischemia, *Circulation,* 123, 282–291.
226. Stather, P. W., Sylvius, N., Wild, J. B., Choke, E., Sayers, R. D., and Bown, M. J.,2013, Differential microRNA expression profiles in peripheral arterial disease. *Circ cardiovasc genet,* 6, 490–497.
227. Malhi, N. K., Southerland, K. W., Lai, L., and Chen, Z. B.,2023, Epigenetic regulation of angiogenesis in peripheral artery disease, *Methodist debakey cardiovasc j,* 19 (5), 47–57.
228. Balogh, O., Péntek, M., Gulácsi, L., Farkas, K., Járai, Z., Landi, A., ... and Brodszky, V.,2013, Quality of life and burden of disease in peripheral arterial disease: a study among Hungarian patients, *Orvosi hetilap*, 154 (12), 464-470.
229. Aboyans, V., Ricco, J. B., Bartelink, M. E. L., Björck, M., Brodmann, M., Cohnert, T., ... and Desormais, I. E. S. C.,2018, ESC Scientific Document Group. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the .... *Eur heart j*, 39 (9), 763.
230. Rose, G.A.,1962, The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys, *Bull world health organ,* 27, 645–658.

231. Criqui, M. H., Denenberg, J. O., Bird, C. E., Fronek, A., Klauber, M. R., and Langer, R. D.,1996, The correlation between symptoms and non-invasive test results in patients referred for peripheral arterial disease testing, *Vasc med,* 1, 65–71.
232. Winsor, T.,1950, Influence of arterial disease on the systolic blood pressure gradients of the extremity, *Am j med sci*, 220, 117-126.
233. Criqui, M. H., and Aboyans, V.,2015, Epidemiology of peripheral artery disease, *Circulation research*, 116 (9), 1509-1526.
234. Yao, S. T., Hobbs, J. T., and Irvine, W. T.,1969, Ankle systolic pressure measurements in arterial disease affecting the lower extremities, *Br j surg,* 56, 676–679.
235. Ouriel, K., Mcdonnell, A. E., Metz, C. E., and Zarins, C. K.,1982, Critical evaluation of stress testing in the diagnosis of peripheral vascular disease, *Surgery,* 91, 686–693.
236. Sartipy, F., Pereira Filho, A. J. G., Lundin, F., Wahlberg, E., and Sigvant, B.,2022, Presence of asymptomatic peripheral arterial disease in combination with common risk factors elevates the cardiovascular risk substantially, *International journal of cardiology cardiovascular risk and prevention,* 13, 200130.
237. Kullo, I. J., and Rooke, T. W.,2016, Peripheral artery disease, *New england journal of medicine*, 374 (9), 861-871.
238. Ja, D.,2000, Management of peripheral arterial disease (PAD), *J vasc surg*, 31, S1-S296.
239. Regensteiner, J. G., and Hiatt, W. R.,2002,. Current medical therapies for patients with peripheral arterial disease: a critical review, *The american journal of medicine*, 112 (1), 49-57.
240. Hirsch, A. T., Criqui, M. H., Treat-Jacobson, D., Regensteiner, J. G., Creager, M. A., Olin, J. W., ... and Hiatt, W. R.,2001, Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care, *Jama*, 286 (11), 1317-1324.
241. Diehm, C., Schuster, A., Allenberg, J. R., Darius, H., Haberl, R., Lange, S., ... and Trampisch, H. J., 2004, High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study, *Atherosclerosis*, 172 (1), 95-105.
242. Hankey, G. J., Norman, P. E., and Eikelboom, J. W.,2006, Medical treatment of peripheral arterial disease, *Jama*, 295 (5), 547-553.
243. Doll, R., Peto, R., Boreham, J., and Sutherland, I.,2004, Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors, *Bmj*, 328 (7455), 1519.
244. Trialists'Collaboration, B. P. L. T., and Turnbull, F.,2003, Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials, *Lancet*, 362 (9395), 1527-1535.
245. Leng, G. C., Fowler, B., and Ernst, E.,1998, Exercise for intermittent claudication, *The cochrane library*, 1, 1-13.
246. McDermott, M. M., Guralnik, J. M., Greenland, P., Pearce, W. H., Criqui, M. H., Liu, K., ... and Quann, M.,2003, Statin use and leg functioning in patients with and without lower-extremity peripheral arterial disease, *Circulation*, 107 (5), 757-761.
247. Dorffler-Melly, J., Koopman, M. M., Adam, D. J., Buller, H. R., and Prins, M. H.,2003, Antiplatelet agents for preventing thrombosis after peripheral arterial bypass surgery, *Cochrane database syst rev*, 3.
248. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group., 1998, Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33), *The lancet*, 352 (9131), 837-853.

249. Westendorp, I. C., Veld, B. A., Grobbee, D. E., Pols, H. A., Meijer, W. T., Hofman, A., and Witteman, J. C.,2000, Hormone replacement therapy and peripheral arterial disease: the Rotterdam study, *Arch intern med,* 160, 2498–2502.
250. Klinkert, P., Schepers, A., Burger, D. H., and Van Bockel, J. H.,2003, Breslau PJ Vein versus polytetrafluoroethylene in above-knee femoropopliteal bypass grafting: five- year results of a randomized controlled trial, *J vasc surg,* 37, 149–155.
251. Schillinger, M., Sabeti, S., Loewe, C., Dick, P., Amighi, J., and Mlekusch, W.,2006, Balloon angioplasty versus implantation of nitinol stents in the superficial femoral artery, *N engl j med,* 354, 1879–1888.
252. Frith, M.C., Pheasant, M. and Mattick, J.S.,2005, The amazing complexity of the human transcriptome, *Eur j hum genet,* 13, 894–897.
253. Dinger, M. E., Pang, K. C., Mercer, T. R., and Mattick, J. S.,2008, Differentiating protein-coding and noncoding RNA: challenges and ambiguities, *PLoS computational biology,* 4 (11).
254. Smith, M. A., and Mattick, J. S.,2017, Structural and functional annotation of long noncoding RNAs, *Bioinformatics: volume ıı: structure, function, and applications*, 65-85.
255. Chen, J., Shishkin, A. A., Zhu, X., Kadri, S., Maza, I., Guttman, M., ... and Garber, M.,2016, Evolutionary analysis across mammals reveals distinct classes of long non-coding RNAs, *Genome biology*, 17 (1), 1-17.
256. Djebali, S., Davis, C. A., Merkel, A., Dobin, A., Lassmann, T., Mortazavi, A., ... and Gingeras, T. R.,2012, Landscape of transcription in human cells, *Nature*, 489 (7414), 101-108.
257. Bernstein, B. E., Birney, E., Dunham, I., Green, E. D., Gunter, C., and Snyder, M. Project Consortium ENCODE, (2012), An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome, *Nature*, 489, 57-74.
258. Carthew, R. W., and Sontheimer, E. J.,2009, Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs, *Cell*, 136 (4), 642-655.
259. Zaratiegui, M., Irvine, D. V., and Martienssen, R. A.,2007, Noncoding RNAs and gene silencing, *Cell*, 128 (4), 763-776.
260. Ponting, C. P., Oliver, P. L., and Reik, W.,2009, Evolution and functions of long noncoding RNAs, *Cell*, *136* (4), 629-641.
261. Noller, H. F.,1991, Ribosomal RNA and translation, *Annual review of biochemistry*, 60 (1), 191-227.
262. Matera, A. G., Terns, R. M., and Terns, M. P.,2007, Non-coding RNAs: lessons from the small nuclear and small nucleolar RNAs, *Nature reviews Molecular cell biology*, 8 (3), 209-220.
263. Wajahat, M., Bracken, C.P., Orang, A.,2021, Emerging Functions for snoRNAs and snoRNA-Derived Fragments, *İnt j mol sci*., 22 (19),10193.
264. Shabalina, S. A., and Koonin, E. V.,2008, Origins and evolution of eukaryotic RNA interference, *Trends in ecology & evolution*, 23 (10), 578-587.
265. Zhou, W.Y., Cai, Z.R., Liu, J., Wang, D.S., Ju, H.Q., Xu, R.H.,2020, Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins, *Mol cancer.,* 19 (1), 172.
266. Rinn, J. L., Kertesz, M., Wang, J. K., Squazzo, S. L., Xu, X., Brugmann, S. A., ... and Chang, H. Y.,2007, Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs, *Cell,* 129 (7), 1311-1323.
267. Guenther, M. G., Levine, S. S., Boyer, L. A., Jaenisch, R. and Young, R. A.,2007, A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells, *Cell,* 130, 77–88

268. The FANTOM Consortium and the RIKEN Genome Exploration Research Group Phase I & II Team.,2002, Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs, *Nature,* 420, 563–573.
269. Struhl, K.,2007, Transcriptional noise and the fidelity of initiation by RNA polymerase II, *Nature struct. mol. biol.,* 14, 103–105.
270. Laurent, G. S., Wahlestedt, C., and Kapranov, P.,2015, The Landscape of long noncoding RNA classification, *Trends in genetics*, 31 (5), 239-251.
271. Cao, H., Wahlestedt, C., and Kapranov, P.,2018, Strategies to annotate and characterize long noncoding RNAs: advantages and pitfalls, *Trends in genetics*, 34 (9), 704-721.
272. Kapranov, P., Cheng, J., Dike, S., Nix, D. A., Duttagupta, R., Willingham, A. T., ... and Gingeras, T. R.,2007, RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription, *Science*, 316 (5830), 1484-1488.
273. Liu, J., Gough, J., Rost, B., and PLoS Genetics EIC Wayne Frankel.,2006, Distinguishing protein-coding from non-coding RNAs through support vector machines, *PLoS genetics*, 2 (4), 29.
274. Cawley, S., Bekiranov, S., Ng, H. H., Kapranov, P., Sekinger, E. A., Kampa, D., ... and Gingeras, T. R.,2004, Unbiased mapping of transcription factor binding sites along human chromosomes 21 and 22 points to widespread regulation of noncoding RNAs, *Cell,* 116 (4), 499-509.
275. Ponjavic, J., Ponting, C. P. and Lunter, G.,2007, Functionality or transcriptional noise? Evidence for selection within long noncoding RNAs, *Genome res*., 17, 556–565.
276. Cech, T. R., and Steitz, J. A.,2014, The noncoding RNA revolution—trashing old rules to forge new ones, *Cell*, 157 (1), 77-94.
277. Gong, C., and Maquat, L. E.,2011, lncRNAs transactivate STAU1-mediated mRNA decay by duplexing with 3′ UTRs via Alu elements, *Nature*, 470 (7333), 284-288.
278. Costa, F. F.,2008, Non-coding RNAs, epigenetics and complexity, *Gene*, 410 (1), 9-17.
279. Yu, H.,2009, Epigenetics: advances of non-coding RNAs regulation in mammalian cells, *Yi chuan= Hereditas*, 31 (11), 1077-1086.
280. Wang, K. C., and Chang, H. Y.,2011, Molecular mechanisms of long noncoding RNAs, *Molecular cell*, 43 (6), 904-914.
281. Prasanth, K. V., and Spector, D. L.,2007, Eukaryotic regulatory RNAs: an answer to the 'genome complexity'conundrum, *Genes & development*, 21 (1), 11-42.
282. Amaral, P. P., Dinger, M. E., Mercer, T. R., and Mattick, J. S.,2008, The eukaryotic genome as an RNA machine, *Science*, 319 (5871), 1787-1789.
283. Amaral, P. P. and Mattick, J. S.,2008, Noncoding RNA in development, *Mamm. genome,* 19, 454–492.
284. Dinger, M. E., Amaral, P. P., Mercer, T. R., Pang, K. C., Bruce, S. J., Gardiner, B. B., ... and Mattick, J. S.,2008, Long noncoding RNAs in mouse embryonic stem cell pluripotency and differentiation, *Genome research,* 18 (9), 1433-1445.
285. Mercer, T. R., Dinger, M. E., Sunkin, S. M., Mehler, M. F., and Mattick, J. S.,2008, Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain, *Proceedings of the national academy of sciences*, 105 (2), 716-721.
286. Wang, K. C.; Chang, H. Y.,2011, Molecular mechanisms of long noncoding RNAs, *Mol. Cel.l,* 43, 904–914.
287. Lau, E.,2014, Non-coding RNA: zooming in on lncRNA functions, *Nat. rev. genet.,* 15, 3795.
288. Mercer, T. R., Dinger, M. E., and Mattick, J. S.,2009, Long non-coding RNAs: insights into functions, *Nature reviews genetics,* 10 *(3),* 155–159.

289. Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., Gough, J., Frith, M. C., Maeda, N., ... and Zhu, S.,2005, The transcriptional landscape of the mammalian genome, *Science*, 309(5740), 1559-1563.
290. Kapranov, P., Drenkow, J., Cheng, J., Long, J., Helt, G., Dike, S., and Gingeras, T. R.,2005, Examples of the complex architecture of the human transcriptome revealed by RACE and high-density tiling arrays, *Genome research,* 15 (7), 987-997.
291. Ma, L., Bajic, V. B., and Zhang, Z.,2013, On the classification of long non-coding RNAs, *RNA biology*, 10 (6), 924-933.
292. Laurent, G. S., Wahlestedt, C., and Kapranov, P.,2015, The Landscape of long noncoding RNA classification, *Trends in genetics*, 31 (5), 239-251
293. Kung, J.T., Colognori, D. and Lee, J.T.2013, Long noncoding RNAs: past, present, and future, *Genetics,* 193 (3), 651-669.
294. Bassett, A. R., Akhtar, A., Barlow, D. P., Bird, A. P., Brockdorff, N., Duboule, D., ...and Ponting, C. P.,2014, Considerations when investigating lncRNA function in vivo, *Elife*, *3*, e03058.
295. Senner, C. E., Nesterova, T. B., Norton, S., Dewchand, H., Godwin, J., Mak, W., and Brockdorff, N.,2011, Disruption of a conserved region of Xist exon 1 impairs Xist RNA localisation and X-linked gene silencing during random and imprinted X chromosome inactivation, *Development,* 138 (8), 1541-1550.
296. Grote, P., Wittler, L., Hendrix, D., Koch, F., Währisch, S., Beisaw, A., ... and Herrmann, B. G. (2013). The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse, *Developmental cell*, 24 (2), 206-214.
297. Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., and Huarte, M.,2021, Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions, *Nature reviews molecular cell biology*, 22 (2), 96-118.
298. Li, H., Zhu, H. and Ge, J.,2016, Long noncoding rna: recent updates in atherosclerosis, *İnt. j. biol. sci.,* 12 (7), 898-910.
299. Ishii, N., Ozaki, K., Sato, H., Mizuno, H., Saito, S., Takahashi, A., Miyamoto, Y., Ikegawa, S., Kamatani, N., Hori, M., Saito, S., Nakamura, Y., Tanaka, T.,2006, Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction, *J. hum. genet.,* 51 (12), 1087-1099
300. https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AKR1B1P3#diseases, [Ziyaret Tarihi: 30 Temmuz 2024].
301. Bateman, J. B., Kojis, T., Heinzmann, C., Klisak, I., Diep, A., Carper, D., ... and Sparkes, R. S.,1993, Mapping of aldose reductase gene sequences to human chromosomes 1, 3, 7, 9, 11, and 13, *Genomics,* 17 (3), 560-565.
302. Yang, Y., Cai, Y., Wu, G., Chen, X., Liu, Y., Wang, X., ... and Zeng, C.,2015, Plasma long non-coding RNA, CoroMarker, a novel biomarker for diagnosis of coronary artery disease, *Clinical science*, 129 (8), 675-685.
303. Scheurer, T., Steffens, J., Markert, A., Du Marchie Sarvaas, M., Roderburg, C., Rink, L., ... and Baumann, R.,2022, The human long noncoding RNAs CoroMarker, MALAT1, CDR1as, and LINC00460 in whole blood of individuals after controlled short-term exposure with ultrafine metal fume particles at workplace conditions, and in human macrophages in vitro, *Journal of occupational medicine and toxicology*, 17 (1), 15.
304. Ghafouri-Fard, S., Shoorei, H., and Taheri, M.,2020, Non-coding RNAs are involved in the response to oxidative stress, *Biomedicine & pharmacotherapy*, 127, 110228.
305. Tang, Y., Jin, X., Xiang, Y., Chen, Y., Shen, C. X., Zhang, Y. C., and Li, Y. G.,2015, The lncRNA MALAT1 protects the endothelium against ox-LDL-induced dysfunction

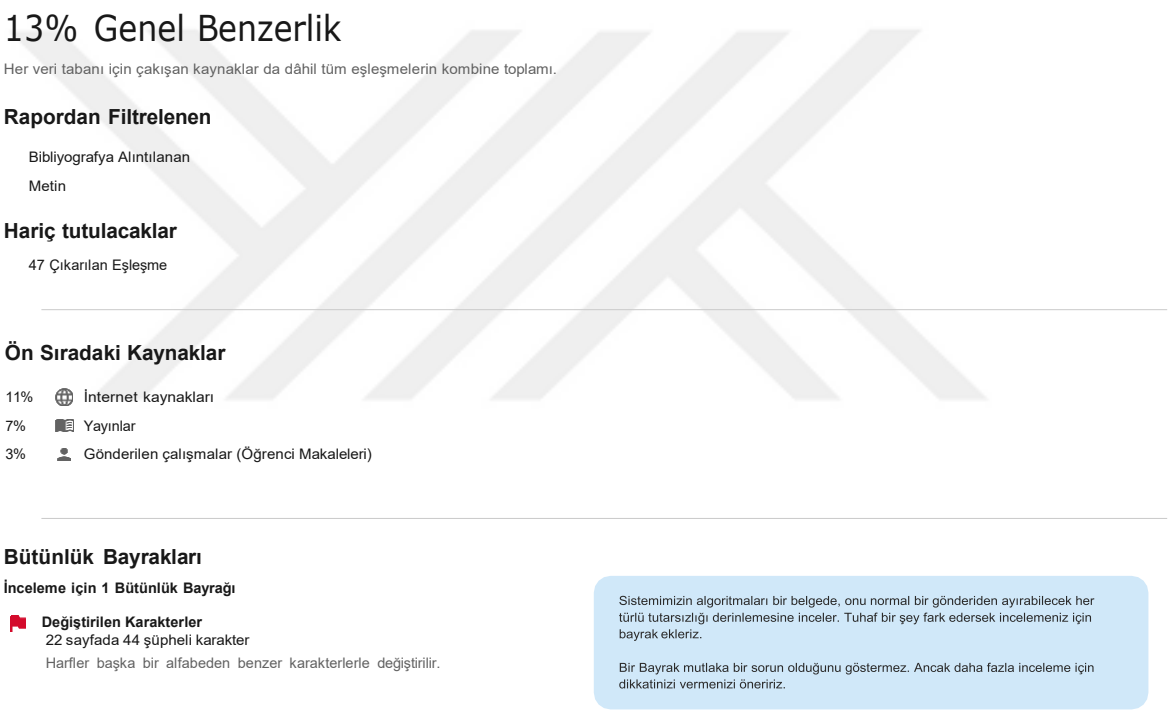
via upregulating the expression of the miR-22-3p target genes CXCR2 and AKT, *FEBS letters,* 589 (20), 3189-3196.
306. Wang, T., Li, N., Yuan, L., Zhao, M., Li, G., Chen, Y. and Zhou, H.,2023, MALAT1/miR-185-5p mediated high glucose-induced oxidative stress, mitochondrial injury and cardiomyocyte apoptosis via the RhoA/ROCK pathway, *J cell mol med,* 27 (17), 2495-2506.
307. Chen, D. D., Hui, L. L., Zhang, X. C., and Chang, Q.,2019, NEAT1 contributes to ox-LDL-induced inflammation and oxidative stress in macrophages through inhibiting miR-128, *Journal of cellular biochemistry, 120* (2), 2493-2501.
308. Luo, H., Wang, J., Liu, D., Zang, S., Ma, N., Zhao, L., ... and Qiao, C.,2019, The lncRNA H19/miR-675 axis regulates myocardial ischemic and reperfusion injury by targeting PPARα, *Molecular immunology,* 105, 46-54.
309. Cao, L., Zhang, Z., Li, Y., Zhao, P., and Chen, Y.,2019, LncRNA H19/miR-let-7 axis participates in the regulation of ox-LDL-induced endothelial cell injury via targeting periostin, *International immunopharmacology,* 72, 496-503.
310. Hua, Z., Ma, K., Liu, S., Yue, Y., Cao, H., and Li, Z.,2020, LncRNA ZEB1-AS1 facilitates ox-LDL-induced damage of HCtAEC cells and the oxidative stress and inflammatory events of THP-1 cells via miR-942/HMGB1 signaling, *Life sciences,* 247, 117334.
311. Hu, X., Ma, R., Fu, W., Zhang, C., and Du, X.,2019, LncRNA UCA1 sponges miR-206 to exacerbate oxidative stress and apoptosis induced by ox-LDL in human macrophages. *Journal of cellular physiology,* 234 (8), 14154-14160.
312. Gao, L., Wang, X., Guo, S., Xiao, L., Liang, C., Wang, Z., ... and Zhang, Y.,2019, LncRNA HOTAIR functions as a competing endogenous RNA to upregulate SIRT1 by sponging miR-34a in diabetic cardiomyopathy, *Journal of cellular physiology,* 234 (4), 4944-4958.
313. Xing, P. C., An, P., Hu, G. Y., Wang, D. L., and Zhou, M. J.,2020, LncRNA MIAT promotes inflammation and oxidative stress in sepsis-induced cardiac injury by targeting miR-330-5p/TRAF6/NF-κB axis, *Biochemical genetics,* 58, 783-800.
314. Swarup, V., Hinz, F. I., Rexach, J. E., Noguchi, K. I., Toyoshiba, H., Oda, A., ... and Geschwind, D. H.,2019, Identification of evolutionarily conserved gene networks mediating neurodegenerative dementia, *Nature medicine*, 25 (1), 152-164.
315. Xi, X., Li, T., Huang, Y., Sun, J., Zhu, Y., Yang, Y., and Lu, Z. J.,2017, RNA biomarkers: frontier of precision medicine for cancer, *Non-coding RNA*, 3 (1), 9.
316. Derveaux S., Vandesompele J., Hellemans J.,2010, How to do successful gene expression analysis using real-time PCR, *Methods.,* 50, 227–230.
317. Gibson UE, Heid CA, Williams PM.,1996, A novel method for real time quantitative RT-PCR, *Genome res*., 6, 995- 1001.
318. Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M. J., and Solera, J. J. C. C. A.,2015, Real-time PCR detection chemistry, *Clinica chimica acta*, 439, 231-250.
319. Hamalainen, H. K., Tubman, J. C., Vikman, S., Kyrölä, T., Ylikoski, E., Warrington, J. A., and Lahesmaa, R.,2001,. Identification and validation of endogenous reference genes for expression profiling of T helper cell differentiation by quantitative real-time RT-PCR, *Analytical biochemistry,* 299 (1), 63-70.
320. Rebouças, E. D. L., Costa, J. J. D. N., Passos, M. J., Passos, J. R. D. S., Hurk, R. V. D., and Silva, J. R. V.,2013, Real time PCR and importance of housekeepings genes for normalization and quantification of mRNA expression in different tissues, *Brazilian archives of biology and technology,* 56 (1), 143-154.

321. Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., amd Speleman, F.,2002, Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes, *Genome biology,* 3, 1-12.
322. Condori, J., Nopo-Olazabal, C., Medrano, G., and Medina-Bolivar, F. (2011). Selection of reference genes for qPCR in hairy root cultures of peanut, *BMC research notes,* 4 (1), 392.
323. Cordoba, E. M., Die, J. V., González-Verdejo, C. I., Nadal, S., and Román, B.,2011, Selection of reference genes in Hedysarum coronarium under various stresses and stages of development, *Analytical biochemistry,* 409 (2), 236-243.
324. Morrison, T.B., Weis, J.J. and Wittwer, C.T.,1998, Quantification of low-copy transcripts by continuous SYBR Green I monitoring during amplification, *Biotechniques,* 24, 954–62
325. Ahmad, A.I. and Ghasemi, J.B.,2007, New unsymmetrical cyanine dyes for real-time thermal cycling, *Anal bioanal chem.,* 389, 983–8
326. Sekar, R.B. and Periasamy, A.,2003, Fluorescence resonance energy transfer (FRET) microscopy imaging of live cell protein localizations, *J cell biol.,* 160, 629–33
327. Cardullo, R. A., Agrawal, S., Flores, C., Zamecnik, P. C., and Wolf, D. E.,1988, Detection of nucleic acid hybridization by nonradiative fluorescence resonance energy transfer, *Proceedings of the national academy of sciences,* 85 (23), 8790-8794.
328. Wittwer, C. T., Ririe, K. M., Andrew, R. V., David, D. A., Gundry, R. A., and Balis, U. J.,1997, The LightCyclerTM: a microvolume multisample fluorimeter with rapid temperature control, *Biotechniques,* 22 (1), 176-181.
329. Gibson, U.E., Heid, C.A. and Williams, P.M.,1996, A novel method for real time quantitative RT-PCR, *Genome res.,* 6, 995–1001
330. Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., & Gelfand, D. H.,1991, Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3'exonuclease activity of Thermus aquaticus DNA polymerase, *Proceedings of the national academy of sciences,* 88 (16), 7276-7280.
331. Clegg, R.M.,1992, Fluorescence resonance energy transfer and nucleic acids, *Methods enzymol*., 211, 353–88.
332. Heid C.A., Stevens, J., Livak, K.J and Williams, P.M.,1996, Real time quantitative PCR, *Genome res.,* 6, 986–94
333. Rocha, A. J., Monteiro-Júnior, J. E., Freire, J. E., Sousa, A. J., and Fonteles, C. S.,2015, Real time PCR: the use of reference genes and essential rules required to obtain normalisation data reliable to quantitative gene expression, *Journal of molecular biology research,* 5 (1), 45.
334. Hayrapetyan, H., Tran, T., Tellez-Corrales, E. and Madiraju, C.2023, Enzyme-linked ımmunosorbent assay: types and applications, *Methods mol biol.,* 2612,1-17.
335. Gan, S. D., and Patel, K. R.,2013, Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay, *Journal of investigative dermatology*, 133 (9), 1-3.
336. Yalow, R.S. And Berson, S.A.,1960, Immunoassay of endogenous plasma insulin in man, *J clin invest,* 39, 1157–75
337. Engvall, E., and Perlmann, P., 1971, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G, *Immunochemistry*, 8 (9), 871-874.
338. Van Weemen, B.K. and Schuurs, A.H.,1971, Immunoassay using antigen-enzyme conjugates, *FEBS lett* 15, 232–6
339. Shah, K., and Maghsoudlou, P.,2016, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics, *British journal of hospital medicine,* 77 (7), C98–C101.

340. Slightom, E.L.,1978, The analysis of drugs in blood, bile, and tissue with an indirect homogeneous enzyme immunoassay, *J forensic sci,* 23, 292–303
341. Engvall, E.,1980, [28] *Enzyme immunoassay ELISA and EMIT,* In Methods in enzymology, Vol. 70, 419-439, Academic Press.
342. Sakamoto, S., Putalun, W., Vimolmangkang, S., Phoolcharoen, W., Shoyama, Y., Tanaka, H., and Morimoto, S.,2018, Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites, *Journal of natural medicines,* 72, 32-42.
343. Crowther, J.R.,2009, Stages in ELISA, *Methods mol biol,* 516, 43–78
344. Belanger, L., Sylvestre, C. and Dufour, D.,1973, Enzyme-linked immunoassay for alpha-fetoprotein by competitive and sandwich procedures, *Clin chim acta,* 48, 15–18
345. Kashyap, R. S., Kainthla, R. P., Satpute, R. M., Agarwal, N. P., Chandak, N. H., Purohit, H. J., ... and Daginawala, H. F.,2004, Differential diagnosis of tuberculous meningitis from partially-treated pyogenic meningitis by cell ELISA, *BMC neurology,* 4, 1-6.
346. Sue, M. J., Yeap, S. K., Omar, A. R., and Tan, S. W.,2014, Application of PCR-ELISA in molecular diagnosis, *BioMed research international*, 2014 (1).
347. Jokerst, J. C., Adkins, J. A., Bisha, B., Mentele, M. M., Goodridge, L. D., and Henry, C. S.,2012, Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens, *Analytical chemistry*, 84 (6), 2900-2907.
348. Stanker, L. H., and Hnasko, R. M.,2015, A Double-sandwich ELISA for ıdentification of monoclonal antibodies suitable for sandwich ımmunoassays, *Elısa,* 69–78.
349. Jiang, H., Zhou, Y., Nabavi, S. M., Sahebkar, A., Little, P. J., Xu, S., ... and Ge, J.,2022, Mechanisms of oxidized LDL-mediated endothelial dysfunction and its consequences for the development of atherosclerosis, *Frontiers in cardiovascular medicine,* 9, 925923.
350. Drummer IV, C., Saaoud, F., Shao, Y., Sun, Y., Xu, K., Lu, Y., ... & Yang, X.,2021, Trained immunity and reactivity of macrophages and endothelial cells, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology,* 41 (3), 1032-1046.
351. Bertoia, M. L., Pai, J. K., Lee, J. H., Taleb, A., Joosten, M. M., Mittleman, M. A., ... and Mukamal, K. J.,2013, Oxidation-specific biomarkers and risk of peripheral artery disease, *Journal of the american college of cardiology,* 61 (21), 2169-2179.
352. Singh, K. K., Matkar, P. N., Pan, Y., Quan, A., Gupta, V., Teoh, H., ... and Verma, S., 2017, Endothelial long non-coding RNAs regulated by oxidized LDL, Molecular and cellular biochemistry, 431, 139-149.
353. Singh, K. K., Matkar, P. N., Pan, Y., Quan, A., Gupta, V., Teoh, H., ... and Verma, S.,2017, Endothelial long non-coding RNAs regulated by oxidized LDL, *Molecular and cellular biochemistry,* 431, 139-149.
354. Bian, W., Jing, X., Yang, Z., Shi, Z., Chen, R., Xu, A., ... and Zhang, C.,2020, Downregulation of LncRNA NORAD promotes Ox-LDL-induced vascular endothelial cell injury and atherosclerosis, *Aging (Albany NY),* 12 (7), 6385.
355. Ren, Y., Liang, J., Chen, B., Liu, X., Chen, J., Liu, X., and Chen, Y.,2025, LncRNA AC100865. 1 regulates macrophage adhesion and ox-LDL intake through miR-7/GDF5 pathway, *Cellular signalling,* 131, 111748.
356. Gao, Y., Yue, J., and Huang, Z.,2021, LncRNA MIAT mediates ox-LDL-induced endothelial cell injury via miR-206/RAB22A axis, *Journal of surgical research,* 265, 303-312.
357. Ghosh, J., Mishra, T. K., Rao, Y. N., and Aggarwal, S. K.,2006, Oxidised LDL, HDL cholesterol, LDL cholesterol levels in patients of coronary artery disease. *Indian journal of clinical biochemistry*, 21 (1), 181-184.

EKLER

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



13% Genel Benzerlik

Her veri tabanı için çakışan kaynaklar da dâhil tüm eşleşmelerin kombine toplamı.

Rapordan Filtrelenen

Bibliyografya Alıntılanan

Metin

Hariç tutulacaklar

47 Çıkarılan Eşleşme

Ön Sıradaki Kaynaklar

11% İnternet kaynakları

7% Yayınlar

3% Gönderilen çalışmalar (Öğrenci Makaleleri)

Bütünlük Bayrakları

İnceleme için 1 Bütünlük Bayrağı

Değiştirilen Karakterler
22 sayfada 44 şüpheli karakter
Harfler başka bir alfabeden benzer karakterlerle değiştirilir.

Sistemimizin algoritmaları bir belgede, onu normal bir gönderiden ayırabilecek her türlü tutarsızlığı derinlemesine inceler. Tuhaf bir şey fark edersek incelemeniz için bayrak ekleriz.

Bir Bayrak mutlaka bir sorun olduğunu göstermez. Ancak daha fazla inceleme için dikkatinizi vermenizi öneririz.

KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

☒ **Kurum izni gerekmektedir.**

☐ **Kurum izni gerekmemektedir.**

Ebru BAKAÇ
(İmza)

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : E-50200903-199-871857 27.12.2023
Konu : Ebru Bakaç'ın tez çalışması

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 18.12.2023 tarihli, 863790 sayılı yazınız

Anabilim Dalınız öğretim üyesi Doç.Dr.Burcu BAYOĞLU'nun danışmanlığı altında yüksek lisans eğitimine devam etmekte olan Ebru BAKAÇ'ın "Aterosklerozlu Hastalarda Uzun Kolayıcı Olmayan RNA Coromerker ile Okside LDL Kolesterol Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması " başlıklı yüksek lisans tez çalışmasının hasta temini ve takibinin Fakültemiz Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından sağlanmasının uygun görüldüğü hakkında adı geçen anabilim dalı başkanlığından alınan 22.12.2023 tarihli, 868772 sayılı yazı ilişiktedir.
Bilgilerini ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa Sait GÖNEN
Dekan

Ek:1

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu :BSCPS8A6K3 Belge Takip Adresi : https://www.turkiye.gov.tr/istanbul-universitesi-cerrahpasa-ebys

Adres:İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34098 Cerrahpaşa/İstanbul
Telefon:0212 414 30 00 Faks:0212 632 00 33
e-Posta:ctfpersonel@iuc.edu.tr Web:https://www.iuc.edu.tr
Kep Adresi:iuc@hs01.kep.tr
Bilgi için: Yıldız DEMİR
Dahili: 60206

İÜC Tarih ve Sayı: 22.12.2023-868772

T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı

Sayı : E-62165913-199-868772 27.12.2023
Konu : Ebru Bakaç'ın tez çalışması

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 21.12.2023 tarihli ve E-50200903-199-867025 sayılı yazı

Fakültemiz Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU' nun danışmanlığı altında yüksek lisans eğitimine devam etmekte olan Ebru BAKAÇ' ın "Aterosklerozlu Hastalarda Uzun Kolayıcı Olmayan RNA Coromerker ile Okside LDL Kolesterol Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması " başlıklı yüksek lisans tez çalışmasının hasta temini ve takibinin Anabilim Dalımız tarafından sağlanması tarafımızca uygun görülmüştür. Bilgilerinizi arz ederim.

Prof. Dr. Gökhan İPEK
Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Hasan Ahmet ÖZDOĞAN
Bölüm Başkanı

Adres:İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Telefon:0 (212) 414 30 00 Faks:(212) 632 00 25
Bilgi için: Özge BALKANOĞLU
Dahili: 62603