T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

MAST HÜCRE TRİPTAZI VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN KORONER ARTER HASTALIĞININ KLİNİK VE ANJİOGRAFİK BULGULARI İLE İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Aycan Fahri ERKAN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN

ANKARA

Mart 2011

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

MAST HÜCRE TRİPTAZI VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN KORONER ARTER HASTALIĞININ KLİNİK VE ANJİOGRAFİK BULGULARI İLE İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Aycan Fahri ERKAN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN

Bu Tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından 01/2008-40 Nolu Proje İle Desteklenmiştir

ANKARA

Mart 2011

İÇİNDEKİLER

İçindekiler I

Tablolar III

Önsöz IV

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1 Aterosklerotik Süreçle İlgili Genel Kavramlar 4

2.2 Mast Hücreleriyle İlgili Genel Kavramlar 6

2.2.1 Mast Hücrelerinde Bulunan İnflamatuar Mediatörler 8

2.3 Mast Hücre Triptazı 8

2.3.1. Mast Hücre Triptazının Aktivasyonu ve Regülasyonu 9

2.3.2 Mast Hücre Triptazının Biyolojik Aktiviteleri 11

2.3.3 Mast Hücre Triptazı - PAR Etkileşimi 11

2.4 Mast Hücre Triptazı ve Aterosklerotik Sürecin İlişkisi 12

2.5 İleri Oksidasyon Protein Ürünleri (AOPP) 19

2.6 Malonil Dialdehid (MDA) 21

3. GEREÇ ve YÖNTEM 22

3.1 Hasta Grubu 22

3.2 Koroner Anjiografi 23

3.3 Karotis İntima Media Kompleks Kalınlığının Ölçümü 24

3.4 Serum/plasma Total MDA Düzeylerinin Ölçümü 25

3.5 Plazma/Serum AOPP Düzeylerinin Tayini 29

3.6 Serum Mast Hücre Triptaz Konsantrasyonunun Tayini 30

4. BULGULAR 31

5. TARTIŞMA 36

6. SONUÇ 42

7. ÖZET 44

8. SUMMARY 45

9. KAYNAKLAR 46

10. ÖZGEÇMİŞ 54

TABLO **SAYFA NO**

Tablo 1	Mast Hücre Triptazı ve MDA düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı	31
Tablo 2	AOPP düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı	32
Tablo 3	Mast Hücre Triptazı ve Gensini Skoru'nun Korelasyonu	32
Tablo 4	Kontrol Değişkenlerin MHT- Gensini Korelasyonuna Etkisi	33
Tablo 5	MHT Kuartillerine Göre Gensini Skorunun Dağılımı	33
Tablo 6	Mast Hücre Triptazı Ve Karotis İntima Media Kompleks Kalınlığı	34
Tablo 7	Kontrol Değişkenlerin MHT – IMK Korelasyonuna Etkisi	34
Tablo 8	AOPP değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi	35
Tablo 9	MDA değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi	35

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca engin bilgisi ve deneyimine sevgisini, sonsuz sabrını ve anlayışını katarak her an yanımda olan, bana bilgece yol gösterirken bir yandan cesaretlendiren çok değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayşe Bilgihan'a, eğitimime olan büyük katkısının yanı sıra hiçbir zaman esirgemediği desteği ve rehberliği için Tıbbi Biyokimya A.D. Başkanı Sayın Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu'na, doktora eğitimim boyunca çok değerli bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan ve bana her zaman destek olan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyelerine, laboratuar deneylerinde bilgi ve deneyimiyle bana destek olan Tıbbi Biyokimya A.D. araştırma görevlisi Sayın Dr. Uğur Erçin'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Yaşamımın ve eğitimimin her aşamasında bana koşulsuz ve sonsuz bir özveriyle destek olan sevgili annem Uz. Dr. Işıkbay Gülten Erkan'a ve babam Y. Müh. Orhan Erkan'a, sevgisi, desteği ve bilge rehberliğiyle yaşamıma anlam katan sevgili eşim Uz.Dr. Gülbanu Canbaloğlu Erkan'a sonsuza dek minnettarım.

Bu tezi, Tanrı'nın rahmetine kavuşan sevgili babam Orhan Erkan'a ve hayatıma umut ışığını yeniden getiren biricik oğlum Umut Erkan'a adıyorum.

Yrd. Doç. Dr. Aycan Fahri Erkan

İÇİNDEKİLER

İçindekiler I

Tablolar III

Önsöz IV

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1 Aterosklerotik Süreçle İlgili Genel Kavramlar 4

2.2 Mast Hücreleriyle İlgili Genel Kavramlar 6

2.2.1 Mast Hücrelerinde Bulunan İnflamatuar Mediatörler 8

2.3 Mast Hücre Triptazı 8

2.3.1. Mast Hücre Triptazının Aktivasyonu ve Regülasyonu 9

2.3.2 Mast Hücre Triptazının Biyolojik Aktiviteleri 11

2.3.3 Mast Hücre Triptazı - PAR Etkileşimi 11

2.4 Mast Hücre Triptazı ve Aterosklerotik Sürecin İlişkisi 12

2.5 İleri Oksidasyon Protein Ürünleri (AOPP) 19

2.6 Malonil Dialdehid (MDA) 21

3. GEREÇ ve YÖNTEM 22

3.1 Hasta Grubu 22

3.2 Koroner Anjiografi 23

3.3 Karotis İntima Media Kompleks Kalınlığının Ölçümü 24

3.4 Serum/plasma Total MDA Düzeylerinin Ölçümü 25

3.5 Plazma/Serum AOPP Düzeylerinin Tayini 29

3.6 Serum Mast Hücre Triptaz Konsantrasyonunun Tayini 30

4. BULGULAR 31

5. TARTIŞMA 36

6. SONUÇ 42

7. ÖZET 44

8. SUMMARY 45

9. KAYNAKLAR 46

10. ÖZGEÇMİŞ 54

TABLO **SAYFA NO**

Tablo 1	Mast Hücre Triptazı ve MDA düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı	31
Tablo 2	AOPP düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı	32
Tablo 3	Mast Hücre Triptazı ve Gensini Skoru'nun Korelasyonu	32
Tablo 4	Kontrol Değişkenlerin MHT- Gensini Korelasyonuna Etkisi	33
Tablo 5	MHT Kuartillerine Göre Gensini Skorunun Dağılımı	33
Tablo 6	Mast Hücre Triptazı Ve Karotis İntima Media Kompleks Kalınlığı	34
Tablo 7	Kontrol Değişkenlerin MHT – IMK Korelasyonuna Etkisi	34
Tablo 8	AOPP değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi	35
Tablo 9	MDA değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi	35

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca engin bilgisi ve deneyimine sevgisini, sonsuz sabrını ve anlayışını katarak her an yanımda olan, bana bilgece yol gösterirken bir yandan cesaretlendiren çok değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayşe Bilgihan'a, eğitimime olan büyük katkısının yanı sıra hiçbir zaman esirgemediği desteği ve rehberliği için Tıbbi Biyokimya A.D. Başkanı Sayın Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu'na, doktora eğitimim boyunca çok değerli bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan ve bana her zaman destek olan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyelerine, laboratuar deneylerinde bilgi ve deneyimiyle bana destek olan Tıbbi Biyokimya A.D. araştırma görevlisi Sayın Dr. Uğur Erçin'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Yaşamımın ve eğitimimin her aşamasında bana koşulsuz ve sonsuz bir özveriyle destek olan sevgili annem Uz. Dr. Işıkbay Gülten Erkan'a ve babam Y. Müh. Orhan Erkan'a, sevgisi, desteği ve bilge rehberliğiyle yaşamıma anlam katan sevgili eşim Uz.Dr. Gülbanu Canbaloğlu Erkan'a sonsuza dek minnettarım.

Bu tezi, Tanrı'nın rahmetine kavuşan sevgili babam Orhan Erkan'a ve hayatıma umut ışığını yeniden getiren biricik oğlum Umut Erkan'a adıyorum.

Yrd. Doç. Dr. Aycan Fahri Erkan

1.GİRİŞ

Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın 2020 yılında küresel hastalık yükünde birinci sırayı alması beklenmektedir. Hali hazırda, gelişmiş toplumlarda bir numaralı ölüm nedeni kardiyovasküler sebeplere bağlı ölümdür. Akut miyokard infarktüsü ve inme (stroke) kardiyovasküler hastalık zemininde mortalitenin iki önemli nedenidir. Son yıllarda kardiyovasküler tıp alanında yaşanan önemli gelişmeler, akut miyokard infarktüsü ve inme geçiren hastalarda mortalite oranlarını aşağıya çekmeyi başarsa da hastalık yükü artmaktadır. Yapılan farmakolojik ve invaziv müdahalelerle hasta akut miyokard infarktüsü sonrası sağ kalmakta, ancak eğer sol ventrikül sistolik fonksiyonu bozulmuş ise hayatının geri kalanına bir kalp yetmezliği hastası olarak devam etmektedir.

Sonuç olarak aterosklerotik kardiyovasküler hastalık, neden olduğu morbidite, mortalite ve sağlık ekonomilerine getirdiği ağır yük ile önemi her geçen gün artan bir halk sağlığı sorunudur. Bunun doğal sonucu olarak, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar alanında yapılan araştırmalarda özellikle son iki dekadda adeta bir patlama yaşanmıştır. Hastalığın komplikasyonlarını tedavi etmeye yönelik ilaç ve cihaz geliştirmeyi hedefleyen çalışmalar yürürken, sorunun temeline inmeyi hedefleyen bilim insanları aterosklerozun hücresel ve moleküler mekanizmaları üzerine eğilmektedirler. Önceleri damar duvarında lipid birikiminden ibaret olduğu düşünülen aterosklerozun çok daha karmaşık bir hastalık süreci olduğu daha sonra anlaşılmıştır. Özellikle son iki dekadda yapılan çalışmalar aterosklerozun temel mekanizmalarından biri olarak inflamasyonu ön plana çıkarmıştır. [1-3]

İnflamasyon ateroskleroz oluşumu ve gelişiminde çok önemli bir etkendir. Bu süreçte monosit, makrofaj ve lenfositler başta olmak üzere

pek çok inflamatuar hücre rol alır.[1-3] Son dönemde aterosklerotik plakların rüptüre özellikle hassas olan omuz bölgelerinde mast hücre sayısı ve konsantrasyonunun sağlıklı segmentlere göre yaklaşık 200 kat artmış olduğunun fark edilmesi [4], ilgiyi bu hücre türüne çekmiştir. Kemik iliğindeki kök hücrelerden köken alan bu hücrelerin IgE aracılıklı anafilaktik ve alerjik reaksiyonlarda temel rol oynadığı uzun zamandır bilinmektedir. Son zamanlarda ise, granüllerinde çok çeşitli mediatörler bulunan bu ilginç hücrelerin, bu çok iyi bilinen işlevlerinin yanı sıra, bağışıklık sistemiyle ilgili çok çeşitli ve karmaşık süreçlerde de görev aldıkları anlaşılmıştır. Mast hücre granüllerinde depolanan ve mast hücre aktivasyonuyla (degranülasyon) serbest kalan triptaz enzimi, bir nötral serin proteazdır.[5] Mast hücre triptazının çeşitli inflamatuar ve kemotaktik sitokinlerin salınmasını uyardığı bilinmektedir. İlginç olarak triptaz, komşu mast hücrelerinin de aktivasyonuna yol açmakta, böylelikle alerjik yanıtın amplifikasyonunu sağlamaktadır.[6]

Son zamanlarda mast hücrelerinin ve mast hücre triptazının ateroskleroz gelişimi üzerindeki etkileri ilgi odağı haline gelmiştir. Mast hücreleri, endotel, düz kas hücreleri, ve makrofajların apoptosisine neden olarak plak destabilizasyonuna ve plak içi hemorajiye yol açmaktadır.[7] Plak içi hemoraji kuvvetli bir pro-aterojen uyarı olup, aterosklerotik plağın progresyonu ve ekspansiyonu ile sonuçlanmaktadır.[8] Öte yandan mast hücre triptazı, aterosklerotik plağın fibröz kapsülünün önemli bir yapıtaşı olan kollajeni parçalayan matriks metalloproteinaz sistemini aktive etmekte ve plak destabilizasyonu-ekspansiyonuna yol açmaktadır.[9] Hayvan modellerinde mast hücrelerinin aktivasyonunun plak içi hemoraji, plak destabilizasyonu ve plak progresyonu ile ilişkisi gösterilmiştir.

Diğer yandan oksidatif stres, endotel disfonksiyonundan başlayarak, aterosklerotik sürecin her aşamasında rol oynayan bir

etkendir. Serbest oksijen radikallerini direkt olarak ölçmek mümkün olmadığından oksidatif strese maruz kalarak modifiye olan moleküllerin düzeylerinin değerlendirilmesi tercih edilmektedir. İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), proteinlerin oksidatif strese maruz kalması ile oluşur ve ilk olarak hemodiyaliz hastalarında yüksek düzeyleri bildirilmiştir.[10] Daha sonra, yüksek AOPP düzeyleri ile ateroskleroz ve koroner arter hastalığı arasındaki ilişkiye dikkat çeken çalışmalar yayınlanmıştır.[11] Malondialdehit ise lipid peroksidasyon ürünü olup, oksidatif stres belirteci olarak kullanılan bir diğer parametredir.[12]

Bu çalışmanın amacı, insanlarda karotis arter intima –media kompleks kalınlığı ve koroner anjiografi görüntülerinden yararlanarak hesaplanan Gensini skoru ile temsil edilen aterosklerotik plak yükünün, mast hücre triptaz düzeyleri ile temsil edilen mast hücre aktivitesi ve AOPP ile MDA tarafından temsil edilen oksidatif stres ile olan ilişkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Aterosklerotik Süreçle İlgili Genel Kavramlar

Ateroskleroz, arter duvarında bir lipid çekirdeği ve onu çevreleyen bir fibröz kapsülden oluşan, çeşitli türlerde inflamatuar hücreler içeren, oluşumu ve gelişiminde inflamasyonun önemli bir rol oynadığı kronik bir hastalık sürecidir. Endotel bütünlüğü ve/veya fonksiyonu bozulduğunda, dolaşımdaki monositler çeşitli adezyon molekülleri aracılığı ile endotel tutunur (adezyon). Daha sonra bu monositler diapedez yoluyla, endotel hücreleri arasındaki porlardan intimaya geçerler. İntimaya infiltre olduktan sonra bu monositler makrofaja dönüşür. Bu makrofajlar, intimada bulunan lipid partiküllerini, özellikle okside düşük dansiteli lipoprotein (LDL: low density lipoprotein) moleküllerini fagosite eder. Lipid partiküllerini fagosite eden bu makrofajlar, sitoplazmalarındaki lipid bikrimi sonucunda köpük hücrelere (foam cell) dönüşürler. Bu köpük hücrelerin bir araya gelmesi ile, yağlı çizgi (fatty streak) denilen aterosklerozun gözle görülebilen ilk lezyonları oluşur. Yağlı çizgilere çocukluk çağından itibaren rastlanabilmektedir. Yağlı çizgiler yıllar içinde ilerleyerek ve organize olarak komplike olmayan ateromları (plakları) oluşturur. Bir aterom büyümeye başladığında, ilk başta damar duvarı onun dışarıya doğru genişlemesine izin verecek şekilde ekspanse olur. Bu fenomene damar duvarının pozitif remodelingi (yeniden biçimlenmesi) adı verilir. Pozitif remodeling nedeniyle, gelişimlerinin başlangıç aşamasında olan ateromlar dışarıya doğru büyüdüklerinden lümende darlık oluşturmazlar, ancak plak rüptürü riski bu aşamada bile söz konusudur.

Aterosklerotik plakların lipidden zengin bir çekirdeği (fatty core) ve onu çevreleyen bir fibröz kapsülü (fibrous cap) vardır. Bir plağın lipidden zengin çekirdeği ne kadar büyük, onu çevreleyen fibröz kapsülü ne kadar ince ise bu plak rüptüre o kadar yatkındır. Bu tür plaklara yumuşak plak ya

da hassas (vulnerable) plak denilir. Plağın vulnerable hale gelmesinde bu morfolojik özelliklerin yanı sıra, plak içi inflamasyonun ve plak içindeki inflamatuar hücrelerin aktivitelerinin de rol oynadığı bilinmektedir.[1-3] Bu tür plak genelde çok büyük değildir, dolayısıyla koroner arter lümeninde hemodinamik olarak anlamlı bir darlık oluşturmayabilir. Bir plağın kan akımını iskemiye yol açacak ölçüde azaltması ve anginal semptomlara yol açabilmesi için en az %70 oranında lüminal darlık oluşturması gerekir. Dolayısıyla bu vulnerable plaklara 'sessiz katil' denmesinin geçerli bir bilimsel dayanağı var gibi görünmektedir; anlamlı darlık oluşturmadıkları için hastanın herhangi bir şikayeti yoktur, hatta efor testi gibi non-invaziv stress testleriyle bile iskemi saptanamayabilir. Bu asemptomatik plak bir gün aniden rüptür olursa akut koroner sendrom ve hatta ani kardiyak ölüm meydana gelebilir. Aterom plağının yırtılması sonucunda plak içeriğindeki kollajen, doku faktörü gibi bileşenlerin kanla temas etmesiyle plağın üzerinde hızla trombüs oluşur. Plak rüptüründe inflamatuar hücrelerin anahtar rol oynadığı bilinmektedir.[1-3] Tıkayıcı trombüs nedeniyle koroner kan akımının ani ve tam olarak kesintiye uğraması ile miyokard infarktüsü meydana gelir.

Öte yandan, gelişimlerinin erken evrelerinde rüptür olmayan plakların fibröz kapsülleri zaman içinde kalınlaşır, fibröz kapsül/lipid çekirdek oranı artar. Böyle plaklara kararlı plak denilir, bunlar arter lümeninde anlamlı (%70) darlık yapacak kadar büyüdüklerinden genellikle iskemiye ve anginal semptomlara (çoğunlukla kararlı efor anginası) sebep olurlar. Daralmış lümen nedeniyle azalan miyokardiyal kan ve oksijen sunumu, özellikle efor sırasında miyokardın oksijen gereksinimi arttığında tamamen yetersiz hale gelir, iskemi oluşur. Adenozin gibi mediatörler iskemiye yanıt olarak salgılanarak bir yandan vazodilatasyonla akımı arttırmaya çalışırken, bir yandan anginal ağrıyı oluştururlar. Bu kararlı plakların rüptür olasılığı düşüktür, ancak nadiren plak erozyonu denilen

yüzeysel plak aşınması ile lümende akut tromboza ve akut koroner sendroma yol açabilirler. Böylelikle, hassas (vulnerable) plakların kararlı angina pektoristen çok akut koroner sendroma, kararlı plakların ise akut koroner sendromdan çok kararlı angina pektorise yol açtıkları söylenebilir.[13]

2.2 Mast Hücreleriyle İlgili Genel Kavramlar

Mast hücreleri, kemik iliğindeki multipotent hematopoetik kök hücrelerden köken alan ve histamin salgılayarak IgE aracılıklı tip I hipersensitivite reaksiyonuna yol açan hücrelerdir.[14] Mast hücrelerinin kemik iliğindeki CD34+ kök hücrelerden köken aldığı ve kan dolaşımında prekürsör hücreler olarak yer aldıkları bilinmektedir.[15] Dolaşımdaki bu prekürsör hücreler cildin dermis tabakası, akciğerler, intestinal mukoza ve submukoza gibi dokulara yerleşir, diferansiye olur ve olgunlaşırlar. Bu süreçler için mast hücre büyüme faktörü gereklidir. Mast hücre granülleri heparin, histamin ve triptaz da dahil olmak üzere pek çok proteazlar içerir. Bu mediatörlerin ekstrasellüler ortama salınımı (degranülasyon) mekanik travma, ısı gibi fiziksel faktörler, toksinler, yılan ve böcek zehirleri, proteinler ve doku proteazları gibi endojen mediatörler ve immünolojik mekanizmalar (IgE bağımlı ya da IgE'den bağımsız) tarafından tetiklenebilir. Mast hücre membranlarında IgE reseptörleri bulunur. IgE ile kaplanmış antijenler mast hücre yüzeyindeki bu reseptörlere bağlandığında degranülasyon meydana gelir. Kompleman aktivasyonu da mast hücre degranülasyonuna yol açabilir. Mast hücre yüzeyindeki C5a reseptörünün aktivasyonu ile de degranülasyon tetiklenmektedir. Artmış mast hücre triptazının IgE'nin tetiklediği inflamatuar ve alerjik reaksiyonlarda önemli bir yeri vardır.[16]

Mast hücrelerinin ayrıca doğuştan (innate) bağışıklıkta önemli yeri vardır. Mast hücreleri, bakteri ürünlerine yanıt olarak, antikordan bağımsız bir mekanizmayla tümör nekroz faktör-α (TNF-α) salgılarlar.[16]

Mast hücreleri, hipersensitivite reaksiyonları dışında pek çok süreçte yer alır; inflamatuar yanıtları başlatır ve düzenlerler, bakteriyel ve parazitik patojenlerle savaşırlar, vasküler fonksiyonları düzenlerler, yara iyileşmesi ve neovaskülarizasyona katkıda bulunurlar, ayrıca diğer inflamatuar ve stromal hücreleri de aktive ederler.[17,18]

2.2.1 Mast Hücrelerinde Bulunan İnflamatuar Mediatörler

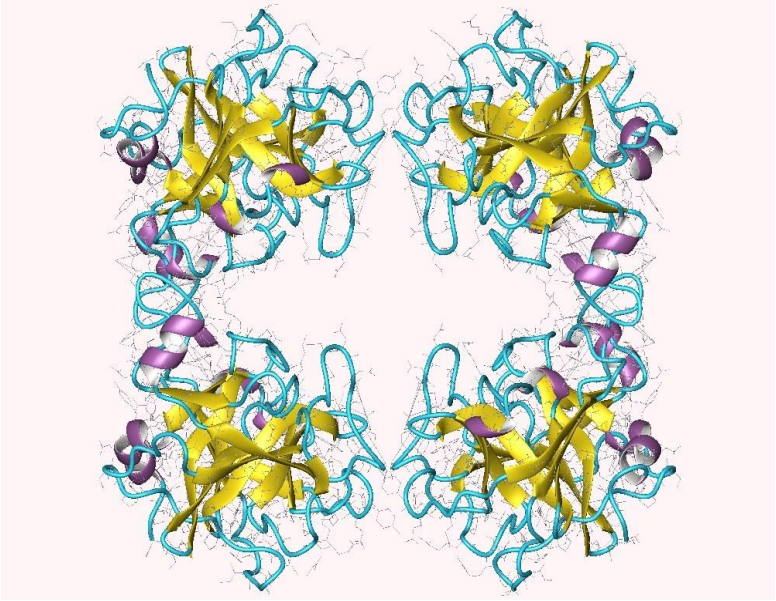
Mast hücrelerinde başlıca iki tür inflamatuar mediatör bulunmaktadır. Bunlardan birincisi önceden oluşturulmuş (preformed) mediatörlerdir; histamin, proteoglikanlar (heparin, kondroitin sülfat) ve nötral proteazlar (triptaz) sekretuar granüllerde depolanır ve mast hücre aktivasyonu ile salgılanırlar. Yeni oluşturulan mediatörlerlere (lökotrienler, prostaglandinler, sitokinler, TNF ve interlökin (IL)-4, IL-5, IL-6) istirahat halindeki mast hücresinde rastlanmaz, bunlar IgE aracılıklı aktivasyon sırasında üretilirler. İki tür mast hücresi vardır:

- MC_T mast hücreleri sadece triptaz içerir ve ağırlıklı olarak alveol duvarlarında ve ince barsak mukozasında bulunurlar.
- MC_{CT} mast hücreleri ise hem hem triptaz hem kimaz içerir ve ağırlıklı olarak cildin dermis tabakasında, ince barsak submukozasında ve damar duvarında bulunur.

2.3 Mast Hücre Triptazı

Mast hücre triptazı (MHT) bir tetramerik nötral serin proteaz olup, molekül ağırlığı 134 kDa'dur. MHT'ını kodlayan genler 16. kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır.[5] Bu enzim, non-kovalan şekilde bağlı olan dört alt birimden oluşur ve her alt birim bir aktif bağlanma bölgesi içerir. Mast hücre triptazının moleküler yapısı Şekil 1'de betimlenmiştir.

MHT'ın α-triptaz ve β-triptaz olmak üzere iki tipi mevcuttur. Bu iki tip arasında yaklaşık %90 oranında yapısal benzerlik bulunmaktadır. β-triptazların β-I,β-II ve β-III subtipleri ve α-triptazların α-I ve α-II subtipleri vardır.[5] β-II triptaz, mast hücrelerinin sekretuar granüllerinde depolanır.[19] Buna karşın, α-protriptaz, mast hücrelerinden inaktif bir pro-enzim olarak salgılanır ve sağlıklı kişilerin kanındaki baskın triptaz türüdür.



Şekil 1: Mast hücre triptazı'nın moleküler yapısı

2.3.1 Mast Hücre Triptazının Aktivasyonu ve Regülasyonu

β-II protriptazın aktivasyonu iki proteolitik basamak ile olur.[20] İlki bir otokatalitik intermoleküler klivaj olup, asidik pH ve ortamda heparin veya dekstran sülfat varlığını gerektirir. Oluşan monomer, aktif tetramer'in ellide biri kadar aktiviteye sahiptir. İkinci basamakta ise prekürsör dipeptid, dipeptidil peptidaz I tarafından uzaklaştırılır, böylelikle oluşan olgun peptid spontan olarak aktif tetrameri oluşturur. Bu süreç de ortamda heparin veya dekstran sülfat olmasını gerektirir.

β-triptaz'ın β-protriptaz'ı aktive etmesi için optimal pH 5.5-6.5 aralığındadır.[20] Bu pH aralığı, triptaz aktivasyon sürecinde histidin

rezidülerinin önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.[19] Gerçekten de, β-triptaz, vasküler problemlere bağlı olarak doku perfüzyonunun bozulmasına veya inflamasyona sekonder olarak asidotik olan dokularda daha çok aktive olmaktadır.

Triptaz aktivitesinin regülasyonunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Tetramerik yapı ve her bir monomerin aktif bölgesinin bu dört monomerin arasında oluşan santral porun iç yüzüne bakıyor olması[21], triptaz enzimini α-proteinaz inhibitörü, α2 makroglobulin ve aprotinin gibi serin proteaz inhibitörleri tarafından inaktivasyona karşı dirençli kılar.[19] Triptaz aktivitesinin regülasyonunun triptaz'ın heparin proteoglikan'dan antitrombin-III gibi bazik proteinlerin aracılığıyla yavaş bir şekilde ayrışması yoluyla olduğu düşünülmektedir.[22]

2.3.2 Mast Hücre Triptazının Biyolojik Aktiviteleri

İnflamasyon sırasında, triptaz granülositler için kemotaktik özelliği olan IL-8'in salınımını arttırır ve epitelyal hücrelerde ICAM-1 ekspresyonunu arttırır.[23] Triptaz aynı zamanda IL-1β'nın mRNA ekspresyonunu arttırır, IL-1β'nın mast hücrelerinin aktive olduğu bölgelere diğer inflamatuar hücrelerin yönlendirilmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.[24]

Bunun ötesinde, aktive mast hücrelerinden triptaz salınımının komşu mast hücrelerinin aktivasyon ve degranülasyonuna yol açtığı bildirilmiştir. Böylelikle mast hücre triptazı, mast hücrelerinin alerjenlere ve diğer uyaranlara karşı yanıtını amplifiye etmektedir.[6]

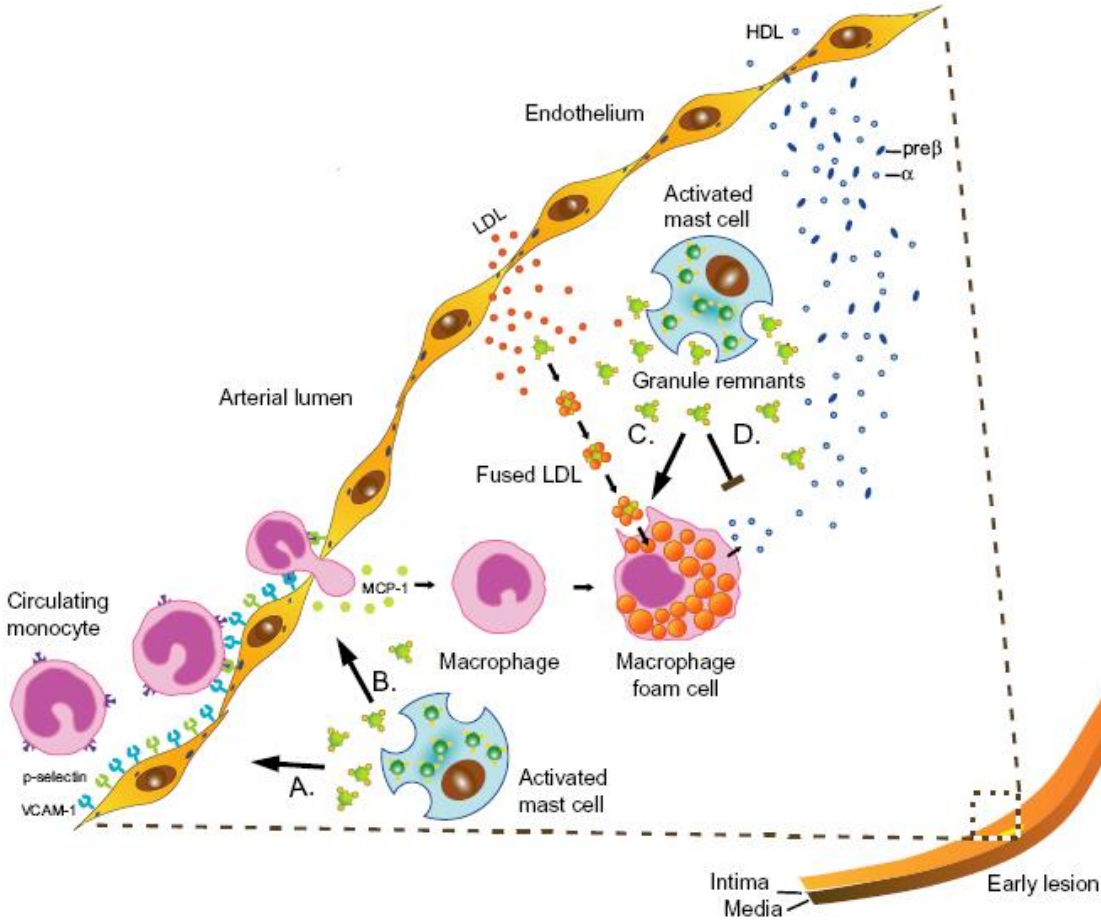
2.3.3 Mast Hücre Triptazı - PAR Etkileşimi

Mast hücre triptazı Proteazla Aktive olan Reseptörlerleri (PAR) aktive eder. PARlar G-protein bağıntılı reseptörlerdir. PAR aktivasyonu reseptörün amino terminalinin proteolitik klivajını gerektirir. Bilinen 4 adet PAR mevcuttur, triptazın bunların içinden PAR-2 reseptörünü aktive ettiği bilinmektedir.[25] PAR-2 aktivasyonu inositol trifosfat yolu üzerinden intrasellüler depolardan kalsiyum salınımına neden olmakta ve hücre içi kalsiyum düzeyini arttırmaktadır.

PARlar havayollarının epitelyal ve düz kas hücrelerinde, terminal bronş epitelinde, tip II pnömositlerde ve solunum yollarındaki mast hücrelerinde eksprese olur.[26] Triptaz, solunum sisteminde bronkodilatör ve anti-inflamatuar mediatörlerin salınımına yol açar. Kardiyovasküler sistemde PAR-2 aktivasyonunun nitrik oksit aracılıklı vasküler relaksasyona yol açtığı bildirilmiştir.[25]

2.4 Mast Hücre Triptazı ve Aterosklerotik Sürecin İlişkisi

Mast hücre triptazı ile koroner ateroskleroz nasıl ilişkilendirilebilir? Bu soruya yanıt ararken aterosklerozun fizyopatolojisine biraz daha yakından bakmak gerekir. Ateroskleroz, düz kas proliferasyonu ve migrasyonu, kolesterol depolanması, mononükleer hücre infiltrasyonu ve ekstraselüler matriks üretimi ile karakterize bir süreçtir. Mast hücreleri aterosklerotik plaklar içindeki inflamatuar yanıtın bir parçası olarak ortaya konmuştur.[27,28] Mast hücrelerinin aterosklerotik plaktaki makrofajların LDL moleküllerini fagosite ederek köpük hücrelerine dönüşmelerinde, mast hücrelerinin de katkısı bulunduğu bilinmektedir[29]. Aktive mast hücrelerinin içeriklerindeki tümör nekroz faktör–α aracılığıyla süregelen inflamatuar süreci hızlandırdıkları ve plağı kararsız hale getirdikleri düşünülmektedir.[30,31] Aterosklerotik süreçte mast hücrelerinin rolü Şekil 2'de betimlenmiştir.



Şekil 2: Aterosklerotik süreçte mast hücrelerinin rolü

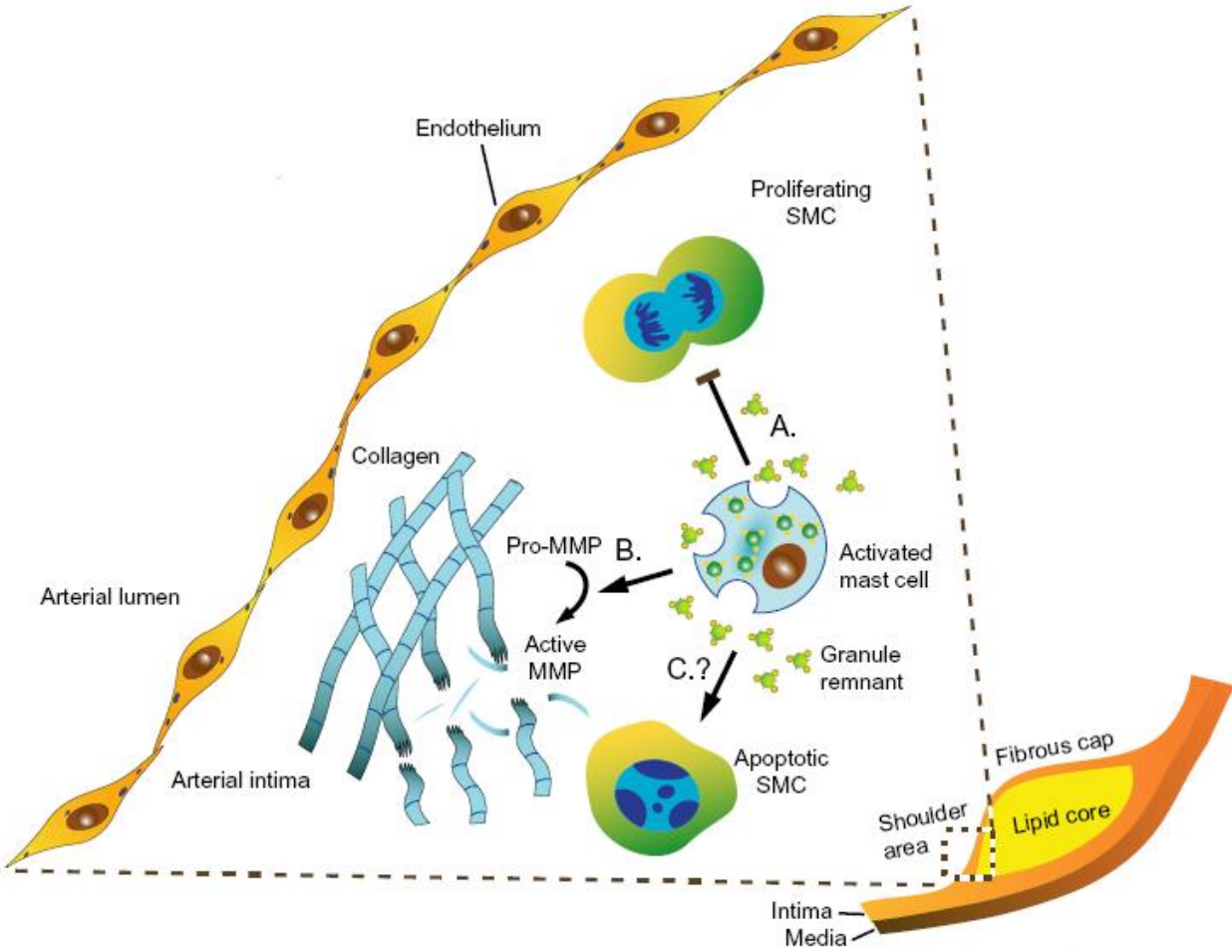
Yapılan çalışmalarda, mast hücre aktivasyonunun plak progresyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir.[7] Üstelik, cromolyn ile mast hücre stabilizasyonu yapıldığında (mast hücre degranülasyonu bloke edildiğinde), plak progresyonunun yavaşladığı da gösterilmiştir.[7]

Aktive mast hücrelerine sadece intimada değil, adventisyada da rastlanmaktadır. Çalışmalarda, akut miyokard infarktüsü geçiren ve hassas/rüptür olmuş plakları olan hastaların koroner arter örneklerinde adventisya tabakasında aktive mast hücreleri gösterilmiştir.[8,32,33] Üstelik, adventisyadaki mast hücre sayısı, plak rüptürü/erozyonu insidansı ile pozitif korelasyon göstermektedir.[8] Adventisya tabakasındaki mast hücrelerinin fokal aktivasyonu, plak içi hemoraji insidansını arttırmaktadır. DNP ile mast hücrelerinin aktivasyonu fare karotis arterindeki aterosklerotik plaklarda plak içi hemoraji insidansını 3 gün içinde belirgin olarak arttırmıştır.[7] Plak içi hemoraji, potent bir pro-aterojen uyarı olup, aterosklerotik plağın nekrotik çekirdeğinin büyümesine yol açmasından dolayı plak destabilizasyonu için de majör bir risk faktörüdür.[34] Plak içinde biriken eritrositlerin aktive makrofajlar tarafından fagosite edilmesi seroid üretimine ve plağın daha çok büyümesine yol açmaktadır, ki bu durum plak rüptürüne zemin hazırlayabilir.[35] Cromolyn ile mast hücre stabilizasyonunun, plak içi hemorajiyi de azalttığı bildirilmiştir.[7]

Daha önceki çalışmalarda mast hücrelerinin kardiyomiyositlerin[36], vasküler düz kas hücrelerinin[37,38] ve endotel hücrelerinin[39] apoptosislerine yol açtığı bildirilmiştir. Triptaz ve kimaz kendileri pro-apoptotik etki gösterdikleri gibi,[37,38] histaminin pro-apoptotik etkisini de arttırırlar.[40] Özellikle endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerinin apoptosisi plak destabilizasyonuna yol açabilir.[41,42] Bot ve arkadaşlarının çalışmasında ise bu klasik bilgilere ek olarak mast hücrelerinin makrofajlarda da apoptosise yol açtığı bildirilmiştir. Makrofaj apoptosisi ile ortaya çıkan apoptotik cisimciklerin plağın nekrotik çekirdeğinin büyümesine ve plak

destabilizasyonuna yol açabileceği öne sürülmüştür.[7] Proteaz inhibitörleri ve H1 reseptör antagonistleri mast hücrelerinin tetiklediği makrofaj apoptosisini engelleyebilmektedir.[7]

Aktive mast hücrelerine aterosklerotik plakların rüptüre en yatkın yerleri olan omuz bölgesinde etkilenmemiş koroner intimaya göre 200 kat daha fazla rastlandığı bildirilmiştir.[43] Triptaz ve kimaz gibi proteazlar içeren aktive mast hücreleri, insanlarda aterosklerotik plakların rüptür bölgelerinde gösterilmiştir.[44] Aterosklerotik plakta matriks yıkımı plağın zayıflaması ve rüptüründen sorumludur. Triptaz ve kimaz, mast hücreleri tarafından salınan ve ekstrasellüler matriksin belli bileşenlerini yıkan iki proteolitik enzimdir. Fibronektin triptaz tarafından doz-bağımlı bir şekilde yıkılır. Mast hücre kimaz ve triptazı, matriks metalloproteinaz (MMP) tip 1 ve 3'ü aktive ederek ekstrasellüler matriksin plak kararlılığı için gerekli bir bileşeni olan kollajenin yıkımına neden olur.[9] Triptaz, pro-MMP-3'ü aktive eder, bu da MMP-1'i (pro-kollajenaz) aktive eder; MMP-1'in aktivasyonu bu kaskad sayesinde çok az triptaz gerektirir. Bu mekanizma ile, MH ve mediyatörleri, akut koroner sendromlardan sorumlu olan plak rüptüründe önemli bir rol oynayabilir. Mast hücrelerinin aterosklerotik plakların destabilizasyonunda oynadığı rol, Şekil 3' de betimlenmiştir.



Şekil 3: Mast hücrelerinin plak destabilizasyonundaki rolü

Yakın tarihli bir çalışma, bu konuda önemli kanıtlar ortaya koymuştur. Bu hayvan modelinde, aterojen diyet verilen farelerde intravenöz dinitrofenil albümin (DNP) enjeksiyonu ile mast hücre aktivasyonunun aterosklerotik plak progresyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir.[7] Bu çalışmada karotis arterinin adventisya tabakasındaki mast hücrelerinin aktivasyonunun ilerlemiş aterosklerotik plaklarda makrofaj apoptosisini, mikrovasküler sızıntıyı ve de novo lökosit göçünü arttırdığı bildirilmiştir. Sayılan süreçlerin tamamı plak içi hemoraji ve dolayısıyla plak progresyonu ile ilişkilidir. Mast hücre stabilizatörü kromolin verilen farelerde ise, mast hücre degranülasyonunun, plak içi hemorajinin ve dolayısıyla plak hacmindeki büyümenin (plak progresyonunun) durdurulduğu gösterilmiştir.[7] Bu bulgulara paralel olarak, apolipoprotein E knockout farelerde mast hücre degranülasyonuna yol açan 48-80 bileşiğinin (compound 48-80) aterosklerotik plakların progresyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir.[45] Bu çalışmada, apolipoprotein knockout farelerde karotis artere kelepçe uygulanması yöntemiyle aterosklerotik plak gelişimi tetiklenmiştir. Mast hücre degranülasyonu yapan compound 48-80'in ateroslerotik plak alanını ve lümendeki stenoz derecesini arttırdığı gösterilmiştir.[45] Compound 48-80'in aterosklerotik plakta düz kas hücre proliferasyonunu, makrofaj aggregasyonunu ve plak içi anjiogenezi tetiklediği gözlemlenmiştir. Moleküler düzeyde yapılan incelemelerde, compound 48-80'in aterosklerotik plakta fibroblast growth factor'un hem mRNA ekspresyonunu, hem de protein düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. Compound 48-80'in aynı zamanda plakta interlökin-1ß ekspresyonunu da arttırdığı görülmüştür.[45] Bu bulgulara göre, mast hücre degranülasyonu ile triptaz'ın açığa çıkması, plak progresyonunda rol oynayan pek çok moleküler mekanizmayı aynı anda tetiklemektedir.

Böylelikle, mast hücrelerinden salgılanan triptazın gerek koroner arter hastalığının ilerlemesinde rol oynayan aterom plaklarının

progresyonunda, gerekse de akut koroner sendrom patogenezinde rol oynayan aterosklerotik plak rüptüründe önemli yeri olduğu düşünülmektedir. Bu hipotezi klinik olarak destekleyen az sayıda çalışma vardır. Deliargyris ve arkadaşlarının çalışmasında[46], serum mast hücre triptaz düzeylerinin anjiografik olarak anlamlı (en az bir epikardiyal koroner arterde ≥ %50 darlık) koroner arter hastalığı olan kişilerde, anlamlı koroner arter hastalığı olmayanlara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. Çok değişkenli regresyon analizinde mast hücre triptaz düzeylerinin koroner arter hastalığı için bağımsız öngördürücü olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada koroner arter hastalığının yaygınlığı (diffüz tutulum olup olmadığı) ve lezyon ciddiyet derecesi ile mast hücre triptazı arasında bir korelasyon araştırılmamıştır. Çalışmamızda, bu sorunun cevabının bulunması hedeflenmiştir.

2.5 İLERİ OKSİDASYON PROTEİN ÜRÜNLERİ (AOPP)

Oksidatif ve karbonil stres altında oluşan İleri Oksidasyon Protein Ürünleri (Advanced Oxidation Protein Products: AOPP) son yıllarda oksidatif stresin önemli bir belirteci olarak ön plana çıkmıştır. Ekstrasellüler sıvılar az miktarda anti-oksidan enzim içerdiklerinden plazma proteinleri reaktif oksijen türevleri tarafından oksidasyona açıktır. Bunun sonucu olarak, okside albümin gibi okside protein ürünleri (AOPP)'nin plazmada birikimi ilk olarak hemodiyaliz hastalarında gösterilmiştir.[10] Albüminin oksidasyona duyarlı olduğu iyi bilinmektedir[47]; hemodiyaliz hastalarında[48] ve karaciğer sirozu olan hastalarda[49] albüminin karbonil gruplarının plazma düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Aktive fagositlerin miyeloperoksidaz (MPO) sisteminin açığa çıkardığı hipokloröz asit (HOCl), oksidatif stresle ilişkilidir. MPO düzeyleri, hemodiyaliz hastalarında plazma AOPP düzeyi ile korelasyon gösterir[50] ve AOPP'nin neredeyse yarısı, MPO bağımlı süreçler sonucunda açığa çıkar.[51]

AOPP'nin moleküler yapısı incelendiğinde, albüminin karbonil gruplarının ve ditirozin içeren çapraz-bağlı bileşenlerinin MPO bağımlı HOCl'in etkimesiyle oluştuğu anlaşılmıştır.[48-51]

Serbest oksijen radikallerini in vivo koşullarda doğrudan ölçmek mümkün olmadığından, serbest radikallerin proteinlere etkimesiyle oluşan AOPP oksidatif stresi tayin etmek için kullanılmaktadır. AOPP aynı zamanda, nötrofil, monosit ve T lenfositlerin oksidatif aktivasyonunu da tetikleyen bir inflamatuar mediatördür. Bu inflamatuar aktivasyon, aterosklerotik plakların gerek gelişimi, gerekse de rüptüründe rol oynayabilir. AOPP ve ateroskleroz arasında bir başka olası bağlantı yakınlarda ortaya konulmuştur. HOCl etkisiyle modifiye olan lipoproteinlerin yüksek-yoğunluklu lipoprotein (high-density lipoprotein, HDL) reseptörü olan scavenger receptor class B type I'e (SR-BI) yüksek affinite ile bağlandığı bildirilmiştir.[52] SR-BI'in kardiyovasküler hastalığa

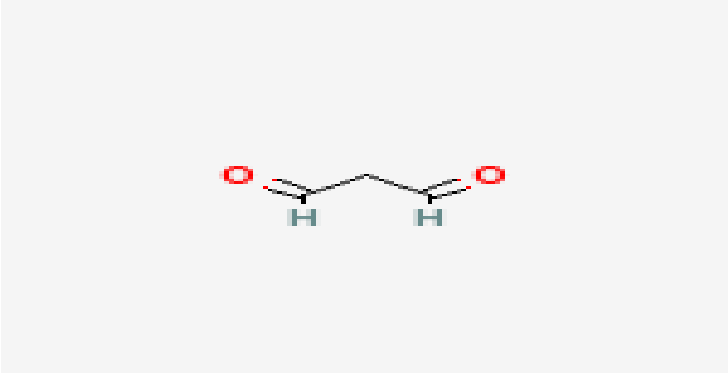
karşı koruyucu özelliği olduğu bilinmektedir[53], bu koruyucu etkiyi SR-BI'in HDL tarafından taşınan kolesterol esterlerini ve trigliseridi uzaklaştırması sağlamaktadır.[54] AOPP'nin SR-BI'i in vitro ve in vivo koşullarda etkin olarak bloke ettiği gösterilmiştir.[55] HDL-kolesterolün plazma klirensinde AOPP'nin yol açtığı azalmanın, HDL kompozisyon ve fonksiyonunun bozulmasına ve kronik böbrek yetmezliğinde görülen artmış kardiyovasküler hastalık insidansına katkıda bulunduğu vurgulanmıştır.[55]

İlk olarak Kaneda ve arkadaşları koroner aterosklerozu olan bireylerde AOPP düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.[11] Skvarilova ve arkadaşları ise[56] AOPP düzeylerinin sağlıklı bireylerde ve stabil efor anginası olanlarda benzer, oysa ST- elevasyonlu miyokard infarktüsü (STEMI) geçiren hastalarda ilk iki gruba göre yüksek olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, akut koroner sendrom tanısında 89 mmol/L eşik değerinin %64 sensitivite ve %71 spesifite ile kullanılabileceğini göstermişlerdir.

2.6 MALONDİALDEHİT

Malonil Dialdehid (MDA) ise, lipid peroksidasyonu belirteci olup, oksidatif stresin başka bir yolağını yansıtmaktadır.[12] Malondialdehit'in moleküler yapısı Şekil 4'de betimlenmiştir. Artmış MDA düzeyleri, muhtemelen LDL partiküllerinin çapını etkileyerek (daha çok küçük yoğun LDL oluşmasını sağlayarak), ateroskleroza katkıda bulunuyor gibi görünmektedir.[57] MDA, lipid peroksidasyonundan bağımsız olarak LDL molekülünün oksidatif modifikasyonuna katkıda bulunuyor gibi görünmektedir.[58]

Koroner ateroskleroz belirteci olan okside LDL'den farklı olarak, MDA tarafından modifiye edilmiş LDL (MDA-modifiye LDL)'nin akut koroner sendrom hastalarında, miyokard nekrozundan bağımsız olarak yüksek saptandığı bildirilmiştir. Bundan dolayı, MDA-modifiye LDL'nin akut koroner sendrom ve plak kararsızlığının belirteci olabileceği düşünülmektedir.[58]



Şekil 4: Malondialdehit'in moleküler yapısı

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta Grubu:

Klinik olarak miyokard iskemisine bağlı olduğu düşünülen semptomları (stabil efor anginası, efor dispnesi gibi angina ekivalanı semptomlar ya da atipik angina) olup, non-invaziv stres testi (treadmill egzersiz testi ya da miyokard perfüzyon sintigrafisi) sonuçlarına göre koroner anjiografi kararı alınan hastalar çalışmanın stabil koroner arter hastalığı grubunu oluşturmuştur. Kararsız angina pektoris (istirahat anginası, kreşendo efor anginası, yeni başlangıçlı efor anginası ya da Prinzmetal angina), ST elevasyonu olmayan MI (NSTEMI) ve ST elevasyonlu MI (STEMI) nedeniyle koroner anjiografi yapılan hastalar ise akut koroner sendrom grubunu oluşturmuştur.

Değerlendirmeye hastaların klinik özellikleri (angina skorları, Duke treadmill skorları, iskemik EKG değişiklikleri ve troponin T düzeyleri, kararsız angina ve NSTEMI için TIMI risk skorları, STEMI için toplam ST segment yüksekliği ve Killip skorları) yanı sıra, koroner anjiografi parametreleri (Gensini skoru, infarkt arterinde TIMI akımı ve TIMI frame count, kulprit lezyonun ACC/AHA sınıfı) alınmıştır. Mast hücre triptazı, AOPP ve MDA düzeylerinin bu parametrelerle olan korelasyonu araştırılmıştır. Lojistik regresyon analizi yapılarak, bu korelasyonların yaş, cinsiyet gibi demografik özelliklerden ve diyabet, hipertansiyon gibi konvansiyonel risk faktörlerinden bağımsız olup olmadığı değerlendirilmiştir.

3.2 Koroner Anjiografi

Yukarıda belirtildiği üzere klinik bulgular ve non-invaziv test bulguları ışığında kardiyoloji uzmanı hekim tarafından koroner anjiografi endikasyonu konulan hastalara standart yöntemle koroner anjiografi yapıldı. İnguinal bölgenin lokal anestezisini takiben modifiye Seldinger yöntemiyle femoral artere girildi. Kılavuz tel üzerinden ilerletilen damar kılıfı (sheath) heparinli salinle yıkandıktan sonra Standard Judkins yöntemiyle koroner anjiografi yapılmıştır. Sol koroner sistem (sol ana koroner arter, sol ön inen arter (Left Anerior Descending; LAD, ve sirkumfleks arter) ve sağ koroner arter Standard pozlarda ve gerekli görülürse ek/modifiye pozlarda görüntülendi. Pigtail kateter ile yapılan sol ventrikülografi ve basınç kaydı ile işlem sonlandırılmıştır.

Elde edilen koroner anjiyografi görüntüleri, hastaların klinik tanılarını ve biyokimyasal inceleme sonuçlarını (mast hücre triptazı, AOPP ve MDA dahil olmak üzere) bilmeyen kardiyoloji uzmanlarınca değerlendirilmiştir. Koroner anjiyografi görüntülerinden yola çıkılarak koroner arter hastalığının yaygınlık ve ciddiyetini belirleyen Gensini skoru hesaplanmıştır. Gensini skoru, koroner arter sistemindeki aterosklerotik plakların yeri (söz konusu koroner arterin gövdesinde ya da yan dallarından birinde olması, koroner arterin proksimal ya da distal bir segmentinde olması) ve lümende oluşturdukları darlığın derecesi (lümen çapının yüzdesi cinsinden) dikkate alınarak hesaplanan bir skordur. Gensini skoru, kantitatif ve objektif bir şekilde koroner arter hastalığının yaygınlık ve ciddiyetini; ya da başka bir deyişle koroner arterlerdeki ‘aterosklerotik plak yükünü’ ortaya koyar.

3.3 Karotis İntima-Media Kalınlığı Ölçümü

Karotis arter intima-media kompleksinin kalınlığının ölçümü, hastaların klinik ve biyokimyasal bulguları hakkında bilgisi olmayan bir radyoloji uzmanı hekim tarafından yapılmıştır. General Electric Vivid 7 ultrason sistemine entegre vasküler probe kullanılarak gerek arteria carotis communis, gerek arteria carotis interna'nın yakın ve uzak duvarlarından alınan örneklemlerle intima-media kompleks (İMK) kalınlıkları milimetre cinsinden hesaplanmış, elde edilen bu dört değerin ortalaması incelenen taraftaki karotis arterinin İMK kalınlığı olarak verilmiştir. Böylelikle, her hasta için biri sağ İMK kalınlığı ve diğeri sol İMK kalınlığı olmak üzere iki değer milimetre cinsinden ifade edilmiştir.

İMK kalınlığı aterosklerotik süreçle ilgili değerli bilgiler veren önemli bir temsilci parametredir. Çalışmalarda İMK kalınlığının aterosklerotik koroner arter hastalığıyla ve miyokard infarktüsü, inme gibi kardiyovasküler olayların göreceli riskiyle güçlü bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.[59] Aterosklerozun farmakolojik yaklaşımlarla geriletilmesini konu alan çalışmalarda da, İMK sıklıkla kullanılan bir temsilci parametredir.

3.4 Serum Total MDA Düzeylerinin Ölçümü

MDA, HPLC'de Pilz ve arkadaşlarının, numunenin oda sıcaklığında 2,4- dinitrofenilhidrazinle (DNPH) türevlendirilmesi ile oluşturulan MDA hidrazonunun kolondan ayrılması esasına dayalı bir yöntemle[12] ölçülmüştür.

3.4.1.Total MDA standartlarının hazırlanışı:

Stok TEP standartı (1mM): 25 µl TEP 100 ml distile su içinde Ara stok standartı (20 nM): 1 ml TEP stok solüsyonu, 50 ml %1 (v/v) sülfirik asit (H2SO4) içinde hidroliz edilip 2 saat oda ısısında, karanlıkta inkübe edildi. Çalışma standartları 20 nmol/ml'lik ara stok standarttan %1 (v/v) H2SO4 ile 10 nM, 5 nM, 2.5 nM, 1.25 nM ve 0,625 nM olacak şekilde dilüe edildi.

3.4.2.Numunelerin hazırlanışı:

Numunelerin hidrolizi için; bir ependorf tüpte 1 ml serum ve 200 µl 6 NaOH eklenerek vortekslendi ve 60^0C'de bir su banyosunda 30 dakika inkübe edildi. Hidroliz olmuş numunelere eşit hacimde asetonitril eklenerek, 30 sn vortekslendi ve proteinler çöktürüldü. Daha sonra numuneler 15.000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Ependorf tüpün üst kısmındaki berrak süpernatant alınarak yeni bir ependorf tüpe aktarıldı.

3.4.3.Derivatizasyon:

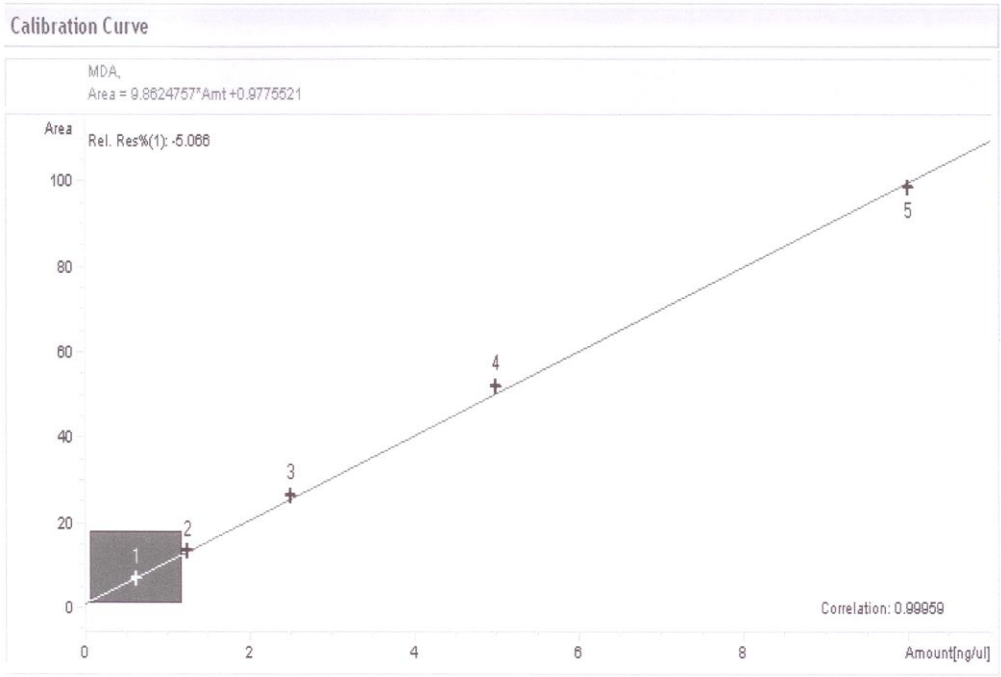
Numunelerden 250 µl alınarak üzerine 25 µl DNPH eklendi ve 10 dakika oda ısısında, karanlıkta türevlendirildi. Türevlendirilen numuneler 0,45 µl'lik filtreden geçirilerek 20 µl HPLC'ye enjekte edildi.

3.4.4. Hesaplama:

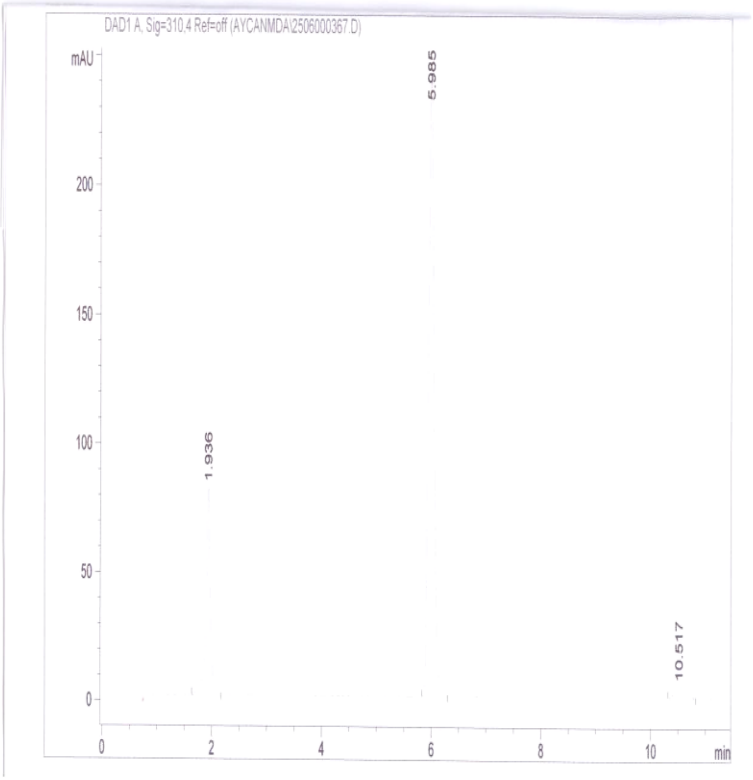
Numunelerdeki total MDA değerleri standart eğri üzerinden hesaplanarak sonuçlar pmol/ml olarak ifade edildi. MDA kalibrasyon eğrisi şekil 5'de,

standart için elde edilen kromotogram şekil 6'da, numune için elde edilen kromotogram şekil 7'de verilmiştir.

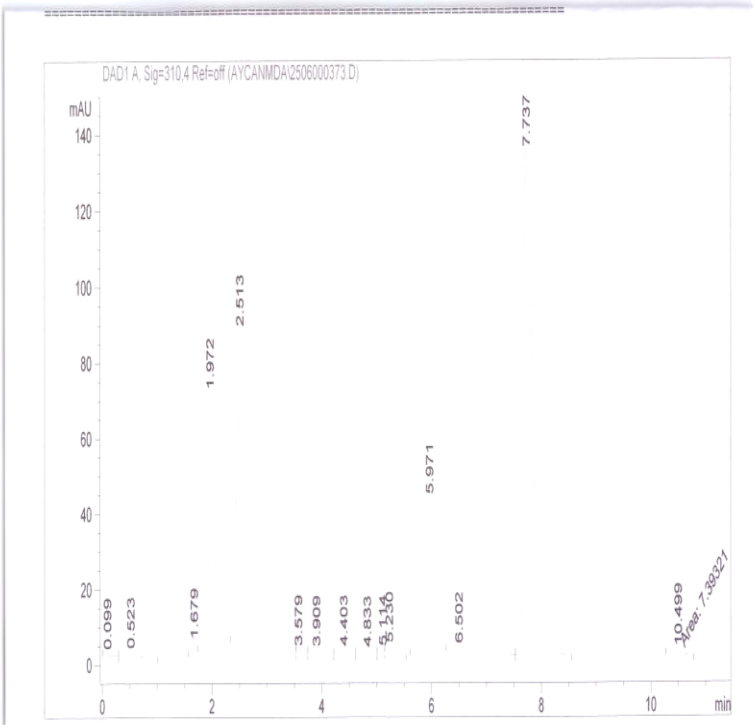
Şekil 5: MDA kalibrasyon eğrisi



Şekil 6: MDA standardı için elde edilen kromotogram



Şekil 7: MDA numunesi için elde edilen kromotogram:



3.5 Serum AOPP Düzeylerinin Ölçümü

Serum AOPP düzeyleri Witko-Sarsat ve arkadaşlarının tanımladığı spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür[10]

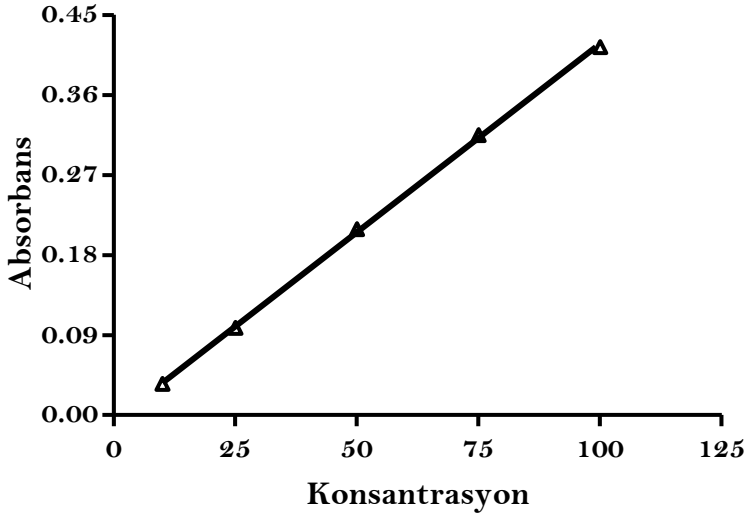
3.5.1 Reaktifler:

- PBS (Phosphate Buffer Solution, fosfat tampon solüsyonu, pH: 7,4)
- 1.16 M KI (Potasyum İyodür)
- Asetik asit % 100
- Kloramin T (0 – 100 µM arasındaki konsantrasyonlarda standart olarak)

3.5.2 Deneyin Yapılısı:

200 µl serum 1:5 oranında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile dilue edildi. Üzerine 10 µl KI ve 20 µl asetik asit eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm absorbansta PBS'ye karsı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. 0 – 100 µM Kloramin T standartları numune gibi çalışıldı (Şekil 8).

Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak µmol / L olarak verilmiştir.



Şekil 8: Kloramin-T standart eğrisi

3.6 Serum Mast Hücre Triptaz Konsantrasyonunun Tayini:

Biyolojik sıvılardaki triptaz düzeyi, mast hücre sayısının ve mast hücre aktivasyonunun güvenilir bir belirtecidir. Bu nedenle, çalışmamızda mast hücre aktivasyonun değerlendirilmesi için serum mast hücre triptaz düzeyleri çalışılmıştır. Mast hücre triptazı enzim konsantrasyonu ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Bu amaçla sandviç enzim immunoassay prensibiyle çalışan bir ticari ELISA kiti kullanılmıştır (USCN Life Science Inc., Wuhan, Çin Halk Cumhuriyeti). Bu ELISA kitinin kuyucukları, önceden mast hücre triptazına spesifik antikorlar ile kaplanmış bulunmaktadır. Numuneler ve standartlar biyotinle konjuge, triptaza spesifik poliklonal antikor preparatı içeren kuyucuklara konuldu. Daha sonra, her kuyucuğa avidinle konjuge horseradish peroksidaz eklenerek inkübe edildi. Ardından, her kuyucuğa TMB substrat solüsyonu eklendi. Sadece triptaz, biyotinle konjuge antikor ve enzimle konjuge avidin içeren kuyucuklarda renk değişikliği meydana geldiği gözlendi. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit solüsyonu eklenerek durdurulduktan sonra, renk değişikliği spektrofotometrik olarak 450±2 nm dalga boyunda ölçüldü. Son olarak, numunelerdeki mast hücre triptazı konsantrasyonu, numuneden okunan spektrofotometrik değerin standart eğriyle karşılaştırılması yoluyla saptandı ve sonuçlar ng/ml cinsinden ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1 Mast Hücre Triptazı, AOPP ve MDA düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı:

İstatiksel değerlendirme amacıyla, koroner anjiografide hesaplanan Gensini skoru 20 veya daha fazla olan bireyler anlamlı koroner arter hastalığı olanlar (hasta grubu), Gensini skoru 20'nin altında olanlar ise anlamlı koroner arter hastalığı olmayanlar (kontrol grubu) olarak sınıflandırılmıştır. Bulgular Tablo 1 ve Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Mast Hücre Triptazı ve MDA düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı

								Mann-Whitney U		
	Gensini	N	Mean	Median	Min	Max	Ss	Sıra ort	U	p
MHT (ng/ml)	Kontrol	84	3,2	2,1	0,3	12,8	3,0	48,7	519,5	0,0001
	Hasta	86	12,9	13,0	0,7	20,4	5,7	121,5		
MDA (pmol/ml)	Kontrol	66	0,6	0,6	0,1	2,5	0,5	66,2	2063,5	0,821
	Hasta	64	0,6	0,5	0,1	1,6	0,4	64,7		

Serum mast hücre triptazı konsantrasyon değerleri ng/ml olarak verilmiştir. Mast hücre triptaz değerleri hasta grubunda anlamlı derecede yüksek görülmektedir ($p<0,05$).

MDA değerleri pmol/ml olarak verilmiştir. MDA değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0,05$).

Tablo 2: AOPP düzeylerinin anlamlı koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerdeki dağılımı

		N	Mean	Median	Minimum	Maximum	ss	p
AOPP (µmol/L)	Kontrol	82	73,0	70,1	17,1	210,6	41,3	0,101
	Hasta	86	64,1	63,4	14,2	208,6	26,7	

AOPP değerleri µmol/L olarak verilmiştir. AOPP değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir (p>0,05).

4.2 Mast Hücre Triptazı ve Gensini Skoru:

Koroner anjiogramlardan hesaplanan ve koroner arter hastalığının yaygınlık ve ciddiyetini gösteren Gensini skoru ile mast hücre triptazı (MHT) arasında pozitif ve istatiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edildi.(p<0,05; r=0,866) MHT değerleri arttıkça Gensini skorları da artmaktadır (Tablo 3).

Tablo 3: Mast Hücre Triptazı ve Gensini Skoru'nun Korelasyonu

		GENSINI
MHT (ng/ml)	R	0,866
	p	0,000

Yaş, cinsiyet gibi demografik özellikler, hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara, dislipidemi gibi risk faktörleri göz önünde bulundurularak yapılan lojistik regresyon analizinden sonra bu korelasyonun güçlenerek devam ettiği görüldü. Yukarıda sayılan kontrol değişkenlerin etkisi

arındırıldıktan sonra MHT ile Gensini skoru arasındaki korelasyon aşağıda görülmektedir (Tablo 4).

Tablo 4: Kontrol Değişkenlerin MHT- Gensini Korelasyonuna Etkisi

Kontrol değişkenler			GENSINI
	MHT	r	0,873
		p	0,000
		sd	159

Kontrol değişkenlerin etkisi arındırıldıktan sonra MHT ile Gensini skoru arasındaki korelasyon 0,873 olarak hesaplanmış olup, etki arındırmasından sonra korelasyonun bir miktar kuvvetlendiği gözlenmiştir.

MHT düzeyine göre oluşturulan kuartil grupları arasında Gensini skorları açısından anlamlı farklılık görülmektedir. ($p<0,05$) . En üst MHT düzeyi kuartilinde (%75 grubunda) Gensini skorları diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek görülmektedir (Tablo 5).

Tablo 5: MHT Kuartillerine Göre Gensini Skorunun Dağılımı

MHT Kuartil	N	Mean	Median	Minimum	Maksimum	SS	Ki-Kare	P	İkili Karşılaştırma
%25	42	5,8	1,8	0,0	24,0	7,3	94,9	0,0001	3-1 3-2
%50	42	12,2	10,0	0,0	42,0	11,3			
%75	86	49,9	48,0	0,0	120,0	26,6			

4.3 Mast hücre triptazı ve Karotis İntima Media Kompleks Kalınlığı

MHT ile sağ ve sol karotis arterlerdeki İntima-Media Kompleks Kalınlığı (Sağ IMK ve Sol IMK) arasında anlamlı pozitif korelasyon görülmektedir ($p<0,05$).

MHT değerleri arttıkça Sağ ve Sol IMK değerleri de artmaktadır (Tablo 6). MHT değerleri ng/ml olarak verilmiştir.

Tablo 6: Mast Hücre Triptazı Ve Karotis İntima Media Kompleks Kalınlığı

		Sağ karotis IMK (mm)	Sol karotis IMK (mm)
MHT (ng/ml)	R	0,852	0,848
	P	0,000	0,000
	N	168	167

Tablo 7: Kontrol Değişkenlerin MHT – IMK Korelasyonuna Etkisi

Kontrol Değişkenler			Sağ karotis IMK	Sol karotis IMK
	MHT (ng/ml)	R	0,851	0,852
		P	0,000	0,000
		Sd	157	156

Kontrol değişkenlerin (cinsiyet, yaş, diyabet, hipertansiyon, sigara, serum lipidleri) etkisi arındırıldıktan sonra MHT ile sağ ve sol IMK arasındaki ilişki anlamlılığını korumaktadır (Tablo 7).

4.4 AOPP değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi

Tablo 8: AOPP değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi

		GENSINI	Sağ karotis arterdeki IMK (mm)	Sol karotis arterdeki IMK (mm)
AOPP (µmol/L)	r	-0,043	-0,039	-0,055
	p	0,584	0,617	0,487
	N	168	166	165

AOPP değerleri ile Gensini skoru ve Sağ-Sol karotis IMK arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir (p>0,05) (Tablo 8). AOPP değerleri µmol/L olarak verilmiştir.

4.5 MDA değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi

Tablo 9: MDA değerlerinin Gensini skoru ve İMK ile ilişkisi

		GENSINI	Sağ karotis arterdeki IMK (mm)	Sol karotis arterdeki IMK (mm)
MDA (pmol/ml)	R	0,036	-0,041	-0,028
	P	0,680	0,647	0,752
	N	130	128	127

MDA değerleri ile Gensini skoru ve Sağ-Sol karotis IMK arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir (p>0,05) (Tablo 9). MDA değerleri pmol/ml olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Ateroskleroz, düz kas proliferasyonu ve migrasyonu, kolesterol depolanması, mononükleer hücrelerin infiltrasyonu ve ekstraselüler matriks üretimi ile karakterize bir hastalıktır. Mast hücreleri (MH) aterosklerotik plaklar içindeki inflamatuar yanıtın bir parçası olarak ortaya konmuştur. Yogunlukları aterosklerotik plakların özellikle koroner ateromun omuz bölgesinde belirgin şekilde yüksektir.[43] Aterosklerotik plakta matriks yıkımı plağın zayıflaması ve rüptüründen sorumludur.

Triptaz ve kimaz, MH tarafından salınan ve peri-selüler matriksin belli bileşenlerini doğrudan yıkan iki proteolitik enzimdir. Örnegin, fibronektin triptaz tarafından doz-bağımlı bir şekilde yıkılır. Mast hücre kimaz ve triptazı , matriks metalloproteinazı (MMP) tip 1 ve 3 ü aktive ederek ekstrasellüler matriks komponenti olan ve plak kararlılığı için gerekli olan kollajenin yıkımına neden olur.[9] Triptaz, pro-MMP-3 ü aktive eder bu da sırayla MMP-1'i (pro-kollajenaz) aktive eder; MMP-1'in aktivasyonu bu kaskad sayesinde çok az triptaz gerektirmiş olur.[9] Bu mekanizma sayesinde, MH ve medyatörleri, akut koroner sendromlardaki kararsız plak rüptüründe önemli bir rol oynayabilir. Plak rüptüründeki rolüne ek olarak, aterosklerotik plaklardaki kronik mast hücre aktivasyonunun, yükselmiş serum triptaz seviyelerine neden olacağı da düşünülebilir.

Triptaz ve kimaz gibi proteazlar içeren aktive mast hücreleri, insanlarda aterosklerotik plakların rüptür bölgelerinde gösterilmiştir.[8] Mast hücrelerinin birikiminin mi plak rüptürünü tetiklediği, yoksa plak rüptürü olan bölgeye mast hücrelerinin kemotaktik faktörler tarafından çekilip sekonder olarak bu bölgede yoğunlaştıkları sorusuna yakın tarihli bazı çalışmalarda yanıt aranmıştır.

Bot ve arkadaşlarının bulguları[7], bu konuda önemli kanıtlar ortaya koymuştur. Bu hayvan modelinde, aterojen diyet verilen farelerde intravenöz dinitrofenil albümin (DNP) enjeksiyonu ile mast hücre aktivasyonunun aterosklerotik plak progresyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada karotis arterinin adventisya tabakasındaki mast hücrelerinin aktivasyonunun ilerlemiş aterosklerotik plaklarda makrofaj apoptosisini, mikrovasküler sızıntıyı ve de novo lökosit göçünü arttırdığı bildirilmiştir. Sayılan süreçlerin tamamı plak içi hemoraji ve dolayısıyla plak progresyonu ile ilişkilidir. Mast hücre stabilizatörü kromolin verilen farelerde ise, mast hücre degranülasyonunun, plak içi hemorajinin ve dolayısıyla plak hacmindeki büyümenin (plak progresyonunun) durdurulduğu gösterilmiştir.[7] Bu çalışmanın bulguları ile bizim elde ettiğimiz bulgular örtüşmektedir. Çalışmamızda mast hücre triptaz düzeyleri ile Gensini skoru arasında istatiksel olarak anlamlı bir pozitif korelasyon saptanmıştır. Gensini skoru, koroner arter sistemindeki aterosklerotik plakların yeri (söz konusu koroner arterin gövdesinde ya da yan dallarından birinde olması, koroner arterin proksimal ya da distal bir segmentinde olması) ve lümende oluşturdukları darlığın derecesi (lümen çapının yüzdesi cinsinden) dikkate alınarak hesaplanan bir skordur. Dolayısıyla Gensini skoru, koroner arterlerdeki aterosklerotik plak yükünü göstermektedir. Doğal olarak, plak progresyonuna yol açan her faktörün, Gensini skorunu da arttırması beklenir. Bot ve arkadaşlarının bildirdiği üzere, mast hücre aktivasyonu ve triptaz salınımı, aterosklerotik plaklarda makrofaj apoptosisini ve plak içi hemorajiyi arttırmaktadır. Plak içi hemoraji, potent bir pro-aterojen uyarı olup, aterosklerotik plağın nekrotik çekirdeğinin büyümesine yol açmasından dolayı plak destabilizasyonu için de majör bir risk faktörüdür.[34] Plak içinde biriken eritrositlerin aktive makrofajlar tarafından fagosite edilmesi seroid üretimine ve plağın daha çok büyümesine yol açmaktadır. Böylelikle, mast hücre triptazı, plak içi hemorajiyi arttırarak plak büyümesine yol açmaktadır ki bu durum, hasta

grubumuzda serum mast hücre triptaz düzeyleri ile Gensini skoru arasında saptanan anlamlı pozitif korelasyonu açıklamaktadır.

Benzer şekilde, çalışmamızda mast hücre triptaz düzeyleri ile karotis intima media kompleks kalınlığı (İMK) arasında istatiksel olarak anlamlı bir pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgular da, literatürde bildirilen bulgularla[7] uyumludur, mast hücre aktivasyonunun indüklediği vasküler düz kas ve makrofaj apoptosisinin plak destabilizasyonu ve plak içi hemorajiye yol açarak plağın büyümesine (progresyonuna) neden olduğu bilinmektedir. Öte yandan, mast hücre triptazı, matriks metalloproteinazları aktive ederek plak kararlılığı için gerekli bir bileşen olan kollajenin yıkımına yol açmaktadır.[9] Bunun sonucu plak destabilizasyonu, plak içi hemoraji ve plak progresyonundan, plak rüptürüne uzanan bir spektrumda olabilir. Aterosklerotik plak yükünün güvenilir bir temsilcisi olan karotis intima media kompleks kalınlığı, non-invaziv değerlendirmeye olanak sağlaması nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir.[59] Çalışmamızda aterosklerotik plak yükünün belirteci olarak kullanılan intima media kompleks kalınlığı ile mast hücre triptazının anlamlı bir pozitif korelasyon göstermesi, mast hücre triptazının aterosklerotik sürecin ilerlemesine katkıda bulunduğu hipotezini desteklemektedir.

Bu bulgulara paralel olarak, apolipoprotein E knockout farelerde mast hücre degranülasyonunun aterosklerotik plakların progresyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir.[45] Mast hücre degranülasyonu yapan compound 48-80'in ateroslerotik plak alanını ve lümendeki stenoz derecesini arttırdığı gösterilmiştir. Compound 48-80'in aterosklerotik plakta düz kas hücre proliferasyonunu, makrofaj aggregasyonunu ve plak içi anjiogenezi tetiklediği gözlemlenmiştir. Moleküler düzeyde yapılan incelemelerde, compound 48-80'in aterosklerotik plakta fibroblast growth factor'un hem

mRNA ekspresyonunu, hem de protein düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. Compound 48-80'in aynı zamanda plakta interlökin-1ß ekspresyonunu da arttırdığı görülmüştür.[45] Böylelikle, mast hücre degranülasyonu ile triptaz'ın açığa çıkması, plak progresyonunda rol oynayan pek çok moleküler mekanizmayı aynı anda tetiklemektedir. Tüm bu bulgular, hasta grubumuzda serum mast hücre triptaz düzeyleri ile Gensini skoru arasında izlenen anlamlı pozitif korelasyonun moleküler mekanizmaları hakkında fikir vermekte ve bulgularımızı desteklemektedir.

Böylelikle, mast hücrelerinden salgılanan triptazın gerek koroner arter hastalığının ilerlemesinde rol oynayan aterom plaklarının progresyonunda, gerekse de akut koroner sendrom patogenezinde rol oynayan aterosklerotik plak rüptüründe önemli yeri olduğu düşünülmektedir.

Oksidatif ve karbonil stres altında oluşan İleri Oksidasyon Protein Ürünleri (AOPP) son yıllarda oksidatif stresin önemli bir belirteci olarak ön plana çıkmıştır. Serbest oksijen radikallerini in vivo koşullarda doğrudan ölçmek mümkün olmadığından, serbest radikallerin proteinlere etkimesiyle oluşan AOPP oksidatif stresi tayin etmek için kullanılmaktadır. AOPP aynı zamanda, nötrofil, monosit ve T lenfositlerin oksidatif aktivasyonunu da tetikleyen bir inflamatuar mediatördür. Bu inflamatuar aktivasyon, aterosklerotik plakların gerek gelişimi, gerekse de rüptüründe rol oynayabilir. İlk olarak Kaneda ve arkadaşları koroner aterosklerozu olan bireylerde AOPP düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.[11] Skvarilova ve arkadaşları ise AOPP düzeylerinin sağlıklı bireylerde ve stabil efor anginası olanlarda benzer, oysa ST- elevasyonlu miyokard infarktüsü (STEMI) geçiren hastalarda ilk iki gruba göre yüksek olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, akut

koroner sendrom tanısında 89 mmol/L eşik değerinin %64 sensitivite ve %71 spesifite ile kullanılabilecegini göstermişlerdir.[56]

Malondialdehit (MDA) ise, lipid peroksidasyonu belirteci olup, oksidatif stresin başka bir yolağını yansıtmaktadır.[12] MDA'in LDL molekülünün modifikasyonunda önemli rol oynadığı ve LDL partikül çapının küçülmesine yol açtığı bilinmektedir.[57]

Çalışmamızda AOPP ve MDA düzeyleri ile Gensini skoru ve karotis İMK kalınlığı arasında korelasyon saptanmamıştır. Bu bulgu, diğer etkenlerle karşılaştırıldığında oksidatif stresin aterosklerotik süreç üzerinde daha dolaylı ve zayıf bir etkisi olduğu şeklinde yorumlanabilir. Bir başka açıklama, Skvarilova ve arkadaşlarının çalışmasında[56] bildirildiği üzere, AOPP düzeylerinin stabil koroner arter hastalığı olanlarda, koroner arter hastalığı olmayan sağlıklı bireylerdekine benzer olmasıdır. Bu çalışmada, sadece akut koroner sendrom hastalarında anlamlı bir AOPP yüksekliği saptanmıştır. Dolayısıyla, ciddi koroner arter hastalığı bulunsa bile, plak rüptürü ve akut koroner sendrom olmadıkça AOPP düzeyleri anlamlı derecede yükselmeyebilir. Bu durum, çalışmamızda AOPP düzeyleri ile Gensini skorları ve karotis intima media kompleks kalınlığı arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamış olmasını açıklayabilir.

MDA düzeyleri de oksidatif stresin bir başka yolağını temsil etmekte ve genellikle AOPP düzeyleri ile paralel seyretmektedir. Böylelikle, MDA düzeylerinin Gensini skoru ve karotis intima media kompleks kalınlığı ile korelasyon göstermemesi de, benzer şekilde açıklanabilir. Diğer yandan, MDA'in LDL molekülünü lipid peroksidasyonundan bağımsız olarak modifiye ettiğini bilmekteyiz.[58] MDA etkisiyle oluşan MDA-modifiye LDL, okside LDL'nin aksine, akut koroner sendrom ve plak kararsızlığının bir belirtecidir.[58] Bu bulgular, MDA'in daha çok akut koroner sendrom

etyopatogenezinde devreye girdiğini düşündürmektedir; ciddi düzeyde ancak kararlı koroner arter hastalığı olan bireylerde MDA düzeyleri yükselmeyebilir. Bu şekilde, çalışmamızda koroner arter hastalığının ciddiyetini gösteren Gensini skoru ve aterosklerotik plak yükünü gösteren karotis İMK ile MDA düzeyi arasında bir korelasyon bulunmamış olması izah edilebilir.

6.SONUÇ

Sonuç olarak bulgularımız, mast hücre triptazının koroner arter hastalığı ve aterosklerozun yaygınlık düzeyi ve ciddiyet derecesini öngörmede yararlı bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Bu korelasyonun, yaş, cinsiyet, diabetes mellitus, hipertansiyon, sigara kullanımı gibi geleneksel risk faktörlerinin etkileri lojistik regresyon analizi ile arındırıldıktan sonra güçlenerek devam etmesi, mast hücre aktivitesinin ve mast hücre triptazının aterosklerotik süreçte doğrudan ve önemli bir rol oynadığı hipotezini desteklemektedir. Bulgularımız, bu konudaki daha önceki literatür bilgileri ile örtüşmektedir. Mast hücre triptaz düzeylerinin koroner arter hastalığı olan bireylerde, olmayanlara göre daha yüksek olduğu daha önce bildirilmiştir.[46] Yeni bir bulgu olarak, mast hücre triptaz düzeyleri ile, koroner arter hastalığının ve karotis arter aterosklerozunun kantitatif olarak değerlendirilen ciddiyet dereceleri (sırasıyla Gensini skoru ve intima media kompleks kalınlığı) arasında doğrudan, bağımsız, anlamlı ve güçlü bir ilişki olduğunu göstermiş bulunuyoruz.

Öte yandan oksidatif stres belirteçleri olan ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) ve MDA düzeyleri ile koroner ve karotis aterosklerozu arasında benzer bir ilişki saptanmamıştır. Bu durum, plak rüptürü olmadığı koşullarda, ciddi aterosklerotik hastalık olsa bile, AOPP ve MDA düzeylerinde anlamlı artış olmaması gerçeğiyle açıklanabilir.[56,58]

Hayvan modellerinde mast hücre stabilizatörü olan kromolin ile mast hücrelerinin degranülasyonu önlendiğinde aterosklerotik sürecin ilerlemesi durdurulabilmektedir.[7] Çalışmamızda mast hücre triptazı ile aterosklerotik sürecin ciddiyeti arasında anlamlı ve diğer risk faktörlerinden bağımsız bir ilişki saptanmış olması, insanlarda da aterosklerozu yavaşlatmak ve ilerlemesini durdurmak amacıyla mast

hücrelerinin ve mast hücre triptazının bir terapötik hedef olarak düşünülmesi konusunda cesaret vericidir.

7. ÖZET

Mast hücre triptazı, koroner aterom plaklarının omuz bölgelerinde yoğunlaşan mast hücrelerinden salınır. Plak rüptürlerinin en çok bu bölgede olduğu için, triptaz ile rüptür arasındaki ilişki ilgi konusu olmuştur. Triptazın, matriks metalloproteinazları aktive ederek plak rüptürünü hızlandırdığı savlanmıştır. Triptaz aynı zamanda oksidatif stresle de ilişkili görünmektedir. Bu çalışmada, mast hücre triptazı ve oksidatif stres parametrelerinin koroner arter hastalığının klinik ve anjiografik bulguları ile ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu çalışmada mast hücre triptazı, koroner arter hastalığının ciddiyetini gösteren Gensini skoru ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir pozitif korelasyon göstermiştir. Bu korelasyon, yaş, cinsiyet, diyabetes mellitus, hipertansiyon, sigara, serum lipid düzeyleri gibi geleneksel risk faktörlerine göre yapılan düzeltmeden sonra da anlamlılığını korumuştur. Öte yandan AOPP ve MDA ile Gensini skoru arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmamıştır. Destekleyici bir ek bulgu olarak, ateroskleroz ciddiyetinin bir temsilci belirteci olan karotis intima media kalınlığı ile mast hücre triptazı düzeyleri arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Bulgular, mast hücre triptazının koroner arter hastalığı ve aterosklerozun ciddiyet düzeyini öngörmede yararlı bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mast Hücre Triptazı, AOPP, MDA, Ateroskleroz, Gensini Skoru

8. SUMMARY

Mast cell tryptase is secreted from mast cells that are concentrated in the shoulder regions of atheromas. The fact that rupture usually takes place in this particular region, the link between tryptase and rupture has been of interest. It has been hypothesized that tryptase may activate matrix metalloproteinases, thus promoting plaque rupture. It is well known that micro ruptures within the atheroscleroic plaques lead to plaque expansion and plaque growth.

Thus, we hypothesized that mast cell tryptase may be associated to severity of coronary artery disease. The aim of this study was to investigate the relationship of mast cell tryptase and oxidative stress parameters to clinical and angiographic findings and stage of coronary artery disease.

We found a statistically significant positive correlation between mast cell tryptase levels and Gensini score which is a surrogate od severity of coronary artery disease, This correlation remained significant after adjustment for traditional risk factors such as age, gender, diabetes mellitus, hypertension, smoking status, and serum lipid levels. On the other hand, serum AOPP and MDA concentrations, which are markers of oxidative stress, were not correlated to Gensini score. As an additional finding, mast cell tryptase levels were siginificantly and positively correlated to carotid intima media thickness. These findings suggest that mast cell tryptase may be an independent marker of coronary artery disease and atherosclerosis.

Keywords: Mast cell tryptase, AOPP, MDA, Atherosclerosis, Gensini score

9. KAYNAKLAR

1. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. Circulation. 2001;104:365-372.

2. Buja LM, Willerson JT. Role of inflammation in coronary plaque disruption. Circulation. 1994;89:503-505.

3. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature. 2002;420:868-874.

4. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, Piek JJ, Koch KT, Becker AE, Kovanen PT. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications in plaque rupture. J Am Coll Cardiol. 1998;32:606-612.

5. Schwartz LB. Clinical utility of tryptase levels in systemic mastocytosis and associated hematologic disorders. Leukaemia Research. 2001;25:553-562.

6. He S, Gaca MDA, Walls AF. A role for tryptase in the activation of human mast cells: modulation of histamine release by tryptase and inhibitors of tryptase. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1998;286:289-297.

7. Bot I, De Jager SCA, Zernecke A, Lindstedt KA, van Berkel TJC, Weber C, Biessen EAL. Perivascular mast cells promote atherogenesis and induce plaque destabilization in apolipoprotein E-deficient mice. Circulation. 2007;115:2516-2525.

8. Laine P, Kaartinen M, Pentilla A, Panula P, Paavonen T, Kovanen PT. Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct-related coronary artery. Circulation. 1999;99:361-369.

9. Johnson JL, Jackson CL, Angelini GD, George SJ. Activation of matrix-degrading metalloproteinases by mast cell proteases in atherosclerotic plaques. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1998;18:1707-1715.

10. Witko-Sarsat, V, Friedlander M, Capeille`re-Blandin C, Nguyen-Khoa T,Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. Kidney Int. 1996;49:1304-1313.

11. Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased level of advanced oxidation protein products in patients with coronary artery disease. Atherosclerosis. 2002;162(1):221-225.

12. Pilz, J, Meineke, I., Gleiter, C.H.: Measurement of Free and Bound Malondialdehyde in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography as The 2,4-Dinitrophenylhydrazine Derivative, J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 742(2), 315-325.(2000)

13. Corti R, Farkouh ME, Badimon JJ. The vulnerable plaques and acute coronary syndromes. Am J Med. 2002; 113(8): 668-680.

14. Schwartz LB. Effector cells of anaphylaxis: mast cells and basophils. Novartis Found Symp 2004;257:65-74.

15. Krishnaswamy G, Kelley J, Johson D. The human mast cell: functions in physiology and disease. Frontiers in Bioscience. 2001;6:D1109-1127.

16. Payne V, Kam P.C.A. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. Anaesthesia. 2004;59:695-703.

17. Cote CH, Tremblay MH, Duchesne E, Lapoite BM. Inflammation-induced leukocyte accumulation in injured skeletal muscle: role of mast cells. Muscle Nerve 2008; 37: 754-763.

18. Dileepan KN, Stechschulte DJ. Endothelial cell activation by mast cell mediators. Methods Mol Biol 2006;315:275-294.

19. Ren S, Sakai K, Schwartz LB. Regulation of human mast cell β-tryptase: Conversion of inactive monomer to active tetramer at acid pH. Journal of Immunology. 1998;160:4561-4569.

20. Sakai K, Ren S, Schwartz LB. A novel heparin-dependent processing pathway for human tryptase: autocatalysis followed by activation with dipeptidyl peptidase I. Journal of Clinical Investigation. 1996;97:988-995.

21. Fajardo I, Pejler G. Formation of active monomers from tetrameric human β-tryptase. Biochemical Journal. 2003;369:603-610.

22. Alter SC, Kramps JA, Janoff A, Schwartz LB. Interactions of human mast cell tryptase with biological protease inhibitors. Archives of Biochemistry Biophysics. 1990;276:26-31.

23. Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase is a mitogen for epithelial cells: stimulation of IL-8 production and intercellular adhesion molecule-1 expression. Journal of Immunology 1996;156:275-283.

24. Compton SJ, Cairns JA, Holgate ST, Walls AF. The role of mast cell tryptase inregulating endothelial cell proliferation, cytokine release, , and adhesion molecule expression: tryptase induces expression of mRNA for IL-1β and IL-8 and stimulates the selective release of IL-8 from human umbilical vein endothelial cells. Journal of Immunology. 1998;161:1939-1946.

25. Kawabata A, Kuroda R. Protease-Activated Receptor (PAR), a novel family of G-protein-coupled seven transmembrane domain receptors: activation mechanisms and physiological roles. Japanese Journal of Pharmacology 2000;82:171-174.

26. Lan RS, Stewart GA, Henry PJ. Role of protease-activated receptors in airway function: a target for therapeutic intervention? Pharmacology and Therapeutics. 2002;95:239-257.

27. Kelly JL, Chi DS, Abou-Auda W, Smith JK, Krishnaswamy G. The molecular role of mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease. Mol Med Today. 2000;6:304-308.

28. Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldeston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. Mast cells as 'tunable' effector and immunoregulatory cells: recent advances. Annu Rev Immunol. 2005;23:749-786.

29. Kelley JL, Chi DS, Abou-Auda W, Smith JK, Krishnaswamy G. The molecular role of mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease. Mol Med Today. 2000;6(8): 304-308.

30. Kaartinen M, Pentilla A, Kovanen PT. Mast cells in rupture-prone areas of human coronary atheromas produce and store TNFα. Circulation. 1996;94:2787-2792.

31. Lindstedt KA, Kovanen PT. Mast cells in vulnerable coronary plaques: potential mechanisms linking mast cell activation to plaque erosion and rupture. Curr Opin Lipidol. 2004;15:567-573.

32. Laine P, Naukkarinen A, Heikkila L, Pentilla A, Kovanen PT. Adventitial mast cells connct with sensory nevre fibers in atherosclerotic coronary segments. Circulation. 200;101:1665-1669.

33. Chaldakov GN, Stankulov IS, Fiore M, Ghenev PI, Aloe L. Nerve growth factor levels and mast cell distribution in human coronary atherosclerosis. Atherosclerosis. 2001;159:57-66.

34. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. N Engl J Med. 2003;349:2316-2325.

35. Kockx MM, Cromheeke KM, Knaapen MW, Bosmans JM, De Meyer GR, Herman AG, Bult H. Phagocytosis and macrophage activation

associated with hemorrhagic microvessels in human atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003;23:440-446.

36. Hara M, Matsumori A, Ono K, Kido H, Hwang MW, Miyamoto T, et al. Mast cells cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro. Circulation 1999;100:1443-1449.

37. Leskinen MJ, Wang Y, Leszczynski D, Lindstedt KA, Kovanen PT. Mast cell chymase induces apoptosis of vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21:516-522.

38. Leskinen MJ, Heikkila HM, Speer MY, Hakala JK, Laine M, Kovanen PT, Lindstedt KA. Mast cell chymase induces smooth muscle cell apoptosis by disrupting NF-kappaB-mediated survival signaling. Exp Cell Res. 2006;312:1289-1298.

39. Latti S, Leskinen M, Shiota N, Wang Y, Kovanen PT, Lindstedt KA. Mast cell mediated apoptosis of endothelial cells in vitro: a paracrine mechanism involving TNF-alpha-mediated down-regulation of bcl-2 expression. J Cell Physiol. 2003;195:130-138.

40. Hur J, Kang MK, Park JY, Lee SY, Bae YS, Lee SH, et al. Pro-apoptotic effect of high concentrations of histamine on human neutrophils. Int Immunopharmacol. 2003;3:1491-1502.

41. von der Thüsen JH, van Blijmen BJ, Hoeben RC, Kockx MM, Havekes LM, van Berkel TJC. Biessen EAL. Induction of atherosclerotic plaque rupture in apolipoprotein $E^{-/-}$ mice after adenovirus mediated transfer of p53. Circulation. 2002;105:2064-2070.

42. Bennett MR, Apoptosis in the cardiovascular system. Heart. 2002;87:480-487.

43. Kaartinen M, Pentilla A, Kovanen PT. Accumulation of activated mast cells in the shoulder region of human coronary atheroma, the predilection site of atheromatous rupture. Circulation. 1994;90:1669-1678.

44. Kovanen PT, Kaartinen M, Paavonen T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. Circulation 1995;92:1084-1088.

45. Tang YL, Yang YZ, Wang S, Huang T, Tang CK, Xu ZX, Sun YH. Mastcell degranulator compound 48-80 promotes atherosclerotic plaque in apolipoprotein E knockout mice with perivascular common carotid collar placement. Chin Med J. 2009;122(3):319-325.

46. Deliargyris EN, Upadhya B, Sane DC, Dehmer GJ, Pye J, Smith SC et al. Mast Cell Tryptase: a new biomarker in patients with stable coronary artery disease. Atherosclerosis. 2005;178:381-386.

47. Himmelfarb J, McMonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. Kidney Int. 2001;60:358-363.

48. Capeille`re-Blandin C, Gausson V, Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric siginificance of advanced oxidation protein products. Biochim Biophys Acta. 2004;1689:91-102.

49. Oettl K, Stadlbauer V, Petter F, Greilberger J, Putz-Bankuti C, Hallström S, et al. Oxidative damage of albumin in advanced liver disease. Biochim Biophys Acta. 2008;1782:469-473.

50. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, Touam M, Drueke T, Santangelo F, Descamps-Latscha B. AOPP induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. Kidney Int. 2003;64:82-91.

51. Capeille`re-Blandin C, Gausson V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B, Drueke T, Witko-Sarsat V. Respective role uremic toxins and myeloperoxidase in the uremic state. Nephrol Dial Transplant. 2006;21:1555-1563.
52. Marsche G, Hammer A, Oskolkova O, Kozarsky KF, Sattler W, Malle E. Hypochlorite modified high density lipoprotein, a high affinity ligand to scavenger receptor class B, type I, impairs high density lipoprotein – dependent selective lipid uptake and reverse cholesterol transport. J Biol Chem. 2002;277:32172-32179.
53. Rigotti A, Miettinen HE, Krieger M. The role of the high density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues. Endocr Rev. 2003;24:357-387.
54. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. Science. 1996;271:518-520.
55. Marsche G, Frank S, Hrzenjak A, Holzer M, Dirnberger S, Wadsack C, et al. Plasma Advanced Oxidation Protein Products are potent High-Density Lipoprotein receptor antagonists in vivo. Circ Res. 2009;104:750-757.
56. Skvarilova M, Bulava A, Stejskal D, Adamovska S,, Bartek J. Increased level of advanced oxidation protein products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2005;149(1):83-87
57. Tanaga K, Bujo H, Inoue M, Mikami K, Kotani K, Takahashi K, et al. Increased circulating malondialdehyde-modifed LDL levels in patients with coronary artery diseases and their association with peak sizes of LDL particles. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002;22(4):662-666.

58. Holvoet P. Endothelial dysfunction, oxidation of low-density lipoprotein, and cardiovascular disease. Ther Apher. 1999;3(4):287-293.

59. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults: Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Engl J Med. 1999;340(1):14-22.

10. ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Aycan Fahri Erkan

Ünvanı : Kardiyoloji Uzmanı, Yardımcı Doçent, FESC (Fellow of the European Society of Cardiology)

Doğum tarihi ve yeri: : 26 Mayıs 1974 Ankara

Medeni hali : Evli

Elektronik posta adresi : aycanfahri@gmail.com

GSM :0 532 583 03 77

EĞİTİM:

Yıl : 1985-1992

Kurum : Ankara Atatürk Anadolu Lisesi

Eğitim düzeyi : Lise Mezunu

Yıl : 1992-1998

Kurum : Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Lisans : Tıp Doktoru

Yıl : 1998- 2004

Kurum : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bölüm : Kardiyoloji ABD

Görevi :Araştırma Görevlisi, özellikle kardiyovasküler hastalıkların çeşitli gen polimorfizmleri ile ilişkileri konusunda çalışmalar yürüttüm.

Eğitim düzeyi : Kardiyoloji Uzmanı (24 Şubat 2004)

Yıl : 2004 -

Kurum : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bölüm : Tıbbi Biyokimya A.D.

Eğitim düzeyi : Doktora Öğrencisi

Yıl : 2004-2005

Kurum : Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bölüm : Kardiyoloji A.D.

Eğitim düzeyi : Klinik kardiyak elektrofizyoloji sertifikası

YABANCI DİL : Çok iyi düzeyde İngilizce (ÜDS puanı:97.5 , KPDS puanı: 97)

DENEYİMLER

Yıl : 2003 -2004

Kurum : Türk Sağlık Eğitim Vakfı Netcare Tıp Merkezi

Bölüm : Kardiyoloji Departmanı

Görev : Kardiyoloji Uzmanı

Yıl : 2004 -

Kurum : Ankara Özel Güven Hastanesi

Bölüm : Kardiyoloji Departmanı

Görev :Kardiyoloji Uzmanı olarak özellikle elektrofizyoloji ve aritmi konularında çalıştım. Hastanede elektrofizyoloji sisteminin kurulması sürecinde görev aldım, daha sonra diagnostik elektrofizyolojik çalışmaları ve ablasyon işlemlerini gerçekleştirdim. Ayrıca Hasta ve Yakınları'nın Eğitimi Komitesi'nin başkanlığını yaptım.

ÜYE OLDUĞU DERNEKLER

Türk Kardiyoloji Derneği

Klinik Vasküler Biyoloji Derneği

American Heart Association

American Stroke Asoociation

European Society of Cardiology (Fellow of the ESC)

YAYINLAR:

A. TEZ:

Akut ST Segment Yükselmeli Miyokard İnfarktüsünde Tek Başına t-PA Tedavisi İle t-PA Tedavisine Ek Olarak Verilen Düşük Doz Tirofiban Tedavisinin Etkinlik Ve Güvenilirlik Açısından Karşılaştırılması (2004)

B. ULUSLAR ARASI MAKALELER:

1. Lack of association between matrix metalloproteinase-9 and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and coronary artery disease in Turkish population.

   Alp E, Menevse S, Tulmac M, Kan D, Yalcin R, **Erkan AF**, Cengel A.

   DNA Cell Biol. 2009 Jul;28(7):343-50.

2. Advanced oxidation protein products are increased in women with polycystic ovary syndrome: relationship with traditional and nontraditional cardiovascular risk factors in patients with polycystic ovary syndrome.

   Kaya C, **Erkan AF**, Cengiz SD, Dünder I, Demirel O, Bilgihan A.

   Fertil Steril. 2008 Oct 29. [Epub ahead of print]

3. The relationship of the ESR1 gene polymorphisms with the presence of coronary artery disease determined by coronary angiography.

   Yilmaz A, Menevse S, **Erkan AF,** Ergun MA, Ilhan MN, Cengel A, Yalcin R.

   Genet Test. 2007 Winter;11(4):367-71.

4. The effect of clopidogrel on apoptosis- an in vivo study. Yalçın R, **Erkan A**, Ergun MA, Yurtçu E. **Cell Biology International 28 (2004) 477-481.**
5. Relation Of The -174 G/C And -572 G/C Promoter Polymorphisms Of The Interleukin-6 Gene To Interleukin-6 And Highly Sensitive C-Reactive Protein Serum Levels And To The Extent Of Infarction In Acute Myocardial Infarction. Atiye Çengel, **Aycan F Erkan**, Mehmet Ali Ergün, Derya Kan, Sevda Menevşe. **Journal of the American College of Cardiology Vol. 43(5), March 2004 (Suppl A) p 296.**
6. The Safety And Efficacy Of t-PA Combined With Low-Dose Tirofiban Vs. t-PA Alone In Acute ST Segment Elevation Myocardial Infarction. **Erkan A**, Timurkaynak T, Cemri M, Özdemir M, Boyacı B, Yalçın R, Çengel A. **Acta Cardiologica Vol. 58 (3), June 2003, 20-21.**
7. Behçet's Disease With A Large And Free Right Atrial Thrombus. Cemri M, **Erkan A**, Özdemir M, Cengel A. **Eur J Echocardiography (2002) 3, 233-235**
8. Misleading Appearance Of A Left Atrial Thrombus As A Cystic Mass On Transosephageal Echocardiography. Cemri M, **Erkan A,** Cengel A. **Heart 2002 ;87 :112**

C. ULUSAL MAKALELER:

1. Koroner neovaskülarizasyon gösteren dev sol ventrikül miksoması. Cemri M, Özdemir M, Timurkaynak T, Sezer C, **Erkan A**, Dörtlemez Ö. **Türk Kardiyol Dern Arş 2001;29:253-255**
2. Subklinik Hipotiroidili Hastalarda Lipid Profilinin Değerlendirilmesi Ve L-Tiroksin Tedavisinin Lipid Profili Üzerine Etkisi. Gülbanu C. Erkan, Banu Kale Köroğlu, Metin Küçükazman, **Aycan F. Erkan**, Mert Köroğlu, Şenay Arıkan, Selma Karaahmetoğlu. **TCDD Hastaneleri Tıp Bülteni, 2003 (1): 21-25**

D. ULUSLAR ARASI KONGRE BİLDİRİLERİ:

1. The Comparison Of t-PA Therapy Alone And In Conjunction With Reduced Dose Tirofiban In The Setting Of ST Segment Elevation Myocardial Infarction. **Erkan A,** Turkoğlu S, Okyay K, Timurkaynak T, Cengel A**. 17th Annual Meeting Of The Mediterranean Association Of Cardiology And Cardiac Surgery, Portoroz, Slovenia, September 22-24, 2005**
2. The Relationship Of Estrogen Receptor Gene Polymorphism To The Extent And Severity Of Coronary Artery Disease. **Aycan F Erkan,** Rıdvan Yalçın, Atiye Çengel, Mehmet Ali Ergün, Sevda Menevşe, **45th Annual Conference On Cardiovascular Disease Epidemiology And Prevention, April 29-May 2, 2005, Washington DC, USA**
3. Relation Of The -174 G/C And -572 G/C Promoter Polymorphisms Of The Interleukin-6 Gene To Interleukin-6 And Highly Sensitive C-Reactive Protein Serum Levels And To The Extent Of Infarction In Acute Myocardial Infarction. Atiye Çengel, **Aycan F Erkan**, Mehmet Ali Ergün, Derya Kan, Sevda Menevşe. **American College Of Cardiology, Annual Scientific Session 2004, March 7-10, New Orleans, USA**

4. The Relationship Between Serum IL-6 Levels And The Extent Of The Infarct Area In Patients With Acute Myocardial Infarction. **Aycan Erkan,** Burcu Esen, Rıdvan Yalçın, Mustafa Ünlü, Atiye Çengel. **The 19th European Congress Of The International Society Of Non-Invasive Cardiology, 8-10 May, 2003 Istanbul, Turkey**

ULUSAL KONGRE BİLDİRİLERİ

1. Akut koroner sendromlarda AOPP düzeyleri ile Troponin T ve HFABP pozitifliği asındaki ilişki. **Aycan Erkan,** Özlem Özbaş, Selçuk Coşkun, Aslı Çetin, Mehmet Korkmaz, Ayşe Bilgihan. **VI. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 27-30 Nisan 2006, Antalya, Türkiye (Sözel Bildiri)**
2. Raloksifen tedavisinin lipid profili ve serum C-Reaktif Protein düzeyleri üzerindeki etkisi ile östrojen reseptör gen polimorfizminin ilişkisi. **Erkan A**, Çiftçi B, Yılmaz A, Ergün MA, Tıraş B, Menevşe S, Çengel A, Yalçın R. **XXI. Ulusal Kardiyoloji Kongresi 26-29 Kasım 2005, Antalya, Türkiye (Sözel Bildiri)**
3. Akut ST segment elevasyonlu miyokard infarktüsünde tek başına t-PA tedavisi ile t-PA eşliğinde verilen düşük doz tirofiban tedavisinin etkinliklerinin kantitatif olarak karşılaştırılması. **Erkan A**, Türkoğlu S, Okyay K, Timurkaynak T, Çengel A. **XXI. Ulusal Kardiyoloji Kongresi 26-29 Kasım 2005, Antalya, Türkiye (Sözel Bildiri)**
4. İnterlökin-6 promoter gen polimorfizminin akut miyokard infarktüsü seyri sırasında inflamasyon belirteçleri ve infarkt yaygınlığı üzerindeki etkisi. Atiye Çengel, **Aycan Fahri Erkan**, Rıdvan Yalçın, Bülent Boyacı, Mehmet Ali Ergün, Derya Kan,

Timur Timurkaynak, Mustafa Cemri, Murat Özdemir, Sevda Menevşe. **XX. Ulusal Kardiyoloji Kongresi 27-30 Kasım 2004, Antalya, Türkiye (Sözel Bildiri)**

5. Akut miyokard infarktüsü sonrasında başarılı perkütan koroner girişimi takiben gelişen papiller kas rüptürü. Aycan F. Erkan, Timur Timurkaynak, Mustafa Cemri, Murat Özdemir, Bülent Boyacı, Rıdvan Yalçın, Atiye Çengel. XIX. **Ulusal Kardiyoloji Kongresi 11-14 Ekim 2003, Antalya, Türkiye (Poster)**
6. Akut miyokard infarktüsünde tiroid hormon pofilleri ve IL-6 düzeyleri ile infarkt yaygınlığı arasındaki ilişki. **Aycan F. Erkan**, Burcu Esen, Mustafa Cemri, Murat Özdemir, Timur Timurkaynak, Bülent Boyacı, Rıdvan Yalçın, Mustafa Ünlü, Atiye Çengel. **XVIII. Ulusal Kardiyoloji Kongresi, 5-8 Ekim 2002, Antalya, Türkiye (Sözel Bildiri)**
7. Akut miyokard infarktüsünde miyokard performans indeksinin sağ ventrikül fonksiyonları ile korelasyonu. Mustafa Cemri, **Aycan F. Erkan**, Haci Çiftçi, Murat Özdemir, Timur Timurkaynak, Bülent Boyacı, Rıdvan Yalçın, Atiye Çengel. **XVIII. Ulusal Kardiyoloji Kongresi, 5-8 Ekim 2002, Antalya, Türkiye (Sözel Bildiri)**
8. Akut miyokard infarktüsünde doku Doppler ekokardiyografi parametrelerinin koroner anjiografi bulgularıyla karşılaştırılması. Mustafa Cemri, **Aycan F. Erkan**, Haci Çiftçi, Murat Özdemir, Timur Timurkaynak, Bülent Boyacı, Rıdvan Yalçın, Atiye Çengel. **XVIII. Ulusal Kardiyoloji Kongresi, 5-8 Ekim 2002, Antalya, Türkiye (Poster)**