T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

DİSLİPİDEMİK HASTALARDA STATİN TEDAVİSİ ÖNCESİ VE SONRASI GENOMİK İNSTABİLİTENİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP

Danışman
Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2016
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİSLİPİDEMİK HASTALARDA STATİN TEDAVİSİ ÖNCESİ VE SONRASI GENOMİK İNSTABİLİTENİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP

Danışman
Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2014-5400 nolu proje ile desteklenmiştir.

Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2016
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Dislipidemik Hastalarda Statin Tedavisi Öncesi ve Sonrası Genomik İnstabilitenin Araştırılması" adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan	**Danışman**
Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP	**Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ**

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Halit CANATAN

Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ danışmanlığında **Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP** tarafından hazırlanan **"Dislipidemik Hastalarda Statin Tedavisi Öncesi ve Sonrası Genomik İnstabilitenin Araştırılması"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.... /... / 2016

JÜRİ **İmza**

Danışman : Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ
(Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Fahri BAYRAM
(Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı)

Üye : Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ
(Gaziosmanpaşa Üniversitesi,
Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı)



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../..../.....

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve akademik eğitimimde emek ve yardımlarını esirgemeyen, her konuda rol model aldığım, farkındalığımı ve bakış açımı geliştirmemde müthiş katkısı olan, şanslı olduğumu her an hissettiren, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ'a, değerli yardımlarıyla ve katkılarıyla destek olan, aynı şekilde benim için büyük şans bildiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fahri BAYRAM' a, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca ihtiyaç duyduğum her zaman beni motive ederek güdüleyen, maddi manevi emeklerini esirgemeyen çok kıymetli anneme ve babama, tez çalışmam süresince manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, yanımda olduğunu her daim hissettiren abim Alper COŞKUN'a ve kardeşim Şeyma COŞKUN'a, desteklerinden güç bulduğum, ihtiyacım olan her zaman yanımda olan başta canım arkadaşlarım Muazzez DERYA ANDEDEN, Gamze KARADAŞ DURSUN, Pınar ALTIN ve Mustafa ÇAKIR olmak üzere tüm arkadaşlarıma,

Ayrıca enerjisi ile bana güç veren ve her konuda destek olup cesaretlendiren, bu süreci beraber paylaştığım çok sevgili yol arkadaşım Serdar DEMİRKALP'e, bana şans getiren oğlum EMİR BATU'ya ve tez çalışmam boyunca desteği olan herkese saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

DİSLİPİDEMİK HASTALARDA STATİN TEDAVİSİ ÖNCESİ VE SONRASI GENOMİK İNSTABİLİTENİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2016
Danışman: Prof.Dr. Hamiyet Dönmez-ALTUNTAŞ

KISA ÖZET

Dislipidemi kanda kolesterol, trigliserid (TG), düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-kol) yüksekliği veya yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-kol) düşüklüğü ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Statinler, 3-hidroksi-3- metilglutaril koenzim A redüktaz (HMG-CoA redüktaz) inhibitörleri, dislipidemi tedavisinde en önemli ve en çok/en sık kullanılan ilaçlardır. Bu çalışmanın amacı statin tedavisi alan dislipidemi hastalarında statinin olası genotoksik ve sitotoksik etkilerini periferik kan lenfositlerinde sitokinez-bloke mikronükleus sitom (Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome; CBMN cyt) ve 8-hidroksi-2′-deoksiguanozin (8-OHdG) yöntemlerini kullanarak araştırmaktır.

Çalışmada, teşhis konmuş henüz tedavisine başlanmamış ve bu hastaların en az 3 ay statin tedavisi verdikten sonra olmak üzere 15 dislipidemik hasta ile hastalarla benzer yaş ve cinsiyette toplam 15 sağlıklı bireyin kan örnekleri analiz edilmiştir. Dislipidemi hastalarında, statin tedavisi öncesi ve sonrası değerler arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda, DNA hasar parametreleri olarak mikronükleus (MN), nükleoplazmik köprü (nucleoplasmic bridges; NPB) ve nükleer tomurcuk (nuclear buds; NBUD) değerlerinin, hücre ölümü (sitotoksisite) parametreleri olarak apopitotik ve nekrotik hücre frekansları ile hücre çoğalması (sitostazi) oranı olarak nükleer bölünme indeksinin (NBİ) tedavi öncesine göre azaldığı bulunmuştur ($p<0.05$-$p<0.01$). Ancak, tedavi öncesi ve sonrası hastalara ait oksidatif DNA hasar parametrelerinden plazma 8-OHdG değerlerinde bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$).

Sonuç olarak, dislipidemik hastalardaki azalan kromozomal DNA hasarı sonuçlarımız, statin tedavisinin lipid düzenleyici etkilerinin yanı sıra bu hastaların lenfositlerindeki genomik hasar, sitotoksisite ve sitostazi üzerinde iyileştirici bir etkiye de sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, dislipidemik hastalarda, statin tedavisinin genom koruyucu

bir role sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, çalışma sonuçlarımızın, daha geniş sayıda hasta gruplarıyla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Dislipidemi, Statin Tedavisi, Mikronükleus, Oksidatif DNA hasarı, Sitom yöntemi.

INVESTIGATION OF GENOME INSTABILITY IN DYSLIPIDEMIC PATIENTS BEFORE AND AFTER STATIN TREATMENT

Ayşe Nur Coşkun DEMİRKALP

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Biology
Thesis, January 2016
Supervisor: Prof. Dr. Hamiyet Donmez-ALTUNTAS

ABSTRACT

Dyslipidemia is a metabolic disorder associated with increased cholesterol, triglyceride (TG), low-density lipoprotein (LDL) cholesterol or decreased high-density lipoprotein (HDL) cholesterol in blood. Statins have been largely used to treat dyslipidemia and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) inhibitors. The purpose of this work was to evaluate genotoxic and cytotoxic potential by use cytokinesis-block micronucleus cytome (CBMN cyt) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) methods in peripheral blood lymphocytes of dyslipidemia patients treated with statin.

In the study, the blood samples of 15 healthy subjects of similar age and sex with patients with 15 dyslipidemia patients at least 3 months, including after seeing statin therapy in these patients, newly diagnosed and diagnosis has not yet started treatment, were analyzed.

In dyslipidemia patients, the comparison results after statin treatment, the frequencies of micronucleus (MN), nucleoplasmic bridge (NPB) and nuclear bud (NBUD) as the DNA damage parameters, apoptotic and necrotic cell frequencies as the viability of cells (cytotoxicity) and as the proportion of dividing cells (cytostasis) were found to be significantly lower than those in pre-treatment ($p<0.05$-$p<0.001$). But no significant differences were found between plasma 8-OHdG levels of dyslipidemia patients pre- and post-treatment ($P>0.05$).

As a result, our results was shown that the decreasing chromosomal DNA damage parameters in dyslipidemic patients, lipid regulating effect of statin therapy, as well as a curative effect on genome damage, cytotoxicity and cytostasis of lymphocytes of these patients. Thus, our results may suggest that statin therapy has a role as a guardian of

genome suggests in dyslipidemic patients. Our work is needed to support with larger groups of patients.

Keywords : Cytome assay; Micronucleus; Oxidative DNA damage; Dyslipidemia; Statin Therapy

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İÇ KAPAK....i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI....ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI....iii
KABUL VE ONAY SAYFASI....iv
TEŞEKKÜR....v
ÖZET....vi
ABSTRACT....viii
İÇİNDEKİLER....x
TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ....xii
KISALTMALAR....xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ....1
2. GENEL BİLGİLER....3
2.1. DİSLİPİDEMİ....3
2.2. DİSLİPİDEMİ YAYGINLIĞI....3
2.2.1. Dünya'da Dislipidemi Yaygınlığı....3
2.2.2. Türkiye'de Dislipidemi Yaygınlığı....4
2.3. DİSLİPİDEMİ SINIFLANDIRILMASI....4
2.3.1. Lipoproteinler....5
2.3.2. Şilomikron....6
2.3.3. VLDL-Kolesterol....6
2.3.4. LDL-Kolesterol....7
2.3.5. Total-Kolesterol....8
2.3.6. Trigliserit....8
2.3.7. HDL-Kolesterol....9
2.4. DİSLİPİDEMİ PATOGENEZİ (DİSLİPİDEMİ İLE İLİŞKİLİ KRONİK HASTALIKLAR)....9
2.5. DİSLİPİDEMİ TEDAVİSİ....10
2.5.1 Statin Tedavisi....12
2.6. DNA HASARI....14

2.7. SİTOKİNEZ BLOKE MİKRONUKLEUS (CBMN) YÖNTEMİ.....15

2.8. CBMN CYT YÖNTEMİ İLE HÜCRELERİ TANIMLAMA KRİTERLERİ....17

2.8.1. DNA hasarı (MN, NPB ve NBUD) için değerlendirme kriterleri.....18

2.8.2. Sitostatik etkiler için, Bir- (mono-nükleer), iki- (bi-nükleer), üç-(tri-nükleer) ve dört- (tetra-nükleer) çekirdekli hücreleri sayma kriterleri.....20

2.8.3. Sitotoksik etkiler için, apopitotik ve nekrotik hücreleri sayma kriterleri.....21

2.9. OKSİDATİF STRES.....23

3. GEREÇ YÖNTEM.....26

3.1. GEREÇLER.....26

3.2. YÖNTEM.....28

4. BULGULAR.....34

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....45

6. KAYNAKLAR.....49

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: NCEP ATP IV kılavuzuna göre lipid düzeylerinin sınıflandırılması. 5
Tablo 2.2: SCORE Risk tablosunda toplam kardiyovasküler risk kategorileri.... 12
Tablo 2.3: Statinlerin FDA onaylı dozlarında serum lipidleri üzerindeki etkileri. 13
Tablo 2.4: Oksijen Radikallerinin endojen ve eksojen kaynakları..... 24
Tablo 4.1: Çalışılan tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait demografik karakterler ve bazı antropometrik ölçümler (ortalama±S.S.) 35
Tablo 4.2: Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait lipid ve bazı kan parametreleri (ortalama±S.S.) 36
Tablo 4.3: Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait genom/kromozomal ve oksidatif DNA hasarı sonuçları 38
Tablo 4.4: Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait Sitotoksisite ve Sitostazi sonuçları.....42

Şekil 2.1: Lipid Metabolizma.....7
Şekil 2.2: Çeşitli sitotoksik ve genotoksik ajanlara maruz kaldıktan sonra, kültüre edilmiş sitokinez-bloke hücrelerin olası kaderi (MN:mikronukleus; NPB:nükleoplazmik köprü, NBUD:nükleer bud.....17
Şekil 2.3: BN hücre içindeki MN'nin morfolojik görüntüsü. (a) MN'ların çapı ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında değişebilir; (b) Üst üste binmemiş, BN hücreye temas eden MN'ler; (c) İki MN içeren birbirine NPB ile bağlı BN hücre; (d) Farklı boyutlarda altı MN içeren BN hücre.....18
Şekil 2.4: BN hücre içindeki NPB'nin morfolojik görüntüsü (a) İdeal BN hücre; (b) Çekirdekleri birbirine değen BN hücre; (c) Dar bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre; (d) Geniş bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre.....19
Şekil 2.5: BN hücre içindeki NBUD' un morfolojik görüntüsü..... 20
Şekil 2.6: Bir ve çok çekirdekli hücrelerin morfolojik görüntüsü.. 21

Sayfa No

Şekil 2.7: Apopitotik hücrelerin morfolojik görüntüsü..... 22
Şekil 2.8: Nekrotik hücrelerin morfolojik görüntüsü.....23
Şekil 2.9: DNA'daki oskidatif hasarın göstergesi olarak 8-OHdG oluşum.....24
Şekil 3.1: *In vitro* CMBN yöntemi protokolü 29
Şekil 3.2: Standart Kalibrasyon eğrisi 33
Şekil 4.1: Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait lipid parametreleri 37
Şekil 4.2: Tedavi sonrası hastalara ait genom hasar parametre değerleri 39
Şekil 4.3: Tedavi sonrası hastalara ait genom hasar parametrelerinden milronükleus (MN) değerleri.....39
Şekil 4.4: Tedavi öncesi dislipidemi hastalarında total-kolesterol ile NPB arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (P<0.05, r:0.589) 40
Şekil 4.5: Tedavi sonrası dislipidemi hastalarında BKİ ile NPB arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (P<0.05, r:0.616).....41
Şekil 4.6: Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait Sitotoksisite ve Sitostazi sonuçları 43
Şekil 4.7: Tedavi öncesi dislipidemi hastalarında, NBİ ile LDL-kol arasında (P<0.05, r:0.581) pozitif bir ilişki (A) ve tedavi sonrası dislipidemi hastalarında, NBİ ile BKİ arasında (P<0.05, r:-0.639) negatif bir ilişki (B).....44
Şekil 4.8: Tedavi öncesi ve sonrası 8-OHdG ölçüm değerlerinin hastalara göre gösterilmesi 44

KISALTMALAR

ATP IV : Yetişkin tedavi paneli IV (Adult Treatment Panel IV)
Apo : Apoprotein
ASKVH : Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık
BN : Binükleer
CBMN : Sitokinez Blok Mikronükleus (Cytokinesis-Block Micronucleus)
CBMN Cyt : CBMN sitom (CBMN Cytome)
Cyt-B : Sitokalazin B
DM : Diabetes mellitus
DMSO : Dimetil sülfoksit
DNA : Deoksiribonükleik Asit
ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Testi
HDL-kol : Yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol
HMG-CoA : 3-hidroksi-3- metilglutaril koenzim A
IDL : Orta dansiteli lipoproteinler
KA : Kromozom aberasyon
KE : Ester kolesterol
KKD : Kardeş kromatid değişimleri
KVH : Kardiovasküler hastalıklar
LDL-kol : Düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol
Lpa : Lipoprotein a
MN : Mikronükleus
M1- M4 : 1-4 çekirdek içeren hücrelerin sayısı
NCEP : Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program)
NPB : Nükleoplazmik köprü (Nucleoplasmic bridges)
NBUD : Nükleer tomurcuk (Nuclear buds)
NBI : Nükleer Bölünme İndeksi (Nuclear division index)
PHA : Fitohemaglutinin (Phytohemagglutinin)
TG : Trigliserid
T-kol : Total-kolesterol
VLDL-kol : Çok düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol
8-OHdG : 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dislipidemi, lipoproteinin aşırı üretimi ya da eksikliğini içine alan lipoprotein metabolizması bozukluğu veya hastalığıdır. Bu tür hastalarda total kolesterol (T-kol), düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-kol) ve trigliserid (TG) seviyelerinde artış ya da yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-kol) seviyesinde azalış gözlenmektedir (1). Dislipidemiler, primer (genetik) ve sekonder dislipidemiler şeklinde sınıflandırılabilir. Primer dislipidemiler genetik özelliklere bağlı olarak oluşur. Sekonder dislipidemiler ise çoğunlukla, hipotiroidi, insülin direnci ve diabetes mellitus, böbrek hastalıkları, alkol ve ilaçlara bağlı olarak oluşur (2, 3). Dislipidemiler değerlendirilirken sadece kandaki lipid fraksiyonları ile değil beraberinde majör kardiovasküler hastalıklar (KVH) için risk faktörleri ile beraber değerlendirilmelidir (3, 4).

Lipid metabolizma bozuklukları ile ilgili olarak Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program; NCEP) tarafından yayınlanan, güncelleştirilmiş yüksek kan kolesterolü tedavi kılavuzu Adult Treatment Panel IV (ATP IV) tarafından yayınlanmış rehberler ışığında tedavi planlamaları yapılmaktadır (4,5). Dislipidemi tedavisinde diyet ve yaşam tarzı değişiklikleri vazgeçilmezdir, ancak hedeflenen lipid değerlerine ulaşmada genellikle yetersiz kalırlar ve tedaviye farmakolojik ajanların eklenmesi gerekir. Dislipidemi tedavisinde, birincil hedef LDL kolesterolü düşürmek olduğundan, statinler bu tedavinin en önemli ve en çok/en sık kullanılan ilaç grubudur (3, 4, 5).

Sitokinez-Blok sitom (Cytokinesis-Blocked cytome, CBMN cyt) yöntemi ile kromozom instabilitesi/genom hasarı, hücre çoğalması, hücre ölümü tespit edilebilmektedir (6). Kısaca CBMN cyt yöntemi ile, kromozom/DNA hasarı için; MN'lu (kromozom kırıkları ve/veya kromozom kayıplarını temsil eder), Nükleoplazmik köprülü (NPB, hatalı DNA tamirleri ve/veya telomer uç birleşmelerini gösterir) ve Nükleer budlu (NBUD; gen amplifikasyonlarını gösterir) binükleer hücreler sayılmaktadır. Hücre çoğalması için de; mononükleer, binükleer ve multi nükleer hücreler skorlanarak hücre çoğalma oranları (Nükleer bölünme indeksi; NBİ) hesaplanmaktadır. Ayrıca, hücre ölümü için de; apopitotik ve nekrotik hücreler skorlanarak hücre canlılık oranı belirlenmektedir (6).

Statin çok kullanılan bir ilaç olmasından dolayı birçok etkileri ve yan etkileri halen tartışılmaya devam etmektedir. Ancak, yapılan literatür incelemesine göre, dislipidemi hastalarında statin tedavisi öncesi ve sonrasında genom hasarını araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, statin tedavisi verilen dislipidemi hastalarında statinin olası genotoksik ve sitotoksik etkileri periferik kan lenfositlerinde CBMN cyt yöntemi ile araştırılmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası CBMN cyt yöntemi parametreleri karşılaştırılarak statin tedavisi ile genom hasarı arasında bir ilişki olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

Çalışmanın sonunda bulunacak kromozomal/DNA hasarı bulgularına göre, statin tedavisinin genom hasarı üzerindeki olası etkileri ile ilgili literatüre yeni bilgiler kazandırmayı amaçlamaktayız.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. DİSLİPİDEMİ

Dislipidemi, kanda çeşitli lipid parametrelerinin artması (total-kolesterol; T-kol, trigliserid; TG, düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol; LDL-kol) veya azalması (yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol; HDL-kol) ile karakterize metabolik bir bozukluktur (1). Dislipidemi hastalarında, T-kol, LDL-kol ve TG değerleri genel populasyon değerlerine göre 90 persantilin üstünde; HDL-kol ise 10 persantilin altında görülür (7).

2.2. DİSLİPİDEMİ YAYGINLIĞI

2.2.1 Dünya'da Dislipidemi Yaygınlığı

Kardiyovasküler hastalık (KVH) lar, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde mortaliteye katkıda bulunur ve en büyük morbidite nedenidir 1. Dislipidemi, KVH ve ateroskleroz gelişiminde en önemli risk faktörünü oluşturur (8, 9). Dislipideminin tedavi edilmesi, KVH morbidite ve mortalite oranını azalttığı bilinmektedir (10,11). Birleşik devletlerde, Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Taramasına (National Health and Nutrition Examination Survey; NHANES) göre 2003–2006 yılları arasında yetişkinlerin % 52.9'unun lipid anormalliklerine sahip oldukları gösterilmiştir (12). Çin'de yetişkinlerde dislipidemi yaygınlığı, 2002'deki Çin Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Taramasına göre 18 yaş ve üzerinde % 16.8'dir (13). Ancak, Asya'daki Kardiyovasküler hastalığın Uluslararası kolloboratif çalışmanın sonuçları, Çin'de 35-74 yaşları arasındaki yetişkinlerde dislipidemi yaygınlığının % 53.6 olduğunu göstermiştir (14, 15).

2.2.2. Türkiye'de Dislipidemi Yaygınlığı

Türkiye'nin 7 bölgesini kapsayan 4309 yetişkin kişi üzerinde yapılan dislipidemi açısından lipid seviyelerinin değerlendirildiği son çalışmada, çalışmaya katılanların %43'nün yüksek T-kol, %35.7'sinin yüksek TG (kadınlar için %33.5 ve erkekler için %38.3), %36.2'sinin yüksek LDL-kol (kadınlar için %37.2 ve erkekler için %35.0) ve %41.5'nin düşük HDL-kol (kadınlar için %46.2 ve erkekler için %35.9) olduğu gösterilmiştir (16,17). Bu çalışmada, dislipidemi, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program; NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III) kriterlerine göre yüksek T-kol ≥200 mg/dL, yüksek TG ≥150 mg/dL, yüksek LDL-kol ≥130 mg/dL ve düşük HDL-kol erkekler için <40 mg/dL ve kadınlar için < 50 mg/dL olarak belirlenmiştir (16, 17).

2.3. DİSLİPİDEMİ SINIFLANDIRMASI

Dislipidemiler, primer (genetik) ve sekonder dislipidemiler şeklinde sınıflandırılabilir. Primer dislipidemiler, lipoprotein metabolizmasındaki genetik bozukluklar sonucu oluşur. Sekonder dislipidemiler ise çoğunlukla, hipotiroidi, insülin direnci ve diabetes mellitus (DM), böbrek hastalıkları, alkol ve birçok ilaçlara bağlı olarak oluşur (2,17). Primer ve sekonder dislipidemi ayırımının yapılması, altta yatan nedenin tedavi edilerek hastaya verilecek antilipidemik tedavilerin düzenlenmesi, bu tedavilerin kullanım sürelerinin ve sekonder dislipidemilerde altta yatan hastalıkların tedavilerinin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Primer (ailevi) dislipidemilerdeki metabolik bozukluklar geçici nedenlere bağlı olmadığından bu hastalarda antilipidemik tedavi planının (hayat tarzı değişiklikleri ile birlikte medikal tedaviler, risk faktörlerinin önlenmesi) ömür boyu sürmesi ve bu hastalarda aile taramalarının da yapılarak özellikle kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin önlenmesi önem taşımaktadır. Dislipidemi ile gelen bir hastanın tıbbi öyküsünün, soygeçmişinin sorgulanması ve fizik muayenede ailevi dislipidemilerde görülen bulgular açısından dikkat edilmesi bu nedenle gereklidir (17). Böylece, dislipidemiler değerlendirilirken sadece kandaki lipid değerleri ile değil beraberinde majör kardiovasküler hastalıklar (KVH) için risk faktörleri ile beraber değerlendirilmelidir (3, 4).

Lipid metabolizma bozuklukları ile ilgili olarak genellikle Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program; NCEP) tarafından yayınlanan, güncelleştirilmiş yüksek kan kolesterolü tedavi kılavuzu Adult Treatment Panel IV

(ATP IV) tarafından yayınlanmış rehberler ışığında lipid ve lipoprotein düzeylerinin sınıflandırılması ve tedavi planlamaları yapılmaktadır (3, 18). Lipid ve lipoprotein düzeylerinin sınıflandırılması Tablo 2.1.'de gösterilmiştir (17, 19, 20).

Tablo 2.1. NCEP ATP IV kılavuzuna göre lipid düzeylerinin sınıflandırılması (17,19,21).

Lipoprotein	Düzey (mg/dL)	Sınıflandırma
LDL kolestrol	< 100	Optimal
	100-129	İstenen
	130-159	Sınırda yüksek
	160-189	Yüksek
	≥ 190	Çok yüksek
Total kolestrol	< 200	İstenen
	200-239	Sınırda yüksek
	≥ 240	Yüksek
Trigliserid	< 150	İstenen
	150-199	Sınırda yüksek
	200-499	Yüksek
	≥ 500	Çok yüksek
HDL kolestrol	Erkek < 40	
	Kadın < 50	Düşük
	≥ 60	Yüksek

2.3.1 Lipoproteinler

Lipidler, sulu çözeltilerde çözünemedikleri için dokularda membran lipidleri (fosfolipidler ve kolesterol) ve depo lipidleri (trigliseridler) şeklinde, plazmada ise lipoproteinler denilen suda çözünebilen makromolekül kompleksleri şeklinde taşınırlar. Lipoproteinler, TG ve kolesterol esterleri (KE) gibi hidrofobik lipidleri kapsayan bir

çekirdek ile protein, fosfolipid ve serbest kolesterollerden meydana gelen tek katlı bir yüzey tabakasından oluşan küresel yapılardır (22-26).

Lipoproteinler, dansitelerine ve elektroforetik hareketliliklerine göre sınıflandırılabilir. En sık kullanılan sınıflama dansitelerine göre yapılan sınıflamadır. Bu sınıflamada, lipoproteinler 6 gruba ayrılırlar: şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), orta dansiteli lipoproteinler (IDL), LDL'ler, HDL'ler ve lipoprotein a (Lpa) (21). Lipoproteinler; elektroforezdeki hareketlerine göre ise, şilomikronlar, VLDL (preβ-lipoprotein), LDL (β-lipoprotein) ve HDL (α-lipoprotein) olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır (21).

2.3.2. Şilomikron

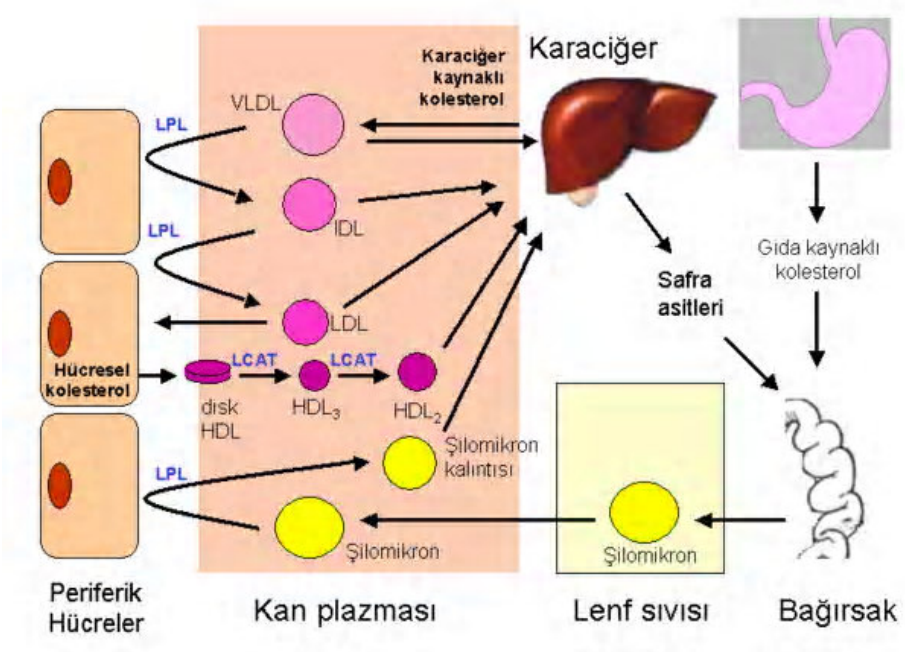
Diyetteki yağlar absorbe edildikleri ince barsak enterosit hücrelerinde, apoprotein (Apo) B48 varlığında şilomikronlara dönüşürler. Büyüklükleri 90-1000 nm arasında değişen şilomikronlar önce lenf yolu ile taşınırlar. Ductus torasikustan kan dolaşımına geçtikten sonra, yapısına apoE ve apoC katılır. Lipoprotein lipaz (LPL) etkisi ile şilomikrondaki TG'ler hidroliz edilirler. Böylece şilomikronların büyüklüğü azalır ve kolesterol içeriği artmış kalıntı partikülleri ortaya çıkar (şekil 2.1). Şilomikronların başlıca apolipoproteinleri arasında Apo-AI, Apo-AII, Apo B-48, Apo C-II, Apo C-III ve Apo E bulunmaktadır. Plazmada krema tabakası görünümünde olan bu lipoproteinlerin lipid içeriği % 88 TG, % 4 kolesterol ve % 8 ise fosfolipiddir. Organizmada kandaki en yüksek şilomikron düzeyine, yağlı bir yemekten 3-6 saat sonra ulaşılır. Bu düzey daha sonra giderek azalır ve 12 saatlik açlık sonrasında kanda şilomikrona rastlanmaz. Şilomikronların klirensi oldukça hızlı olduğu için yarı ömürleri bir saatten azdır (21).

2.3.3. VLDL-kolesterol

VLDL-kol sınıfı, yapı olarak şilomikronlara benzese de TG içeriğinin daha düşük olması, kolesterol, fosfolipid ve protein miktarlarının da daha yüksek olmasıyla farklılık gösterir. Şilomikrondan daha küçük olan VLDL molekülünün apoliporoteinleri arasında Apo B-100, Apo C-I, Apo C-II, Apo C-III ve Apo E bulunmaktadır. Lipid içeriği % 56 TG, % 23 kolesterol ve % 20 fosfolipiddir (21).

Başlıca görevi endojen TG'i taşımak (23) olan VLDL, karaciğerde sentez edilir. Safra kaynaklı yağ asitleri ve endojen kolesterolun geri emiliminde rol alan bazı VLDL molekülleri ise ince barsakta yapılmaktadır. Aşırı karbonhidrat alımına bağlı olarak

endojen yağ asitlerinin hepatik sentez hızının arttığı veya yüksek yağlı diyetle beslenme, açlık ve diyabet gibi karaciğere serbest yağ asitlerinin akışının fazla olduğu durumlarda VLDL sentezinde artış görülmektedir. VLDL'nin yarı ömrü 2-4 saat kadardır (21).



Şekil 2.1. Lipid metabolizması (22).

2.3.4. LDL-kolesterol

VLDL, ekstrahepatik dokularda sırasıyla IDL ve LDL'ye dönüşerek katabolize edilir. Bu katabolizma sırasında hidrolizlenme sonucu oluşan ve kolesterol taşıyıcı temel lipoprotein olan LDL, kolesterolü ve fosfolipidleri periferik hücrelere taşır. Plazmadaki kolesterolün yaklaşık % 70'i LDL tarafından taşınmaktadır, bu sebeple LDL "aterojenik lipoprotein" olarak da bilinir (24). Lipid içeriği % 13 TG, % 58 kolesterol ve % 28 fosfolipid şeklindedir (21). Her LDL partikülüne eşlik eden Apo B-100 molekülü, dolaşımdaki metabolik işlemlerle VLDL partikülünden LDL'ye aktarılır.

Lipoprotein metabolizmasında bozukluğa yol açan genetik hastalıklar aterogenezde önemli rol oynar. LDL partikülleri büyüklük ve yoğunluk bakımından iki ayrı fenotipik özellik gösterir. Küçük yoğun LDL partikülleri, oksidasyona artmış yatkınlık, LDL

reseptörüne azalmış afinite, artmış VLDL kalıntı düzeyleri ve düşük HDL kolesterol ile ilişkili olduklarından koroner arter hastalıkları için bir risk faktörü olarak ortaya çıkarlar. Aterojenitenin artmasında küçük yoğun LDL partikülünün subintimal alana girme yeteneğinin yüksek olması ve daha fazla okside olması sorumlu tutulmaktadır (21).

2.3.5. Total-kolesterol

Kolesterol, sekiz karbonlu yan zincirine sahip dört halkalı bir hidrokarbondur. Dokular ve plazma lipoproteinlerinde hem serbest sterol olarak, hem de uzun zincirli yağ asitlerinden biri ile esterleşmiş olarak bulunur. Serbest kolestrol, bütün hücre membranlarının bir kompanenti olduğu gibi, bir çok dokuda da başlıca bu şekilde bulunur. Ancak, adrenal korteks, plazma ve atheromatöz plaklarda daha ziyade esterleşmiş formda bulunur. Ayrıca, intestinal lenfoid sistem ve karaciğerdeki kolestrolün önemli bir bölümü esterleşmiştir. Bir çok dokunun kolesterol sentezleme yeteneği olmakla birlikte, normalde vücutta yeni sentezlenmiş kolesterolün hepsi karaciğer ve ince barsağın distal kesiminde oluşur. İnsanlar dahil memelilerin bir çoğunda karaciğer, toplam kolesterol sentezinin yaklaşık %10-20'sini gerçekleştirmektedir (25).

2.3.6. Trigliserid

TG veya tri açilgliserol, gliserolün yağ asidi esteridir ve genellikle iki veya üç değişik yağ asidi içerir. TG sentezi, karaciğer ve yağ dokusunda gliserol fosfat yolu ile meydana gelirken, ince bağırsakta ise yağ absorbsiyonu sırasında monogliserid yolu ile meydana gelmektedir (26).

Diyet TG'leri, absorbe edildikten sonra şilomikron şeklinde intestinal lenf kanalcıkları ve daha sonra da torasik kanal yolu ile sistemik dolaşıma girer. Normalde, trigliseridin %90'ından fazlası absorbe edilir ki bu da, bir günde yaklaşık 80-170 mmol (70-150gr) eksojen trigliseridin dolaşıma girmesi demektir. Endojen yağ asitlerinden türeyen trigliseridler, ince bağırsaktan köken alırsa da asıl sentez yeri karaciğerdir ve buradan kana VLDL-kol olarak salgılanır. Şilomikronlar ve VLDL-kol'deki trigliseridin yağ asidi içeriği, diyet trigliseridinin yağ asidi kompozisyonundan etkilenir. Diyetteki linoleik asit içeriğinin yetersiz olduğu durumlarda, özellikle malabsorbsiyonlu hastalarda, esansiyel yağ asidi defekti oluşur (27).

2.3.7. HDL-kolesterol

HDL'nin temel fonksiyonu, kolesterolü periferik hücrelerden karaciğere taşımaktır. Büyük moleküler yapılı, yüksek molekül ağırlıklı ve düşük yoğunlukta olan β-lipoproteinlerin lipid içeriklerinin fazla, protein içeriklerinin düşük olmasına rağmen, küçük moleküllü, düşük molekül ağırlıklı ve yüksek yoğunlukta olan α-lipoproteinlerin kolesterol içerikleri düşük, protein miktarları ise yüksektir. Lipid içeriği %15 TG, % 38 kolesterol ve % 4 fosfolipid şeklindedir (21).

2.4. DİSLİPİDEMİ PATOGENEZİ (DİSLİPİDEMİ İLE İLİŞKİLİ KRONİK HASTALIKLAR)

Dislipidemilerin çoğu etyolojide çok faktörlüdür ve diyet, aktivite, sigara, alkol kullanımı ve obezite ve DM gibi komorbid durumlar ile birlikte genetik etkilerin sonucuyla kendisini göstermektedir. Ailesel hiperkolesterolemi ve ailesel kombine hiperlipidemi prematür kardiyovasküler hastalıklara önemli ölçüde katkısı olan bozukluklardır. Ailesel hiperkolesterolemi doğumdan itibaren yüksek lipid seviyeleri ve tedavi edilmediğinde erken kardiyovasküler hastalık artışı ile beraberdir (28, 29).

Tip 2 DM sadece karbonhidrat metabolizması bozukluğu olmayıp aynı zamanda bir lipid ve protein metabolizması bozukluğudur. Diyabette TG yüksekliği, HDL-kol düşüklüğü ve küçük yoğun LDL-kol oranı artışı ile karakterize bir dislipidemi görülür. DM'li bireylerde koroner arter hastalığı riskinin artması kısmen diabetes mellitusta görülen lipoprotein anormallikleriyle açıklanmaktadır (30). Tip 2 DM'li hastalarda dislipidemi çok yaygın olarak görülmektedir. Dislipidemi tanı anında veya prediyabetik dönemde dahi var olan bir durumdur. Ayrıca rutin kan şekeri düşürülmesine yönelik tedaviye rağmen varlığını sürdürmektedir. Diyabetik hastaların yaklaşık %70- 97'sinde bir veya daha fazla lipid bozukluğu bildirilmiştir (30). Diyabette, TG yüksekliği, HDL-kol düşüklüğü ve küçük yoğun LDL-kol yoğunluğu oranında artışla karakterize, birbirleriyle ilişkili bir lipid ve lipoprotein metabolizması bozukluğu görülür (30).

Yapılan çalışmalar dislipidemisi olan tüm bireylerde uygun tedavi ile kardiyak ölüm, nonfatal miyokard infarktüsü, inme, revaskülarizasyon işlemleri ve periferik arter hastalığı riskinin %25-80 oranında azaltılabileceğini göstermektedir (19, 31). Kolesterol düzeyi ile koroner arter hastalığı (KAH) mortalitesi arasında lineer bir ilişki söz konusudur. T-kol'de her 20 mg/dL artış, KAH mortalitesinde %12'lik bir artışa sebep

olmaktadır. Ayrıca Framingham Kalp Çalışması total kolesteroldeki her %1 yükselmenin KAH riskinde yaklaşık %2 artışa sebep olduğunu göstermiştir. Klinik çalışmalarda, LDL düzeyinin düşürülmesi ile kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin azaldığı tespit edilmiştir (32). Ancak erişkin hastaların sadece %20'sinin ulusal kılavuzlara göre tedavisi yapılabilmektedir (31). Tedavi kılavuzlarında lipid düzeylerinin hangi seviyede olması gerektiği ve ne şekilde tedavi edilebileceği açıkça vurgulanmaktadır. Ancak bu hedef değerlere ne kadar ulaştığımız konusu yeteri kadar açık ve net değildir. Ekonomik imkanları çok iyi olan ülkelerde bile dislipidemisi olan bireylerin %70- 80'i NCEP-ATP III' de bildirilen hedeflere ulaşamamaktadır (19). NCEP-ATP III kılavuzu diyabeti koroner kalp hastalığı risk eşdeğeri olarak kabul etmektedir (19).

Obezite ile dislipidemi ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Hiperinsülinemi ve abdominal obezite subkütan yağ dokusundan gelen serbest yağ asitlerinin artmasına bağlı olarak karaciğerde VLDL sentezini ve salınımını artırmaktadır. Bunun sonucunda TG ve LDL düzeyi artarken HDL düzeyi azalmaktadır (33, 34, 35).

2.5. DİSLİPİDEMİ TEDAVİSİ

Dislipidemik hastada risk değerlendirmesi ve LDL-kol yüksekliğine yaklaşımda; 1. Adım, dislipidemik hastada ilk olarak lipoprotein düzeylerine göre risk değerlendirilmesi yapılır. Dislipidemi tanısı için standart olarak ölçümü önerilen dört parametre bulunmaktadır; T-kol, TG, LDL-kol ve HDL-kol. T-kol düzeyleri kardiyovasküler riskin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Bu lipid parametrelerinin normal olarak kabul edilen düzeyleri Tablo 2.1'de verilmiştir. 2. Adımda, lipoprotein düzeyleri belirlendikten sonra KAH ve eşdeğeri hastalık aranmalıdır. KAH ve eşdeğeri hastalık varlığında hasta çok yüksek risk grubunda olacağından risk skoru hesaplanmasına gerek yoktur. Bu hastalara sekonder koruma amaçlı tedavi planı yapılmalıdır. KAH ve eşdeğeri hastalık yok ise hastanın toplam kardiyovasküler riski değerlendirilmelidir. 3. Adım; Toplam kardiyovasküler riskin değerlendirilmesidir. Risk değerlendirmesi amacıyla farklı risk hesaplayıcıları bulunmaktadır. Ancak, bu hesaplayıcılardan hiç biri Türk erişkin toplumu için belirlenmemiştir. Avrupa Kardiyoloji Derneği tarafınca geliştirilen Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE) hesaplama sistemi ile yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, sistolik kan basıncı ve TK gibi risk faktörlerine göre kardiyovasküler hastalık riski yüksek popülasyonlarda 10

yıllık ölümcül aterosklerotik kardiyovasküler hastalık (ASKVH) riski hesaplanmakta olup daha net ve belirleyici olduğunu söylemek mümkündür. Bu nedenle Türk toplumu için uyarlanmış-kabul edilebilir bir sistem kullanıma girene kadar toplam kardiyovasküler risk değerlendirmesinde SCORE sisteminin kullanımı önerilmektedir. Hesaplanan 10 yıllık kardiyovasküler ölüm riski %1'den düşükse risk düşük, %1-5 arasında orta, %5'den yüksek olanlarda yüksek ve %10'dan fazla ise çok yüksek kabul edilir (Tablo 2.2). SCORE hesaplayıcısında sadece yaş, cinsiyet, sigara içimi, T-kol ve sistolik kan basıncı parametreleri kullanıldığından hastada diğer risk faktörleri varlığında (Düşük HDL-kol veya yüksek TG düzeyleri, obezler, sedanter yaşam sürenler vb.) riskin hesap edilenden daha yüksek olacağını unutmamak gerekir. 4. Adım, ilaç tedavisine karar verilmesidir. Dislipidemi olgularında tedavi kararı verirken lipid düzeylerinin ne kadar yüksek olduğu ve hastanın toplam kardiyovaskuler riskinin ne kadar fazla olduğu önemlidir. Bu nedenle hastanın LDL-kol düzeyleri tespit edildikten sonra Tablo 2.2'de yer alan risk kategorilerinden hangisinde yer aldığı tespit edilir. Tedavi kararı verirken ve tedavi hedeflerini belirlerken ilk olarak dikkate alınacak LDL-kol'dür. Kanıtlanmış ASKVH varlığında, diyabetik bireylerde ve TG düzeyi 200-500 mg/dL aralığında olan bireylerde ise Non-HDL-kol tedavi hedefi olarak alınabilir. (Non-HDL-kol: LDL-kol + 30 mg/dL). TG düzeyleri çok yüksek ise (> 500 mg/dL) öncelikle TG düşürücü tedaviler olmalıdır. LDL-kol yüksekliğinde statin tedavisi başlanmalıdır (17).

Özetle, dislipidemi tedavisinde KAH riskini etkileyen ve LDL kolesterolü düşüren diyet, fazla kiloların verilmesi, egzersiz ve sigaranın kesilmesi gibi tedavi edici yaşam tarzı değişiklikleri bütün hastalara önerilmektedir. Ancak bu çoğunlukla yetersiz kalmakta, KAH riskine göre dislipidemisi olanlarda belirli LDL-kol düzeyleri hedef alınarak çoğunlukla 3-hidroksi-3-metil-glutaril koenzim A redüktaz (HMG-CoA redüktaz) inhibitörleri, yani statinler kullanılmaktadır (17).

Tablo 2.2. SCORE Risk tablosunda toplam kardiyovasküler risk kategorileri (17).

Total risk	**(10 yıllık Ölümcül ASKVH riski, %)**
Düşük	< %1
Orta	%1 ile < %5
Yüksek	%5 ile < %10 veya aşağıdakilerden herhangi birinin varlığı Tek bir ASKVH riskin çok yüksek olması (ör: Familyal dislipidemi veya şiddetli HT) Komplikasyon gelişmemiş Tip1 veya Tip 2 DM Orta düzeyde KBH (GFR 30-59 ml/dk/1.73 m2)
Çok yüksek	> = %10 veya aşağıdakilerden herhangi birinin varlığı Kanıtlanmış ASKVH Komplikasyon gelişmiş Tip1veya Tip 2 DM Şiddetli KBH (GFR < 30/dk/1.73 m2)

2.5.1 StatinTedavisi

Statinler (HMG-CoA redüktaz inhibitörleri), LDL-kol dışında HDL-kol düşüklüğü, TG yüksekliği, apo-B yüksekliği ve LDL-kol partikülleri üzerinde de etkili olmaktadır. Böylelikle bunlardan kaynaklanan aterojenik dislipideminin de en önemli tedavi yöntemini oluşturmaktadır.

Statinlerin lipid düşürücü etkileri, 1976 yılında Endo ve ark. (36) tarafından keşfedilmiştir. 1980'lerin sonlarında klinik uygulamaya geçmiştir. İlk jenerasyon statinlerden simvastatin, pravastatin ve fluvastatin ile yapılan çalışmalarda bu ilaçların hepsinin güvenli ve etkin olduğu gösterilmiştir. Dünyada en çok reçete edilen statin olan atorvastatin 1997 yılında üretilmiştir. Birçok çalışmada pravastatinin lovastatin ve simvastatin ile gözlenen sonuçlar gibi, güvenli ve etkin olduğu gösterildi. Yeni bir statin olan rosuvastatin 2003 yılında kullanılmaya başlandı (37,38). Rosuvastatinin diğer statinlere göre LDL-kol, TG ve non-HDL kolesterol düzeylerinde daha fazla düşüş,

HDL-kol düzeylerinde ise daha fazla artış yaptığı saptanmıştır (38). Statinlerin serum lipidleri üzerinde olan etkileri Tablo 2.3'te gösterilmiştir (4, 39).

Tablo 2.3. Statinlerin FDA onaylı dozlarında serum lipidleri üzerindeki etkileri (4).

Statin	LDL kolesterol Yüzde ↓	HDL kolesterol Yüzde ↑	Total kolesterol Yüzde ↓	Trigliserid Yüzde ↓
Atorvastatin	26-60	5-13	25-45	17-53
Fluvastatin	22-36	3-11	16-27	12-25
Fluvastatin XL	33-35	7-11	19-32	19-25
Lovastatin	21-42	2-10	16-34	6-27
Lovastatin XL	24-41	9-13	18-29	10-25
Pravastatin	22-34	2-12	16-25	15-24
Rosuvastatin	45-63	8-14	33-46	10-36
Simvastatin	26-47	8-16	19-36	12-34

Kolesterol sentezinin büyük bir kısmı gece olduğu için kısa yarı ömrü olan statinler özellikle gece yatmadan önce alınması tavsiye edilir. Böylece, statinler gece verildiklerinde daha fazla kolesterol düşüşü sağlanmış olur. Karaciğerden ilk geçişte temizlenmeleri genellikle yüksek olup, yarılanma ömürleri genelde kısadır; atorvastatinin yarılanma ömrü uzun olduğu için sabah verildiğinde aynı derecede etki gösterebilir. Statinler genellikle iyi tolere edilirler, klinik açıdan en önemli yan etkileri hepatotoksisite, rabdomiyoliz ve ilaç etkileşimleridir. Büyük statin çalışmaları giderek artan sayıda olguyu ve yüksek dozları içermelerinin yanında, bizlere statin kullanımı emniyeti bakımından yeterli güvenceyi vermektedir (39, 40). Statinler elde edilişlerine göre doğal ve sentetik olarak ikiye ayrılırlar:

1. Doğal statinler: Mevastatin, lovastatin, pravastatin.
2. Sentetik statinler: Fluvastatin, atorvastatin, rosuvastatin.

Statinler metabolizmalarına göre hidrofilik ve lipofilik olarak ikiye ayrılırlar:

1. Hidrofilik statinler: Pravastatin, rosuvastatin.
2. Lipofilik statinler: Lovastatin, simvastatin, pravastatin, atorvastatin.

Lipofilik statinler doku ve karaciğere özgüdür ve vücuttan atılabilmek için karaciğerde metabolize olup hidrofilik şekle dönüşürler. Ön-ilaç şeklinde hücre duvarından

perfüzyonla geçerler. Hidrofilik statinler ise hücre duvarını sodyumdan bağımsız safra asidi transporteri yardımıyla geçebilirler. Doku selektiviteleri düşüktür (41). Statinler aynı zamanda aterom progresyonunu önlemede ve regresyon sağlamada da etkili ilaç grubu olarak kabul edilmektedirler. Mortalitedeki azalma, ortalama kolesterol seviyesinde ki düşüşle orantılı bulunmuştur (42).

TSH: Hipotiroid hastalarda hipotiroidiye sekonder hiperlipidemi sıktır, ayrıca hipotiroidi myopati riskini artırır.

Transaminazlar: ALT ve AST düzeylerinin bakılması takipte karşılaştırmayı sağlar.

Kreatinin: Hastanın statin öncesinde böbrek fonksiyonlarında bozukluk varsa kreatinin klerensi de istenmeli, <30 mL/dakika değerlerinde doz ayarlanmalıdır.

Kas yakınmaları olmayan bir hastada tedavi öncesinde kreatin kinaz enzimi bakılmasının yararı yoktur, önerilmez.

6. Tedavi başlandıktan sonra statin yan etkileri ve ilacın etkinliğinin kontrolü

7. LDL-kol hedefine ulaşıldıktan sonra idame tedavisi açısından hastanın değerlendirilmesi (17).

2.6. DNA HASARI

Genetik bilgiyi taşıyarak, nesilden nesile aktarılmasını sağlayan DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür ve üzerinde çeşitli faktörlere bağlı olarak sürekli olarak hasar oluşmaktadır. Oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından tamir edilmekle birlikte, hasarın çok fazla olduğu veya tamir sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda DNA üzerinde oluşan hasar, hücre ölümüne kadar varan etkilere neden olur. DNA hasarının yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immun sistem hastalıkları, dejeneratif hastalıklar gibi doku fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan hastalıkların etyolojisinde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (43, 44).

Genomik DNA'nın bütünlüğü, farklı DNA hasarlarına neden olan ultraviyole, X-ışınları, kimyasal bileşikler gibi çevresel ajanlar ile de sürekli tehdit altındadır. Hücresel metabolizmanın yan ürünü olarak üretilen serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA hasarına neden olmaktadır (45). Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollarla cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apopitoz yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını DNA tamir mekanizmaları ile tamir edebilir. DNA hasarı replikasyon sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak

genomik kararsızlığa neden olur. DNA'da birçok özgün değişimi içine alan genomik kararsızlık, hem kanserin hem de yaşlanmanın önemli bir belirtisidir (46).

Canlıların DNA'larında meydana gelen hasarlar; Ames testi, *in vivo* memeli fare kemik iliği kromozom aberasyon testi, *in vivo* memeli eritrosit mikronukleus (MN) testi, *in vitro* memeli hücre gen mutasyon testi, bakteri kullanarak yapılan geri mutasyon testleri ile belirlenmektedir. Kromozom aberasyon (KA: CA) testi, kardeş kromatid değişimleri (Sister Chromatid Exchange; KKD) testi ve MN testi, memeli hücrelerindeki DNA'da meydana gelen hasarın ve genotoksik etkilerin sitogenetik açıdan araştırılmasında *in vivo* ve *in vitro* olarak kullanılabilen genotoksisite yöntemleridir (47, 48).

2.7. SİTOKİNEZ BLOKE MİKRONUKLEUS (CBMN) YÖNTEMİ

MN oluşumu ilk olarak William Henry Howell ve Justin Marie Jolly tarafından eritrositlerde tanımlanmıştır. Bu nedenle Howell-Jolly cisimciği adı da verilmektedir (49). MN testi 1950'lerde bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde, 1970'lerde hayvan hücrelerinde ve daha sonra Heddle ve arkadaşları tarafından kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenleri belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fenech ve arkadaşları tarafından da bu yöntemin lenfositlerde ve diğer hücrelerde kullanılması geliştirilmiştir (47, 50).

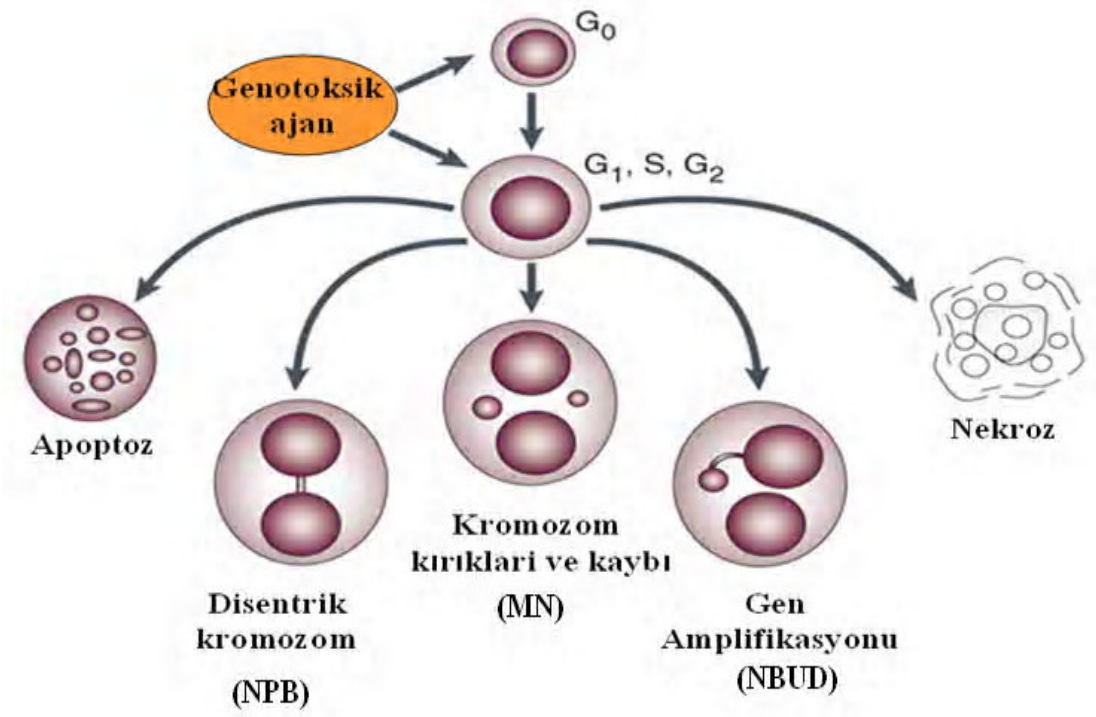
MN, hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom parçalarından köken alan oluşumlardır. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak kabul edilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (51, 52). Günümüzde, hızlı endüstrileşmeye bağlı olarak çevresel kirliliğin giderek artmasıyla, canlılar daha fazla fiziksel ve kimyasal ajana maruz kalmakta dolayısıyla güçlü toksik, mutajenik, karsinojenik ve teratojenik faktörlerin olumsuz etkilerini tespit etme ve önlemler alma ihtiyacı kaçınılmaz olmaktadır. Bu nedenle MN testi, sitogenetik harabiyetin tespitinde, kromozom analizine göre daha kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılması ve istatistiksel yönden daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi avantajları ile yaygın kullanım alanı bulan bir teknik olmuştur (53-54).

Son yıllarda yapılan HUMN databaz analizi gibi çalışmalar sonucunda, MN yöntemi, doğruluğu açısından, genom hasarı gibi patolojik durumların araştırılmasında güvenilir bir yöntem olması yönüyle, periferal kan lenfositlerinde MN frekansının kanser riskinin belirlenmesinde bir biyomarkır olarak kullanılabileceği kabul edilmiştir (55, 56).

Sitokinez blok mikronükleus (CBMN) yöntemi, sitokalazin-B'nin (cytochalasin-B; cyt-B) hücre bölünmesini sitokinez evresinde durdurması özelliği temel alınarak tanımlanmıştır (57-58). Cyt-B, orijinal olarak *Helminthosporium dematioideum* isimli mantardan elde edilen bir mikotoksindir. Cyt-B hücre bölünmesini sitokinez evresinde aktin filamentlerini etkileyerek durdurur ve sitokinezi bloke edilmiş bi-nükleer (BN) hücreler elde edilir. Bu etkisini de aktin filamentlerin ucuna bağlanarak, aktinin polimerize olmasını önleyerek gerçekleştirir (59, 60).

CBMN yöntemi, kromozomal hasarın, genomik karasızlığın ve kanser riskinin bir belirteci olarak kullanılan genotoksisite yöntemidir. CBMN yöntemi son yıllarda, Fenech tarafından CBMN sitom (CBMN cyt) yöntemi olarak geliştirilmiştir (50, 61). Bu yöntemle de eş zamanlı olarak; kromozom instabilitesi/genom hasarı, hücre çoğalması ve hücre ölümü tespit edilebilmektedir. Kısaca;

- *DNA hasarı için;* kromozom kırıkları ve/veya kromozom kayıplarını (anöploidi) gösteren MN'lar; gen amplifikasyonlarını gösteren nükleer tomurcuk (nuclear buds; NBUD)'lar; hatalı DNA tamirlerini ve/veya telomer uç birleşmelerinin sonucu oluşan disentrik kromozomları gösteren nükleoplazmik köprü (nucleoplasmic bridges; NPB)'ler değerlendirilir.
- *Hücre çoğalması için;* mono-nükleer, bi-nükleer, multi-nükleer hücreler skorlanarak, hücre çoğalma oranları hesaplanır.
- *Hücre ölümü için;* apopitotik ve nekrotik hücreler skorlanır (Şekil 2.2.) (50, 61).



Şekil 2.2. Çeşitli sitotoksik ve genotoksik ajanlara maruz kaldıktan sonra, kültüre edilmiş sitokinez-bloke hücrelerin olası kaderi (MN:mikronukleus; NPB:nükleoplazmik köprü, NBUD:nükleer bud) (50).

2.8. CBMN CYT YÖNTEMİ İLE HÜCRELERİ TANIMLAMA KRİTERLERİ

Sitokinezi bloke edilmiş BN hücrelerde, MN, NPB ve NBUD frekanslarını değerlendirebilmek için, BN hücreler aşağıdaki kriterleri içermek zorundadır(50, 61):

- Hücreler iki çekirdekli olmalıdır.
- BN hücredeki iki çekirdeğin boyutu yaklaşık olarak aynı olmalı ve yoğun boyanmalıdır.
- BN hücredeki iki çekirdek, nükleoplazmik bir köprü ile bağlanabilir. Bu nükleoplazmik köprü, çekirdek çapının ¼'ünden büyük olmamalıdır.
- BN hücredeki iki çekirdek birbirine temas edebilir, ancak ideal olarak birbirinin üzerine çıkmamış olmalıdır. İki çekirdeği üst üste çıkmış olan bir hücre eğer her bir çekirdeğin çekirdek sınırları ayırt edilebiliyorsa sayılmalıdır.
- BN hücrenin sitoplazmik sınırı ya da zar yapısı bozulmamış olmalı ve komşu hücrelerin sitoplazmik sınırından açıkça ayırt edilebilmelidir.

2.8.1. DNA hasarı (MN, NPB ve NBUD) için değerlendirme kriterleri;

MN sayma kriterleri

MN'lar morfolojik olarak çekirdek ile aynı ancak çekirdekten daha küçüktür. MN özellikleri aşağıda belirtilmiştir (Şekil 2.3.) (50, 61) :

a) İnsan lenfositlerindeki MN'ların çapı, genellikle ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında değişebilir.

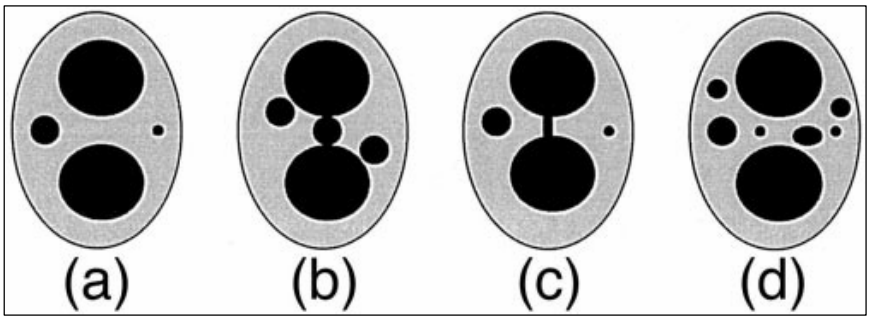
b) MN'lar kırılgan olmamalıdır ve böylece boyanan partiküller gibi artefaktlardan kolayca ayırt edilebilir olmalıdır.

c) MN'lar ana çekirdekle birleşmiş veya bağlantılı olmamalıdır.

d) MN'lar ana çekirdeğe temas edilebilir ancak üstüne binmiş olmamalıdır ve mikronükleer sınır çekirdek sınırından ayırt edilebilir olmalıdır.

e) MN'lar genellikle ana çekirdekle aynı yoğunlukta boyanmalıdır, ana çekirdek bazen daha yoğun (koyu) boyanabilir.

f) Hücrelerin 6 tane MN'dan daha fazlasını içermemesi gerekir.



Şekil 2.3. BN hücre içindeki MN'nin morfolojik görüntüsü.
(a) MN'ların çapı ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'üarasında değişebilir;
(b) Üst üste binmemiş, BN hücreye temas eden MN'ler;
(c) İki MN içeren birbirine NPB ile bağlı BN hücre;
(d) Farklı boyutlarda altı MN içeren BN hücre (61).

NPB sayma kriterleri

NPB'ler, BN hücrenin içinde çekirdek ile bağlantılı ve DNA içeren bir yapıdır. NPB'ler, yanlış tamir edilmiş DNA kırıklarının veya telomer uç birleşmelerinin

sonucu oluşan disentrik kromozomlardan orijin alır. Bu sentromerler anafaz boyunca karşı kutuplara çekilir. NPB' ler aşağıdaki özellikleri içerir (Şekil 2.4.) (50, 61) :

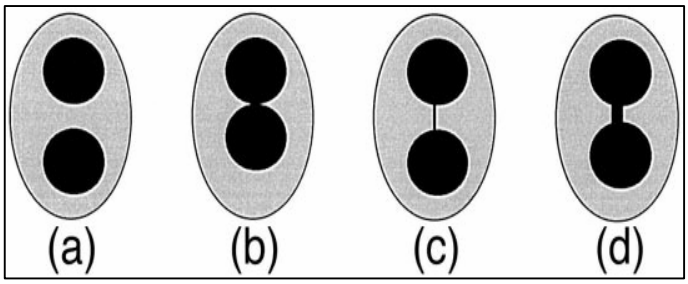
a) NPB'lerin genişliği çok önemlidir ancak hücredeki çekirdeğin boyutunun ¼' ünü geçemez.

b) NPB'ler aynı zamanda ana çekirdek ile aynı boyanma özelliklerine sahiptir.

c) Nadiren bir BN hücrede birden fazla NPB gözlenebilir.

d) NPB içeren bir BN hücre bir ya da daha fazla MN içerebilir.

e) Bir yada daha fazla NPB içeren BN hücre, MN içermeyebilir.



Şekil 2.4. BN hücre içindeki NPB'nin morfolojik görüntüsü (a) İdeal BN hücre; (b) Çekirdekleri birbirine değen BN hücre; (c) Dar bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre; (d) Geniş bir NPB ile birbirine bağlı BN hücre (61).

NBUD sayma kriterleri

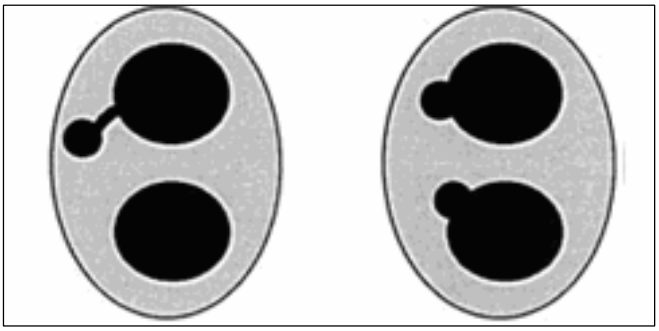
NBUD'lar, amplifiye DNA ve DNA tamir komplekslerinin eliminasyonunun işaretidir ve aşağıdaki karakteristik özellikleri içerir (Şekil 2.5.) (50, 61):

a) NBUD'lar, MN'lara benzer görünümdedir, ancak farkı NBUD'un çapından daha dar bir köprü veya çok daha ince bir köprü ile çekirdeğe bağlı görünümde olmasıdır.

b) NBUD'lar, genellikle MN ile aynı boyanma yoğunluğuna sahiptir.

c) Nadiren NBUD'lar çekirdekle bitişik bir vakuol içinde yerleşmiş olarak görünebilir. Çekirdeğe değen bir MN'dan NBUD'u ayırmak zor olsa da bu NBUD olarak kabul edilir.

Çekirdekte bir nükleer materyal çıkıntısı varsa ve çekirdekten açık bir ayırımı yoksa NBUD olarak sınıflandırılamaz. Bu oluşumlara nükleer bleb (kabarcık) adı verilir. Bunun önemi bilinmemektedir.



Şekil 2.5. BN hücre içindeki NBUD' un morfolojik görüntüsü (61).

2.8.2. Sitostatik etkiler için, Bir- (mono-nükleer), iki- (bi-nükleer), üç- (tri-nükleer) ve dört- (tetra-nükleer) çekirdekli hücreleri sayma kriterleri;

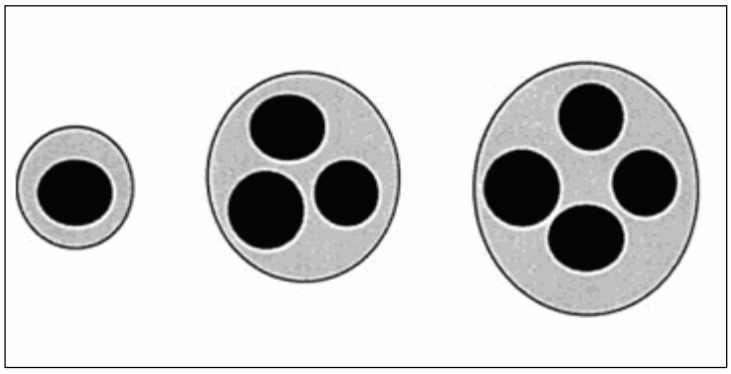
Mono-nükleer, bi-nükleer, tri-nükleer ve tetra-nükleer hücrelerin frekansı, sitostatik etkileri ve mitotik bölünme oranını belirlemek için ölçülür. Nükleer bölünme oranı, nükleer bölünme indeksi (Nuclear division index; NBI) formülü ile bir ve çok çekirdekli hücre sayıları kullanılarak hesaplanabilir. Bu hücre tipleri aşağıdaki özellikleri içerir (50, 61) (Şekil 2.6.):

a) Bir-, iki-, üç- ve dört- çekirdekli hücreler, bütünlüğünü koruyan bir sitoplazma ile normal çekirdek morfolojisi gösteren canlı hücrelerdir. Bu hücreler, sırasıyla bir, iki, üç veya daha fazla çekirdek içerir.

b) Duruma göre iki çekirdekli veya çok çekirdekli hücreler bir veya daha fazla MN içerebilir veya içermeyebilir. Yine bu hücreler bir veya daha fazla NPB veya NBUD içerebilir veya içermeyebilir.

Nekrotik ve apopitotik hücreler canlı hücreler arasında sayılmazlar.

Nadir olarak, dört çekirdekten daha fazla çekirdek içeren hücreler eğer hücre döngüsü zamanı normale göre çok kısaysa veya sitokinez blok zamanı çok uzunsa gözlenebilir.



Şekil 2.6. Bir ve çok çekirdekli hücrelerin morfolojik görüntüsü (61).

NBI hesaplanması

NDI canlı hücrelerin bölünebilme durumunun ölçümünü sağlar. Bundan dolayı NDI, sitostatik etkilerin göstergesidir ve lenfositlerde aynı zamanda immun fonksiyonun belirteci olan mitojenik yanıtın ölçümünü sağlar. NDI, Eastmond ve Tucker'ın metoduna göre hesaplanır (62). 1, 2, 3 ve 4 çekirdek içeren hücrelerin frekansını belirlemek için 500 veya 1000 canlı hücre sayılır ve formül kullanılarak NDI hesaplanır.

NDI= (M1+ 2 M2+ 3 M3+ 4 M4 / N)

M1- M4; 1-4 çekirdek içeren hücrelerin sayısını belirtir ve N, hesaplanan toplam canlı hücre sayısını belirtir (nekrotik ve apopitotik hücreler hariç). NBI lenfositlerin mitojenik yanıtı ve çalışmada kullanılan ajanların sitostatik etkilerinin değerlendirilmesinde kullanışlı bir parametredir. En düşük NBI değeri olasılıkla 1.0'dır. Sitokinez-blok periyodu süresince bölünme başarısız olursa ve bundan dolayı tamamı mononükleer kalırsa bu durum oluşur. Eğer tüm canlı hücreler bir nükleer bölünmeyi tamamlar ve bundan dolayı hepsi binükleer olursa NBI değeri 2.0'dır. Eğer sitokinez-blok fazı boyunca birden fazla nükleer bölünmeyi tamamlayıp ve bundan dolayı 2'den fazla çekirdek içeren canlı hücrelerin oranı fazlaysa, bu durumda NBI değeri 2'den fazla olabilir (50).

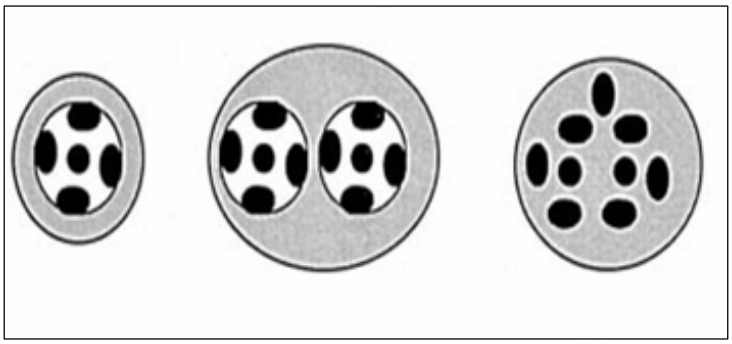
2.8.3. Sitotoksik etkiler için, apopitotik ve nekrotik hücreleri sayma kriterleri;

Apopitotik lenfositler, programlanmış hücre ölümü geçiren hücrelerdir. Bu hücreler aşağıdaki özelliklere sahiptirler (50, 61):

a) Erken apopitotik hücreler, çekirdek içinde kromatin yoğunlaşmasının varlığı ve bütünlüğünü koruyan sitoplazma ve çekirdek membranı ile ayırt edilebilir.

b) Geç apopitotik hücreler, bütünlüğünü koruyan sitoplazma ve sitoplazmik membran içinde daha küçük nükleer cisimcikleri oluştururlar.

c) Her iki apopitotik hücrede bu nükleer cisimciklerin, sitoplazmanın ve çekirdeğin yoğun boyanması, diğer tüm canlı hücrelere nazaran genellikle daha çok gözlenir (Şekil 2.7.).



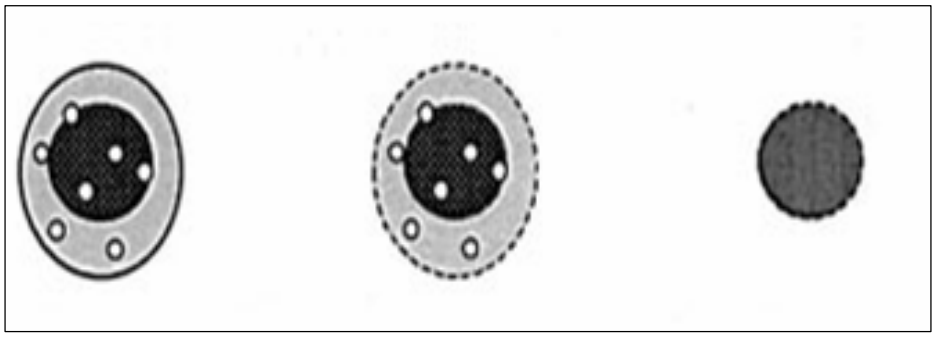
Şekil 2.7. Apopitotik hücrelerin morfolojik görüntüsü (61).

Nekroz alternatif bir hücre ölüm şeklidir ve hücresel membranın, organellerin ve/veya hücrenin yaşamını devam ettirebilmesi için gereken enerji metabolizması gibi kritik metabolik yolların hasarına bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Nekrotik lenfositler aşağıdaki özellikleri içerir (50, 61) :

a) Erken nekrotik hücreler, soluk sitoplazmaları, çok sayıda vakuol bulunması (genellikle sitoplazma içinde ve bazen çekirdek içinde), hasarlı sitoplazmik membranının olması ve hemen hemen sağlam olan çekirdeğinin bulunması ile ayırt edilebilir.

b) Geç nekrotik hücreler, sitoplazma kaybı ve hasarlı/düzensiz çekirdek membranı, kısmen sağlam çekirdek yapıları ve sıklıkla çekirdek materyallerinin parçalar halinde çekirdekten çıkması ile ayırt edilebilir.

c) Her iki nekrotik hücrede, çekirdek ve sitoplazmanın boyanma yoğunluğu diğer canlı hücrelere göre genellikle daha az gözlenir (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Nekrotik hücrelerin morfolojik görüntüsü (61).

2.9. OKSİDATİF STRES

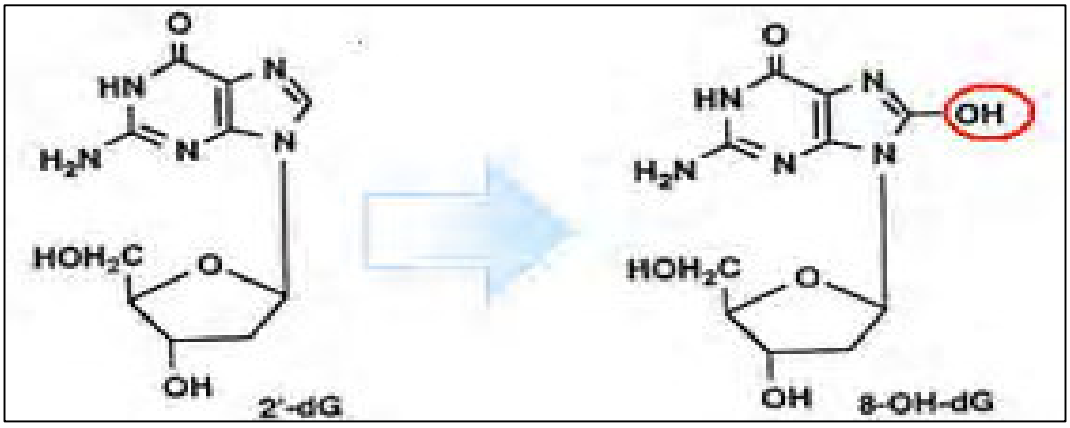
Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme, bu dengenin bozulmasına neden olur. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum özetle, prooksidanlar ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulması ile oluşur (63).

Serbest radikaller, organizmada metabolik reaksiyonlar sırasında endojen olarak meydana gelebildikleri gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşabilirler. Tablo 2.4'de serbest oksijen radikallerinin kaynakları listelenmiştir (64).

Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA'da baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları (kromozom kırıkları), DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (65). Bu hasara uğrayan bazlar arasında 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarının göstergesidir (65-66). Modifiye bir baz olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, DNA'da guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikalinin bağlanması sonucu oluşur (Şekil 2.9.). DNA replikasyonu sırasında, G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır (65-66) ve bu bileşiğin DNA'yı tamir edici enzimler tarafından ortadan kaldırılması da yeni genetik hatalara sebep olur (67). Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte olup oksidatif DNA hasarını belirlemek için kullanılan en yaygın yöntemdir (67-68).

Tablo 2.4. Oksijen Radikallerinin endojen ve eksojen kaynakları (64)

Endojen kaynakları	**Eksojen kaynakları**	
Mitokondrial elektron taşıma sistemi Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda elektron taşıma sistemi Peroksizomlar Plazma membranları Oksidan enzimler Araşidonik asid yolu Otooksidasyon reaksiyonları Fagositik hücreler	**Diyetsel Kaynaklar**	Fazla kalorili beslenme Aşırı demir ve bakır alınması Az sebze ve meyve tüketilmesi Yemek pişirme yöntemlerindeki hatalar
	Çevresel Kaynaklar	Sigara dumanı Hava kirliliği (ozon, nitrojen dioksit) Radyasyon (iyonize, ultraviyole) Çevre kirleticiler (asbest, pestisitler)
	İlaçlar	Antikanser ilaçlar (adriamisin) Glutatyon tüketen ilaçlar (kokain)
	Patojenik bakteri ve virüsler	



Şekil 2.9. DNA'daki oksidatif hasarın göstergesi olarak 8-OHdG oluşumu (68)

Oksidatif DNA hasarını doğru ve kesin ölçümüne yönelik farklı analiz yöntemleri denenmiştir. Ancak 8-OHdG'i ölçmek için sıklıkla tercih edilen iki yöntem vardır: Yüksek performanslı likit kromotografisi ve enzime bağlı immünosorban yöntemi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay; ELISA). DNA hasar ürünlerinin spesifik

tiplerinin kantitatif analizi için kullanılan immünoassay yöntemlerden ELISA ile 8-OHdG boyanması monoklonal antikorlar kullanılarak yapılır ve 8-OHdG düzeyi boyanmanın yoğunluğuna bağlı olarak değerlendirilir (69).

ELISA'nın avantajları şunlardır (70) :

a) Kullanımının kolay olması

b) Uzmanlık isteyen donanıma ihtiyaç olmaması

c) Serum, plazma, idrar gibi birçok vücut sıvısında çalışılabilmesi

d) Santrifüj dışında ön çalışmaya gerek olmaması

e) Yüksek miktarda veri sunması.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

Demirbaş Malzemeler

1. Etüv (Heto Cell Hause 200)
2. Su banyosu (Thermal)
3. Vorteks (Janke & Kunkel VF2)
4. Mikroskop (Nikon Labophot 2 ve Zeiss Primo Star model)
5. Santrifüj (ALC PK 110 ve Nüve NF 815)
6. Hassas terazi (Ohaus Pioneer)
7. Derin dondurucu
8. Buzdolabı
9. Dengeleme terazisi
10. Otomatik pipet (Nichipet EXII)
11. Dispenser (Walu simplex; Dispensette Brand)
12. Otomatik pipet tabancası (LLG Labware)
13. Laminar air flow kabin (Safe Fast Elite Faster)
14. Fotomikroskop (Leica DM 2500)
15. Elisa Cihazı (Biotek-Epoch Multi-Volume Spectrophotometer System)

Sarf Malzemeler

1. Komple Kültür Medyum, (Biological Industries, B-01-198-1B) Peripheral Blood Karyotyping Medium (Complete culture medium w/o phytohemagglutinin),
2. Fitohemaglutinin (Biological Industries, B1-12-006-1H)
3. Sitokalazin-B (Sigma, C-6762)
4. Dimetil sülfoksit, DMSO (Merck)
5. Heparinli tüp (Vacutest kima srl-vacuum tubes)
6. Giemsa (Merck, 5400512)
7. KH_2PO_4 (Merck, 9021622)
8. $Na_2HPO_4.2H_2O$ (Merck, K1690176)
9. Glasial asetik asit (Merck, 247K18855556)
10. Metanol (Merck, 502K05275408)
11. Ksilol (Merck, 207K037553)
12. Entellan® (Merck, 640171987)
13. İmmersiyon yağı® (Merck, 09403569)
14. KCL (Merck, 340TA611835)
15. Alkol (%96'lık Tekel)
16. Distile su
17. Tüplük
18. Çeşitli cam malzemeler
19. Konik tabanlı 10ml'lik steril kültür tüpü
20. Enjektör
21. Çeşitli ebatlarda puarlar
22. Pastör pipeti
23. Filtre Kağıdı (Whatman Filter Papers 125 mm)
24. Lam (İsolab, 76x26 mm)
25. Lamel (İsolab, 24x32 mm)
26. 8-OHdG Eliza Kiti (NWK- 8OHdG02, Northwest Life Science Specialties, LLC, Vancouver, WA, USA

3.2. YÖNTEM

Çalışma Grubu

Bu çalışma Nisan 2014 ve Aralık 2015 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bölümüne başvuran dislipidemi teşhisi konulan hastalar üzerinde yapıldı. Çalışma öncesi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı (Etik kurul karar no: 2014/185).

Çalışma, her grupta 20 hasta (toplam 60 hasta) ve 20 sağlıklı birey olmak üzere toplam 80 kişi üzerinde planlandı. Hasta gruplarında tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere hastalardan iki kere kan alındı.

Çalışmada, çoğu hastalar tedavi sonrası kontrole gelmediklerinden dolayı 15 hasta ve aynı hastaların tedavi sonrası ile hastalarla benzer yaş ve cinsiyette toplam 15 sağlıklı kontrol bireyden alınan kan örnekleri üzerinde çalışma yapıldı.

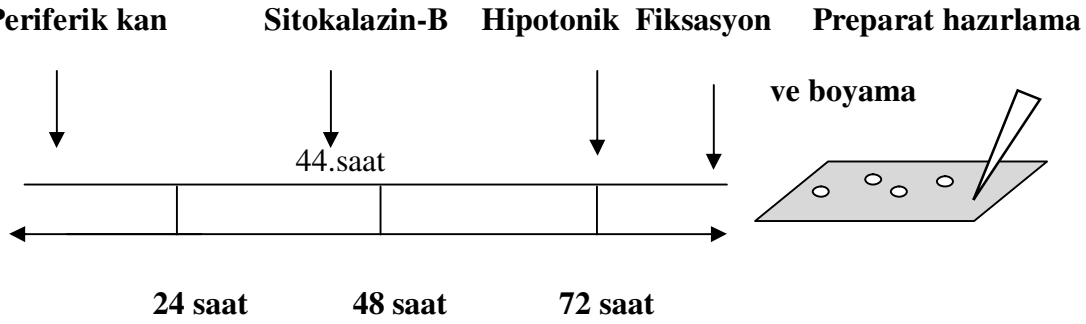
Hastalara lipid seviyelerine ve özelliklerine göre kabul edilebilir dozda statin tedavisi (5-10 mg/gün atorvastatin veya rosuvastatin) başlandı ve 3-6 ay arasında tedavi verildi.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların isim, soy isim, dosya numarası, yaş, cinsiyet, yaşadığı yer, telefon numaraları, sürekli kullandıkları ilaçlar, ailesel hastalıkları, diğer hastalıkları, alışkanlıkları, genotoksisite maruziyetleri, beden kitle indeksleri (BKİ), Bel kalça oranları (BKO), TG, LDL-kol, HDL-kol, T-kol değerleri tedavi öncesi ve sonrası şeklinde kaydedildi.

Ayrıca hasta ve kontrol kişilerin, az miktarda (1-3 fincan) çay içen, son altı ayda şiddetli enfeksiyon yada viral hastalık geçirmeyen, herhangi bir ilaç kullanmayan, bilinen genotoksik kimyasal bir ajana maruz kalmamış olan, farklı bir beslenme alışkanlığı olmayan, hipertansiyon, diyabet (diyetle regüle diyabet hariç), kalp, kanser gibi herhangi bir hastalığı olmayan ve ailede de kanser öyküsü olmayan kişiler olmasına dikkat edildi. Çalışmaya katılan kişilere çalışmanın amacı anlatılarak, yazılı onayları alındı.

CBMN Yöntemi

CBMN yöntemine göre özetle, hastalardan alınan kan örnekleri hücre kültür medyumu içeren kültür tüplerine eklendi ve 72 saatlik tam kan kültürü yapıldı. Kültürün 44. Saatinde cyt-B ilave edilerek binükleer hücrelerin oluşması sağlandı. 72 saatlik kültür sonrası kültür sonlandırılarak preparatlar hazırlandı (Şekil 3.1.) (6, 50, 71).



Şekil 3.1. *In vitro* CBMN yöntemi protokolü.

1. Kültür Ortamının (Besiyerinin) Hazırlanması

Besiyeri, steril ortamda fitohemaglutinin içermeyen 100 ml komple kültür medyumu içersine 2.5 ml fitohemaglutinin eklenerek ve elle yavaş bir şekilde bir kaç kez karıştırılarak hazırlandı. Hazırlanan kültür medyum yine steril ortamda 5'er ml olmak üzere steril vidalı kapaklı konik tabanlı kültür tüplerine bölünüp, 10-15 dakika laboratuarda bekletildikten sonra -20 ºC'ye kaldırıldı.

2. Kan Örneklerinin Alınması

Hastalara statin tedavisi başlamadan ve tedavi başladıktan en az 3 ay sonra hastaların ve herhangi bir sağlık problemi olmayan kontrol kişilerin yazılı onayları alındıktan sonra, heparinli tüplere 5'er ml periferik kan örnekleri alındı.

3. Kültür Tekniği

Önceden 37 °C'ye getirilmiş olan 5 ml kültür medyumu içeren kültür tüplerine steril ortamda, 12 damla (~0.4 ml) kan ilave edilerek ekimi yapıldı. Tüplerin üzerine kişi adı ve tedavi öncesi veya sonrası durumları yazıldı. Her bir kişi için 2 tüpe ekim

yapıldı. Tüpler hafifçe karıştırılarak 37 °C' lik etüvde 44. saatte binükleer hücre elde etmek için sitokalazin-B (cyt-B) eklenmek koşuluyla 72 saat kültüre edildi.

1 mg cyt-B (Sigma, 6762), 1 ml dimetil sülfoksitte (DMSO) çözdürüldü ve total 5 ml olacak şekilde medyumla sulandırılarak hazırlandı. Çıkarımın 44. saatinde kültür tüpleri etüvden çıkartılarak steril ortamda her bir tüpe 75 µl (final konsantrasyonu: 3µg/ml) cyt-B ilave edilerek tekrar etüve konuldu.

4. Çıkarım İşlemleri

MN elde etmek için kullanılan Fenech (6, 50) metoduna göre ve bazı modifikasyonlarla (71, 72) çıkarım işlemleri yapıldı.

0.1 M hipotonik solüsyonu, 1.864g KCL tartılıp distile su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Sırasıyla çıkarım işlemleri:

- 72 saat inkübasyondan sonra kültür tüpleri etüvden çıkartılarak 1200 rpm'de 6 dakika santrifüj edildi.
- Dipte 0.6-0.7 ml kalıncaya kadar üstteki süpernatantlar atıldı.
- Daha sonra tüplere laboratuar ısısında beklemiş olan 0.1 M hipotonik solüsyonundan 6 ml eklenerek 4 dakika laboratuar ısısında bekletildi.
- Hücreler hipotonik solüsyonunda bekletildikten sonra 1200 rpm'de 6 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatantları atılıp üzerine taze hazırlanmış soğuk fiksatiften 6 ml (3:1, metanol: glasial asetik asit) yavaşça damla damla ilave edilip bekletmeden 6 dakika 1200 rpm'de santrifüj edildi.
- Süpernatantları tekrar atılıp üzerine aynı fiksatiften 6 ml ilave edilip, 6 dakika 1200 rpm'de santrifüj edildi.
- Dipte 0.7 ml fiksatifli hücre bırakılarak süpernatantları tekrar atıldı ve bir gün buzdolabında (+4 °C) bekletildi.

5. Preparat Hazırlama

Lamlar temizlenerek içinde %70'lik metanol bulunan şaleye yerleştirilip soğuyuncaya kadar buzdolabı buzluğunda bekletildi. Daha sonra şaleden çıkarılan

lamlar iyice kurulandı. Pastör pipeti ile fiksatifli hücre içeren kültür tüplerine pipetaj yapılarak hücre süspansiyonundan pastör pipeti yardımıyla lamlara yakın mesafeden (1- 2 cm yukarıdan) 9-10 damla damlatıldı. Lamlara hafifçe üflenerek hücrelerin lam üzerine iyice dağılması sağlandı ve kurumaya bırakıldı. Her bir kişi için ve her bir hastanın tedavi öncesi ve sonrası için, bir kültür tüpünden 2 tane olmak üzere toplam 4 preparat hazırlandı. Her kültür tüpü için ayrı pastör pipeti kullanılarak farklı preparatlar hazırlandı ve lamlar ayrı ayrı kodlandı.

6. Preparatların Boyanması ve Saklanması

Sorenson boya tamponu (pH=7.0):

Sorenson boya tamponu 5.26 g KH_2P0_4 ve 8.65 g $Na_2HP0_4.2H_2O$ tartılıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

94 ml Sorenson boya tamponu üzerine 6 ml giemsa boyası eklenerek giemsa boyası hazırlandı. Kurumuş olan preparatlar yeni hazırlanan % 6'lık giemsada 8 dakika boyandıktan hemen sonra 2 kez distile su ile yıkanarak kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar ksilolden geçirildikten sonra entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

7. Lamların İncelenmesi

Hazırlanan preparatlarda ışık mikroskobunda X40 büyütmede;

- *DNA hasarı için*; 1000 binükleer hücre sayıldı ve bulunan MN, NBUD ve NPB sayıları kaydedildi.
- *Hücre ölümü için;* 1000 mononükleer hücre sayılırken gözlenen apopitotik ve nekrotik hücreler skorlandı.
- *Hücre çoğalması için;* 1000 mononükleer hücre sayılırken bulunan binükleer, multi nükleer hücreler skorlandı ve NDI formülü kullanılarak nükleer bölünme indeksi hesaplandı.

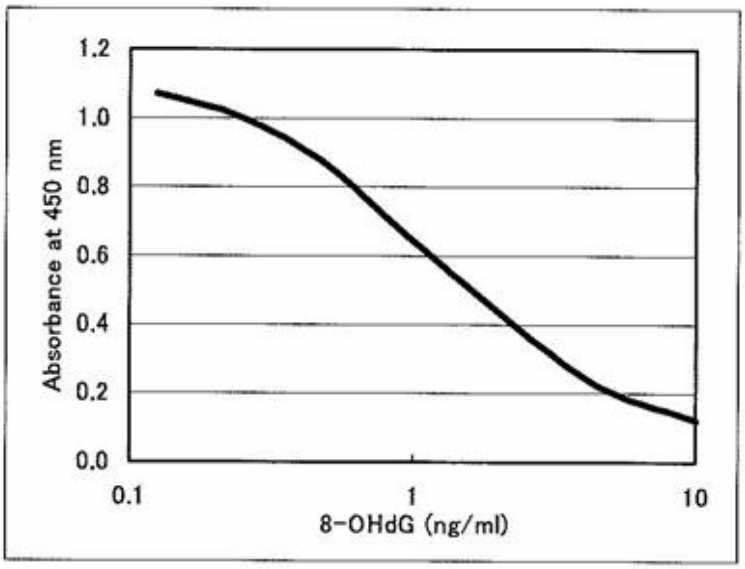
Her bir kültür için 1000 BN hücrede MN, NPB ve NBUD sayıları kaydedilirken görülen metafaz sayıları da kaydedildi. Prometafaz ve metafaz evresindeki bir, iki, üç ve dört çekirdekli hücreler de, metafaz olarak kaydedildi.

8. 8-OHdG seviyelerinin belirlenmesi

Kan örnekleri alındıktan hemen sonra 1500 devirde 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayırt edildi ve çalışma yapılıncaya kadar plazma örnekleri −80ºC'de depolandı. Plazma 8-OHdG seviyeleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuarında bulunan Biotek Marka ELISA cihazında ve Genom ve Kök Hücre Merkezindeki Araştırma Laboratuarlarında bulunan ELISA cihazında, ticari kit (NWK-8OHdG02, Northwest Life Science Specialties, LLC, Vancouver, WA, USA) kullanılarak belirlendi.

İşlem

Reaktiflerin tamamı oda ısısına getirildi. Plaka üzerinde standartların ve örneklerin konulacağı kuyucuklar belirlendi, 50 µL standartlardan ve plazma örneklerinden kendileri için belirlenen kuyucuklara eklendi. Blank için ayrılan kuyucuğa da 50 µL PBS eklendi. Sulandırılmış primer antikordan blank haricindeki bütün gözlere 50 µL ilave edilip, içeriğin düzgün karışmasını sağlamak için plaka hafifçe çalkalandı. Ağız kısmına kapak yapıştırılan plaka bir gece boyunca +4°C'de inkübasyona bırakıldı. İçeriği boşaltılan kuyucukların her birine 250 µL yıkama tamponu ilave edilip, yıkamadan iyi sonuç almak için plaka yavaşça sallandıktan sonra içeriği boşaltıldı ve yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Yıkama işleminin ardından sulandırılmış sekonder antikordan her bir göze 100 µL eklenip, içeriğin karıştığından emin olmak için yavaşça çalkalandı. Yapışkan bant ile ağzı kapatılan plaka oda sıcaklığında bir saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası plaka içeriği boşaltıldı ve yıkama işlemi üç defa tekrarlandı. Plakanın her gözüne 100 µL TMB substrat eklendikten sonra hafifçe karıştırılarak karanlıkta ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Her bir göze 100 µL stop solüsyonu eklenerek 450 nm'de absorbansı okundu. Standart eğri ELISA kiti içinde mevcut olan standardize edilmiş örneklerden elde edildi (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Standart Kalibrasyon Eğrisi

9. İstatistiksel Değerlendirme

Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ve kontrollere ait CBMN cyt yöntemi parametreleri ve plazma 8-OHdG seviyeleri istatistiksel olarak nonparametrik testlerden Mann-Whitney U ve Wilcoxon testleri ile karşılaştırıldı. Ayrıca hastalara ait CBMN sitom yöntemi parametreleri ve plazma 8-OHdG seviyelerinin, yaş, BKİ, BKO, TG, LDL, HDL, Total Kolesterol değerleri ile ilişkisi Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Veriler, ortalama±standart sapma olarak verildi. P değeri < 0.05 olduğunda anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

15 dislipidemi hastasından tedavi öncesi ve sonrası ve 15 kontrol olmak üzere toplam 30 kişiden kan örnekleri alındı. Hastalara 3-6 ay arasında statin tedavisi verildi ve tedavi sonrası hedef LDL-kol düzeylerine (≤130 mg/dL) erişenlerden kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri materyal ve metotta belirtilen yöntemlere göre kültüre edildi ve kültür sonunda hazırlanan preparatlarda ışık mikroskobu yardımıyla CBMN cyt yöntemi parametreleri değerlendirildi. Ayrıca, hasta ve kontrol kişilere ait plazma örneklerinde 8-OHdG seviyeleri de ölçüldü.

Elde edilen preparatlar mikroskopta incelenerek, DNA hasarını belirlemek için, 1000 kadar BN hücreler sayıldı ve MN'lu, NPB'lü ve NBUD'lu BN hücreler kaydedildi. Sitotoksisiteyi belirlemek için, 1000 tane bir çekirdekli hücre sayılırken apopitotik ve nekrotik hücre sayıları da kaydedildi. Ayrıca, sitostatik etkileri belirlemek için, 1000 tane bir çekirdekli hücre sayılırken aynı zamanda iki çekirdekli (M2), üç çekirdekli (M3), dört çekirdekli (M4) her bir hücre skorlandı ve NDI oranları da hesaplandı.

Çalışmadaki tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ve kontrol kişilere ait demografik karakterler ve bazı antropometrik ölçümler Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışılan tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait demografik karakterler ve bazı antropometrik ölçümler (ortalama±S.S.).

	Kontrol	**Tedavi Öncesi**	**Tedavi Sonrası**
N	**15**	**15**	**15**
Kadın	**9**	**11**	**11**
Erkek	**6**	**4**	**4**
Yaş (yıl)	**49.00±7.38**	**51.93±10.11**	**51.93±10.11**
Tedavi süresi (ay)	**-**	**5.63±1.80**	**5.63±1.80**
BKİ (kg/m^2)	**24.73±1.62**	**30.47±4.91***	**29.85±4.60***
BKO	**0.85±0.14**	**0.93±0.08**	**0.93±0.10**

*Kontrol kişilere ait değerler ile karşılaştırma yapıldığında aralarında anlamlı fark bulunan değerler ($P<0.01$; Mann-Whitney U test). Tedavi öncesi ve sonrası BKİ ve BKO değerleri arasında ise anlamlı fark bulunamamıştır ($P>0.05$; Wilcoxon test).

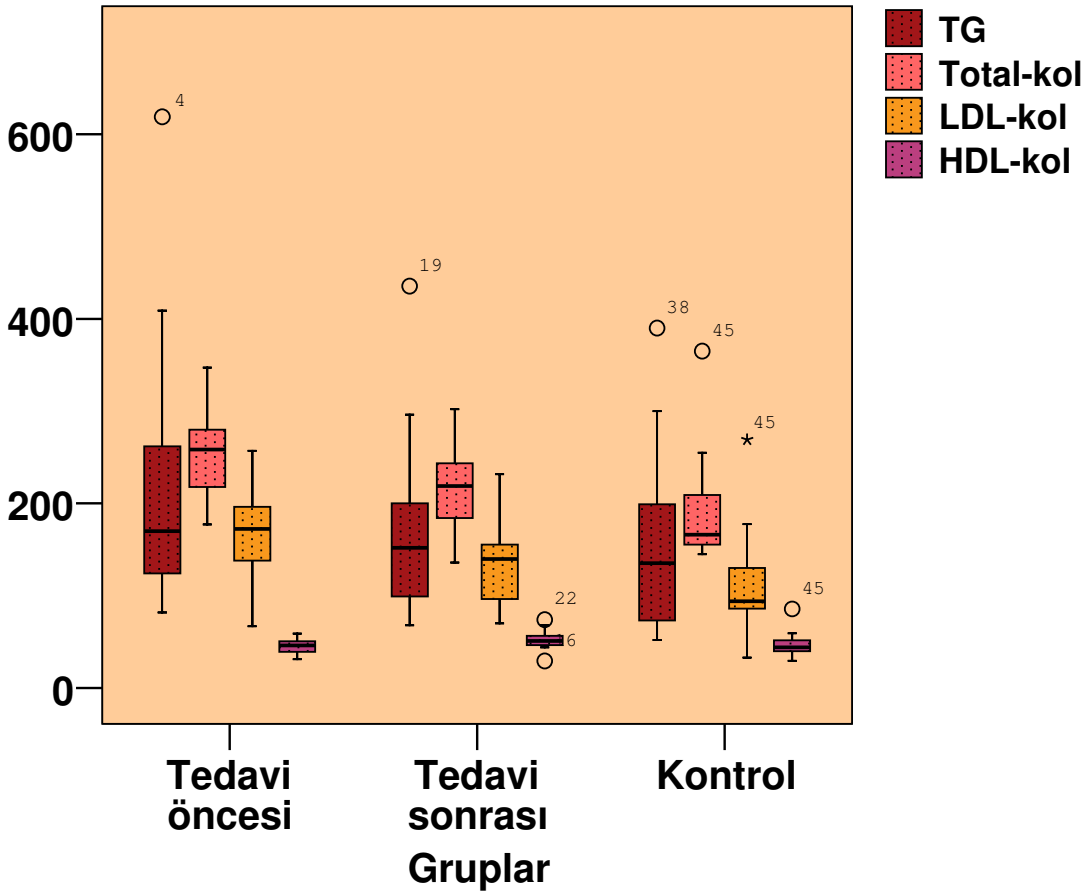
Çalışmada ki tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ve kontrol kişilere ait lipid ve bazı kan parametreleri Tablo 4.2. de' gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ve kontrol kişilere ait lipid ve bazı kan parametreleri (ortalama±S.S.).

	Kontrol	**Tedavi Öncesi**	**Tedavi Sonrası**	**P Değeri ** (Wilcoxon Test)**
Glukoz	**87.80±12.33**	**107.67±18.32***	**106.58±20.52***	**P>0.05**
TG (mg/dL)	**155.20±99.11**	**238.22±164.36**	**165.75±98.75**	**P<0.01 (%–23.51)**
T-kolesterol (mg/dL)	**192.20±58.25**	**254.91±47.33***	**212.69±44.96**	**P<0.01 (%–16.56)**
LDL- kolesterol (mg/dL)	**113.99±57.35**	**165.88±45.57***	**130.40±42.56**	**P<0.05 (%–21.39)**
HDL-kolesterol (mg/dL)	**47.17±13.13**	**44.24±9.65**	**51.92±10.68**	**P<0.01 (%17.36)**
AST (u/L)	**26.07±8.67**	**16.64±3.21***	**18.51±5.67***	**P>0.05**
ALT (u/L)	**28.50±12.53**	**22.13±10.38**	**17.66±6.28***	**P>0.05**

*Kontrol değerler ile karşılaştırma yapıldığında aralarında anlamlı fark bulunan (P<0.01; Mann-Whitney U test).

**Tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri (Wilcoxon test).



Şekil 4.1. Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait lipid parametreleri

Tablo 4.3. Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait genom/kromozomal ve oksidatif DNA hasarı sonuçları (ort±S.S.)

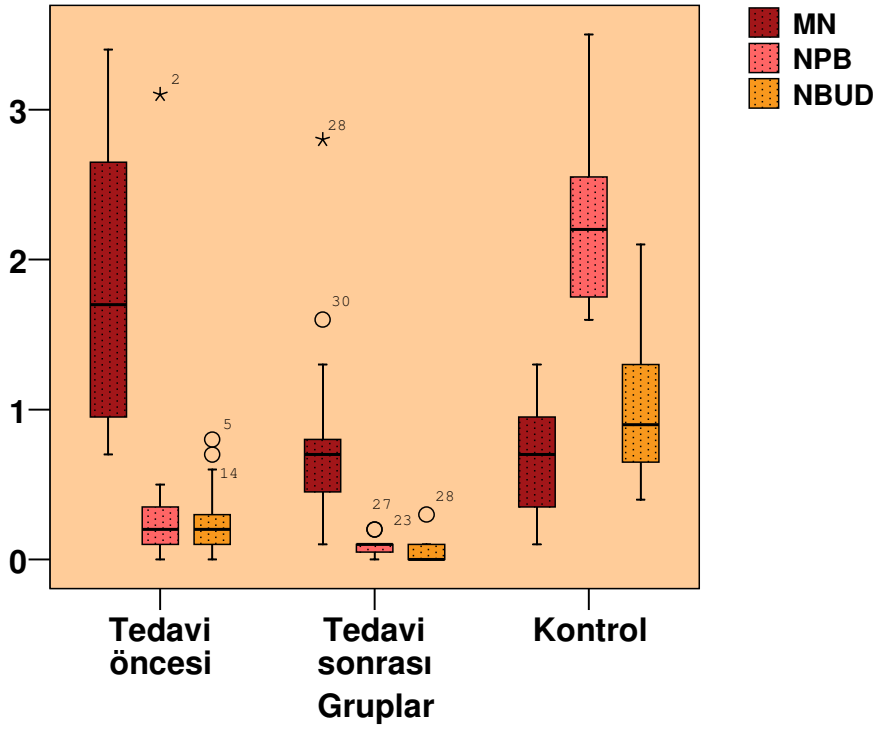
	Kontrol Kişiler	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	P Değeri * (Mann-Whitney U test)	P Değeri ** (Mann-Whitney U test)	P Değeri *** (Wilcoxon Test)
Mikronükleus (MN) Frekansı (%)	**0.67±0.39**	**2.12±1.73**	**0.81±0.67**	**P<0.01**	**P>0.05**	**P<0.01**
Nükleoplazmik Köprü (NPB) Frekansı (%)	**2.32±0.75**	**0.42±0.76**	**0.09±0.06**	**P<0.01**	**P<0.01**	**P<0.01**
Nükleer Bud (NBUD) Frekansı (%)	**1.06±0.49**	**0.27±0.24**	**0.05±0.08**	**P<0.01**	**P<0.01**	**P<0.05**
8-OHdG seviyesi (ng/mL)	**0.74±0.20**	**1.16±0.27**	**1.16±0.25**	**P<0.01**	**P<0.01**	**P>0.05**

* Tedavi öncesi ile kontrol değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri.

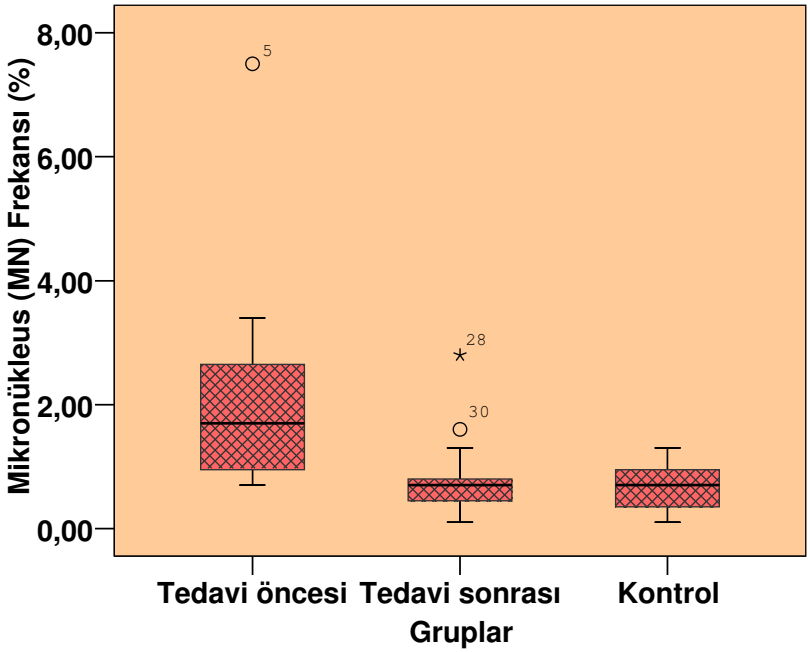
** Tedavi sonrası ile kontrol değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri.

*** Tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri.

Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ait genom hasar parametre değerleri arasında karşılaştırma yapıldığında, tedavi sonrası hastalara ait genom hasar (MN, NPB, NBUD) değerlerinin azaldığı bulunmuştur (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2). Tedavi sonrası hastalara ait genom hasar parametrelerinden MN değerleri, kontrollere yakın değerlere azalırken (Şekil 4.3.); Hem tedavi öncesi hem de sonrası hastalara ait genom hasar parametrelerinden NPB ve NBUD değerleri ise kontrol değerlerin altında bulunmuştur.

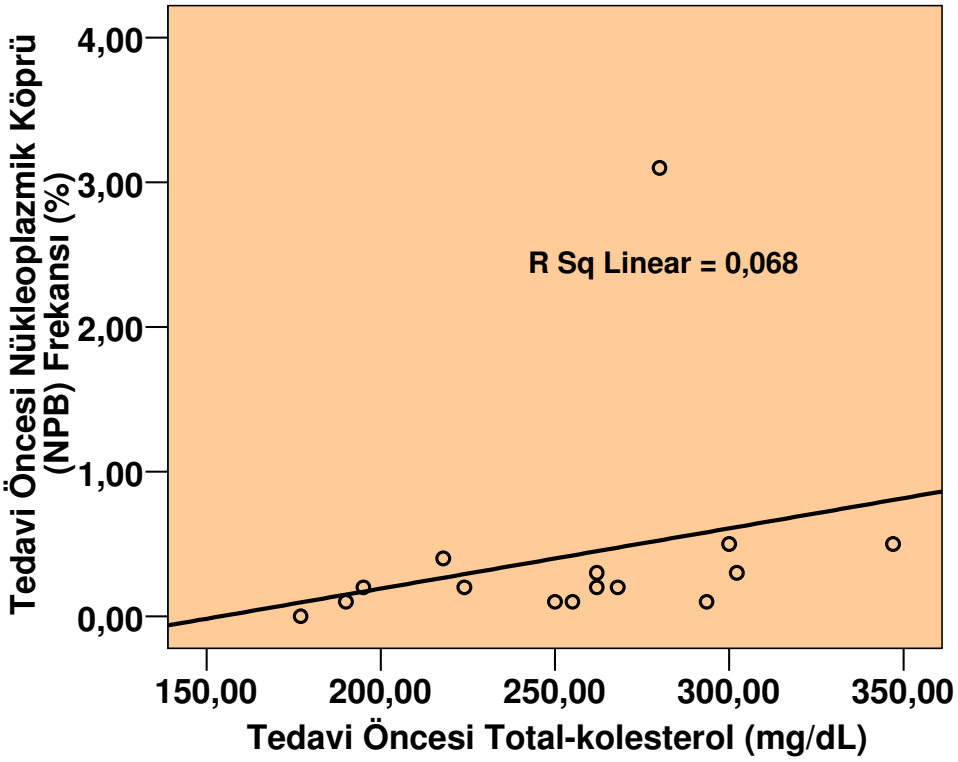


Şekil 4.2. Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ait genom hasarı değerleri.



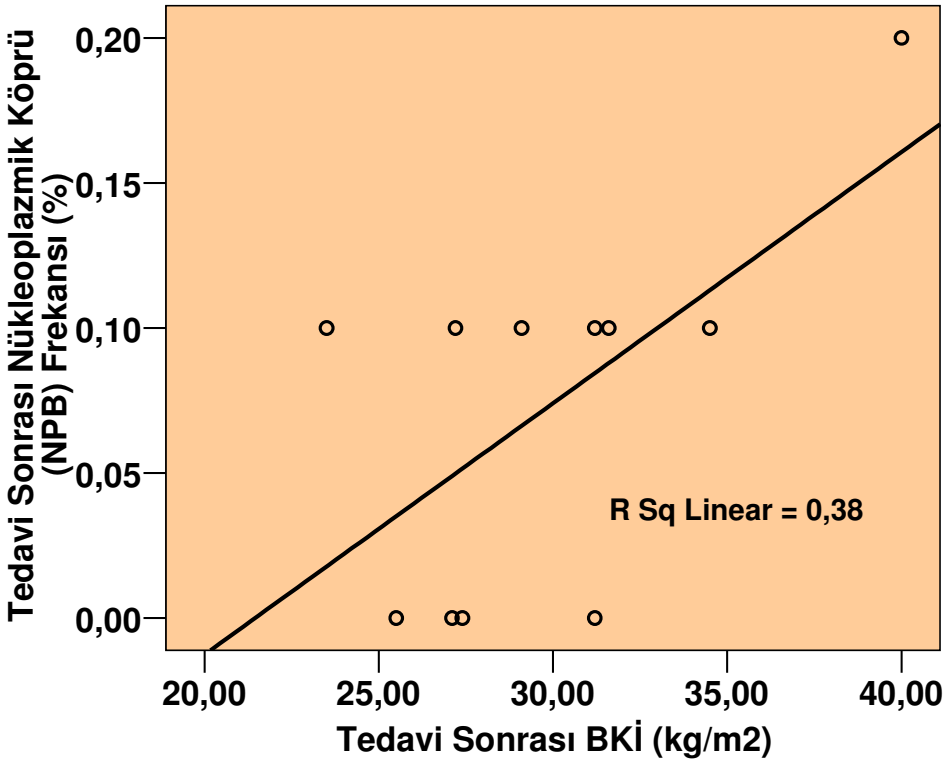
Şekil 4.3. Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ait genom hasar parametrelerinden mikronükleus (MN) değerleri

Tedavi öncesi dislipidemi hastalarında, genom hasar parametreleri ile yaş, tedavi süresi, BKİ ve BKO arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamazken (P>0.05), Total-kol ile NPB arasında (P<0.05, r:0.589) pozitif bir ilişki bulunmuştur (Spearman korelasyon analizi) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Tedavi öncesi dislipidemi hastalarında total-kolesterol ile NPB arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (P<0.05, r:0.589).

Tedavi sonrası dislipidemi hastalarında, genom hasar parametreleri ile yaş, tedavi süresi, BKO ve lipid parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamazken (P>0.05), BKİ ile NPB arasında (P<0.05, r:0.616) pozitif bir ilişki bulunmuştur (Spearman korelasyon analizi) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Tedavi sonrası dislipidemi hastalarında BKİ ile NPB arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (P<0.05, r:0.616).

Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ve kontrol kişilere ait hücre canlılığı/ölümü (sitotoksisite) ve hücre çoğalma/bölünme durumu (sitostazi) sonuçları Tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait hücre canlılığı/ölümü (sitotoksisite) ve hücre çoğalma/bölünme durumu (sitostazi) sonuçları.

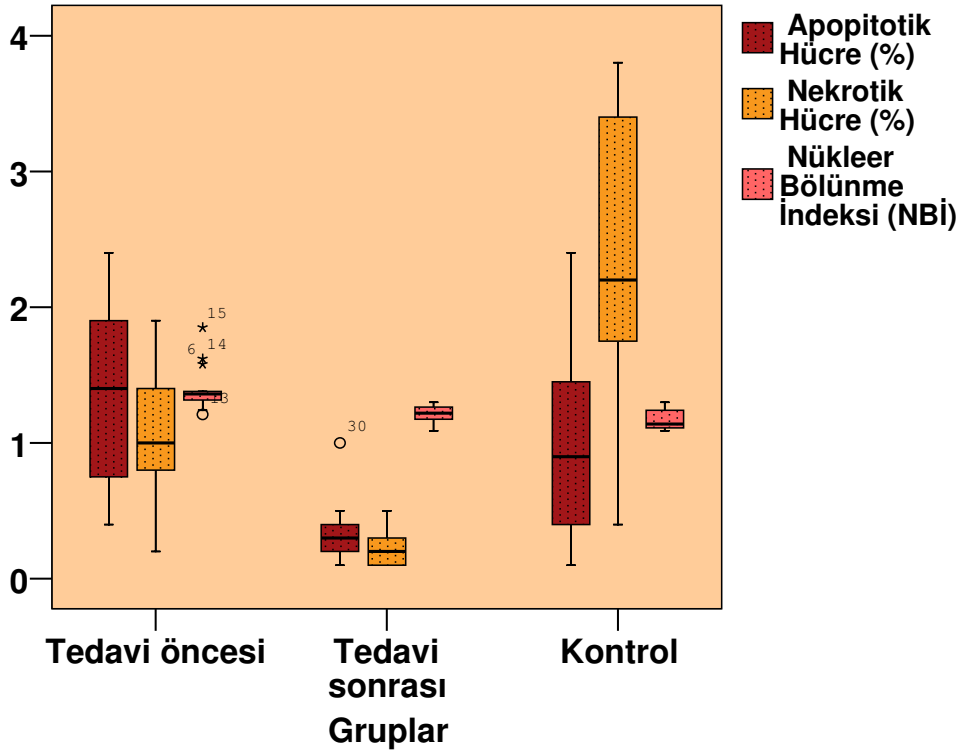
	Kontrol Kişiler	**Tedavi Öncesi**	**Tedavi Sonrası**	**P Değeri * (Mann-Whitney U test)**	**P Değeri ** (Mann-Whitney U test)**	**P Değeri *** (Wilcoxon Test)**
Apopitotik Hücre Frekansı (%)	**0.97±0.70**	**1.33±0.67**	**0.35±0.22**	**P>0.05**	**P<0.05**	**P<0.01**
Nekrotik Hücre Frekansı (%)	**2.47±1.04**	**1.04±0.48**	**0.21±0.14**	**P<0.01**	**P<0.01**	**P<0.01**
Binükleer Hücre Frekansı (%)	**18.29±8.76**	**47.90±23.60**	**23.89±6.98**	**P<0.01**	**P>0.05**	**P<0.01**
Nükleer Bölünme İndeksi (NBİ)	**1.18±0.08**	**1.39±0.17**	**1.22±0.06**	**P<0.01**	**P>0.05**	**P<0.01**

* Tedavi öncesi ile kontrol değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri.

** Tedavi sonrası ile kontrol değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri.

*** Tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında karşılaştırma yapıldığındaki P değeri.

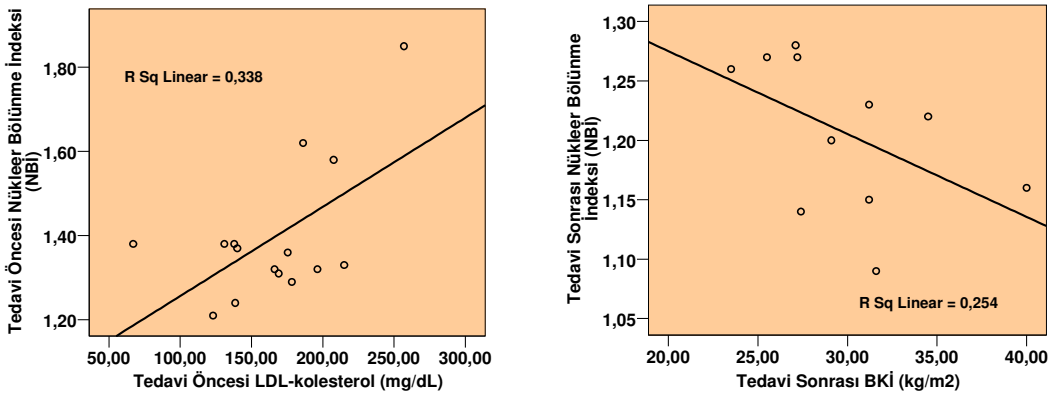
Tedavi sonrası dislipidemi hastalarına ait hücre ölümü parametrelerinden apopitotik ve nekrotik hücre değerleri, kontrollerin altındaki değerlere düşerken; tedavi sonrası hastalara ait hücre çoğalması parametreleri olarak, binükleer hücre frekansı ve nükleer bölünme indeksi (NBİ) kontrollere yakın değerlere azalmıştır (Tablo 4.4 ve Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Tedavi öncesi ve sonrası hasta ve kontrol kişilere ait hücre canlılığı/ölümü (apopitotik ve nekrotik hücreler) ve hücre çoğalma/bölünme durumu (NBİ) sonuçları.

Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarında ve kontrol kişilerde, apopitotik ve nekrotik hücre frekansları ile yaş, tedavi süresi, BKİ, BKO ve lipid parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($P>0.05$).

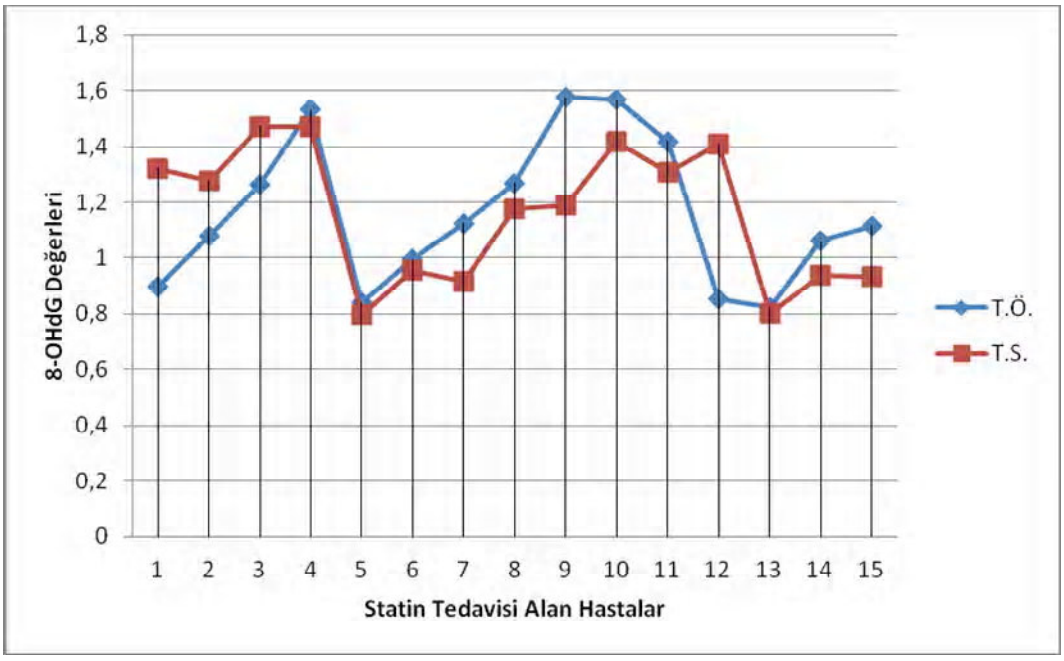
Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemik hastalarda ve kontrol kişilerde, NBİ ile yaş, tedavi süresi, BKİ, BKO ve lipid parametreleri arasındaki korelasyon analizi sonucunda (Spearman korelasyon analizi): Tedavi öncesi dislipidemi hastalarında, NBİ ile LDL-kol arasında ($P<0.05$, r:0.581) pozitif bir ilişki (Şekil 4.7.A) ve tedavi sonrasında ise, NBİ ile BKİ arasında ($P<0.05$, r:-0.639) negatif bir ilişki bulunmuştur (Şekil 4.7.B).



A **B**

Şekil 4.7. Tedavi öncesi dislipidemi hastalarında, NBİ ile LDL-kol arasında (P<0.05, r:0.581) pozitif bir ilişki (A) ve tedavi sonrası dislipidemi hastalarında, NBİ ile BKİ arasında (P<0.05, r:-0.639) negatif bir ilişki (B).

Tedavi sonrası bazı dislipidemi hastalarda oksidatif DNA hasar parametrelerinden plazma 8-OHdG değerleri azalmış gibi görünse de, tedavi öncesi ve sonrası oksidatif DNA hasarı değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.3; Şekil 4.8; P>0.05).



Şekil 4.8. Tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ait plazma 8-OHdG değerleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite ve morbiditenin en önemli sebebidir. Dislipidemi tedavisinde, tartışılan birçok yan etkileri olmasına rağmen, en çok kullanılan ve ilk tercih edilen ilaç statinlerdir. Statinler, bu hastalarda lipid seviyelerini dengelerken kardiyovasküler riski üzerinde de azaltıcı bir rol oynayabilir.

Yaptığımız literatür incelemesine göre, dislipidemik hastalarda, statin tedavisinin kromozomal DNA hasarı, hücre ölümü ve çoğalması üzerindeki etkisinin araştırılması konusunda herhangi bir araştırmaya rastlanılmadı. Bundan yola çıkarak, dislipidemi teşhisi konmuş hastalarda statin tedavisinin DNA hasarı üzerine olası etkisinin CBMN cyt ve 8-OHdG yöntemleri kullanılarak araştırılması planlandı.

Bu çalışmamızda, tedavi öncesi kan örnekleri alınan çoğu hastaların tedavi sonrası kontrole gelmemeleri nedeniyle planlanan hasta sayısına ulaşılamamıştır. Ancak, tedavi öncesi ve sonrası dislipidemi hastalarına ait kan örneklerinin alımına devam edilecektir. Dolayısıyla çalışmamızda, yeni teşhis konulmuş ve herhangi bir tedavi almamış 15 hasta ve aynı hastaların tedavi sonrası ile hastalarla benzer yaş ve cinsiyette toplam 15 sağlıklı kontrol bireyden alınan kan örnekleri üzerinde çalışma yapılabildi. Dislipidemi hastalarına lipid seviyelerine ve özelliklerine göre ılımlı-düşük dozda statin tedavisi (5-10 mg/gün atorvastatin veya rosuvastatin) başlandı ve hastalar 3-6 ay arasında tedavi aldı.

Çalışmamızda kullanılan CBMN cyt yöntemi, insan periferal kan lenfositlerinde genom instabilitesi ve kromozomal DNA hasarının, hücre bölünme durumunun ve hücre canlılığının aynı zamanda sitolojik olarak değerlendirilmesine imkan sağlayan bir yöntemdir. Böylece, CBMN cyt yöntemi ile eş zamanlı olarak aynı preparatlar üzerinde, kromozomal DNA hasarı (MN, NPB, NBUD sayısı), hücre ölümü (sitotoksisite; apoptotik ve nekrotik hücre sayıları) ve hücre çoğalması (sitostazi; NBI oranları) ölçülebilmektedir (72). Kromozomal DNA hasarı parametrelerinden, MN frekansı, kromozom kırıkları ve/veya kromozom kayıplarını (anöploidi); NPB frekansı, hatalı DNA tamirlerinin ve/veya telomer uç birleşmelerinin sonucu olarak oluşan disentrik kromozomları (kromozom yeniden düzenlemeleri); NBUD frekansı ise DNA tamir komplekslerini ve/yada gen amplifikasyonlarının nükleer eliminasyonunu göstermektedir (72, 50). Ayrıca, çalışmamızda hasta ve kontrol plazma örneklerinde, oksidatif DNA hasarını belirlemek için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri olan 8-OHdG seviyeleri de ölçülmüştür (73).

MN frekansı mesleki ve çevresel maruziyet, hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, farklı beslenme alışkanlıkları, egzersiz, fazla çay ve kahve tüketimi gibi faktörlere bağlı olarak artabilir (55, 56, 74). Bu nedenle, çalışmamızda MN frekansını etkileyebilecek bu özellikleri taşıyan hasta ve kontrol kişiler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmamızda, tedavi öncesindeki dislipidemik hastalarda kromozomal DNA hasarının parametrelerinden MN frekansının kontrol kişilere göre daha yüksek olduğu ve dislipidemik hastalardaki bu artan MN frekansının statin tedavisi ile azaldığı gösterilmiştir. Ancak, dislipidemik hastalarda kromozomal DNA hasarının diğer parametrelerinden olan NPB ve NBUD frekanslarının kontrol kişilere göre daha düşük olduğu ve tedavi sonrasında ise daha da azaldığı bulunmuştur. Açıkcası, dislipidemik hastalarda NPB ve NBUD frekanslarının kontrol kişilere göre neden daha düşük bulunduğunun tam sebebi açıklanamamasına rağmen bu kişilerde hatalı bile olsa DNA tamirlerinin (NPB) ve DNA tamir kompleksleri yada gen amplifikasyonlarının nükleer eliminasyonunun (NBUD) daha az olabileceği düşünülmüştür.

Diğer taraftan benzer şekilde dislipidemik hastalarda artan apoptotik hücre ölümünün ve artan hücre çoğalmasının/bölünmesinin (NBİ oranı) statin tedavisi ile azalarak dengelendiği gösterilmiştir. Çalışmamızda dislipidemik hastalarda apoptotik hücre

frekansının artışı, bu kişilerde sitotoksitenin arttığının bir göstergesi olup, hastalarda artan DNA hasarının bir sonucu olabilir. Dolayısıyla, bu sonuç, bir hücrede oluşan DNA hasarı tamir edilemediği zaman o hücrenin programlanmış hücre ölüm mekanizması olan apoptoza girmesi ile tutarlıdır.

Ayrıca, tedavi öncesi ve sonrası dislipidemik hastalara ve kontrol kişilere ait lipid değerleri ile kromozomal ve oksidatif DNA hasarı, hücre canlılığı/ölümü ve hücre çoğalma/bölünme durumuna ilişkin korelasyon sonuçlarına göre, tedavi öncesi dislipidemik hastalarda NPB ile T-kol arasında pozitif bir ilişki bulunması dışında artan kromozomal DNA hasarı ile diğer lipid değerleri arasında bir ilişki bulunamazken, tedavi öncesi dislipidemi hastalarında NBİ ile LDL-kol arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Tedavi sonrası dislipidemik hastalarda ise değerlendirilen tüm CBMN cyt yöntemi parametreleri ve 8-OHdG seviyeleri ile lipid değerleri arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Yapılan literatür incelemesine göre, dislipidemik hastalarda, statin tedavisinin kromozomal DNA hasarı, hücre ölümü ve çoğalması üzerindeki etkisinin araştırılması konusunda herhangi bir araştırmaya rastlanamamıştır. Bununla birlikte, hiperkolesterolemi hastalarında statin tedavisinin oksidatif DNA hasarı üzerine etkileri ile ilgili bir çalışma bulunmuştur (75). Bu çalışmada, statin tedavisinin bu hastalarda oksidatif DNA hasarı markırı olarak artan serum 8-OHdG seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (75). Bizim çalışmamızda ise tedavi öncesi dislipidemik hastalara ait plazma 8-OHdG değerlerinin kontrollerle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ancak, artan 8-OHdG değerlerinin statin tedavisi sonrasında bazı hastalarda azalmış gibi görünmesine rağmen, tedavi öncesi ve sonrası hastalara ait değerler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Genel popülasyonda MN sıklığının artan kanser riski için bir ön belirteç olduğu kabul edilmektedir. Diğer taraftan, CBMN cyt yöntemi ile gözlenen MN, NPB ve NBUD'u içeren nükleer anomalilerin oluşumu karsinogenezin erken dönemlerinde görülebilen olaylardır (56, 72). Bu nedenle, dislipidemik hastalarda bulduğumuz artan kromozomal DNA hasarını gösteren artan MN frekansı, bu kişilerde ilerde gelişebilecek olası kanser riski ile ilişkili olabilir. Böylece, statin tedavisinin lipid düzenleyici etkilerinin yanında, dislipidemik hastaların kanser riski açısından değerlendirilmesinin, dislipidemik hastaların tedavisine farklı bir bakış açısı kazandıracağını düşünebiliriz.

Sonuç olarak, dislipidemik hastalarda, statin tedavisinin lipid düzenleyici ve pleiotropik etkilerinin yanı sıra bu hastaların lenfositlerindeki genomik hasar, sitotoksisite ve sitostazi üzerinde iyileştirici bir etkiye de sahip olduğu ilk defa gösterilmiştir. Böylelikle sonuçlarımız, dislipidemik hastalarda, statin tedavisinin genom koruyucu bir role sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışmamız, statin tedavisi gören hastalarda artan MN ile artan kromozomal DNA hasarı parametrelerinin tedavi sonrası azaldığının gösterilmesi yönüyle, lipid düşürücü statin grubu ilaçların bilinen faydalı etkileri yanında CBMN cyt yöntemi ile genom/kromozom hasarını azaltıcı etkisini gösteren literatürdeki ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır. Bununla birlikte, bu çalışmadaki parametreler açısından, daha geniş hasta gruplarıyla, cinsiyet arası farklılıkların olup olmadığının ve yüksek statin dozunun etkilerinin araştırılması ile çalışma sonuçlarımızın desteklenmesine ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Thabet MA, Salcedo JR, Chan JC. Hyperlipidemia in childhood nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 1993; 7: 559-66.
2. Haymore RB, Parks RJ, Oliver GT, Glister CB. Hypertriglyceridemia. Hosp. Physician 2005; 41:17-24.
3. Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol 2014; 63 :2889-2934.
4. Ersanlı M. Dislipidemi tedavisinde statinlerin önemi (Importance of statins in the treatment of dyslipidemia). Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol. 2007; 35:1-7.
5. Lloyd-Jones DM, Goff D, Stone NJ. Statins, risk assessment, and the new American prevention guidelines. Lancet 2014; 383: 600-602.
6. Fenech, M, The in vitro micronucleus technique. Mutat. Res. 2000; 455: 81-95.
7. Öngen B. Hiperkolesterolemik dislipidemik çocuklarda kardiovasküler risk belirteci olarak lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 Düzeyi. Tıpta Uzmanlık Tezi. T.C. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. İzmir 2011: 95
8. Eastern stroke and coronary heart disease collaborative research group. Blood pressure, cholesterol, and stroke in eastern Asia. Lancet 1998; 352:1801-1807.
9. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. 2001; 104:2746-2753.

10. G. Heart Protection Study Collaborative**:** MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. Lancet 2002; 360:7-22.
11. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Coordinating Committee of the National Cholesterol Education: Implications of recent clinical trials for the national cholesterol education program adult treatment panel III guidelines. J Am Coll Cardiol 2004; 44:720-732.
12. Toth PP, Potter D, Ming EE. Prevalence of lipid abnormalities in the United States: the national health and nutrition examination survey 2003-2006. J Clin Lipidol 2012; 6:325-330.
13. Zhao WH, Zhang J, Zhai Y, et al. Blood lipid profile and prevalence of dyslipidemia in Chinese adults. Biomed Environ Sci 2007; 20:329-335.
14. Gu D, Gupta A, Muntner P, et al. Prevalence of cardiovascular disease risk factor clustering among the adult population of China: results from the International Collaborative Study Of Cardiovascular Disease in Asia (InterAsia). Circulation 2005; 112:658-665.
15. Sun GZ, Li Z, Guo L, et al. High prevalence of dyslipidemia and associated risk factors among rural Chinese adults. Lipids Health Dis 2014; 13:189-200.
16. Bayram F, Kocer D, Gundogan K, ve ark. Prevalence of dyslipidemia and associated risk factors in Turkish adults. J Clin Lipidol 2014; 8: 206-216.
17. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMD); Obezite, Lipid Metabolizması ve Hipertansiyon Çalışma Grubu. Lipid Metabolizma Bozuklukları Tanı ve Tedavi Kılavuzu (1. Baskı) , Mayıs 2015, Ankara.(ISBN: 978-605-4011-23-0).
18. Ridker PM, Cook NR. Statins: new American guidelines for prevention of cardiovascular disease. Lancet 2013; 382:1762-5.
19. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001; 285:2486-97.

20. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. Circulation 2004; 110:227-39.
21. Onat T, Emerk K. Bölüm 5 Lipidler, Temel Biyokimya (2. baskı), Saray Medikal Yayıncılık, 1997: 409-489.
22. Kolesterol Çeşitleri, 2011, 08.09.2015 http://www.melitoskalbim.com.tr/ Kolesterol/Kolesterol-cesitleri.html
23. Yalçın A, Çetin M. Plazma Lipoproteinleri Ve Klinik Önemi; J. Fac. Vet. Med; 2001; 20: 123-129. -26. Laker Mf. 1997 Clinical Chemistry For Medical Students, Çeviri: Ulukaya E, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 23-43.
24. Esterbauer H, Puhl H, Dieber-Rothenneder M, et al. Effect Of Antioxidants On Oxidative Modification Of LDL; Ann Med;1991; 23: 573-581.
25. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, et al, American Heart Association Clinical Lipidology, Thrombosis, and Prevention Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular Nursing; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation. 2011; 123: 2292–2333.
26. Maki K, Bays H, Dicklin M. Treatment options for the management of hypertriglyceridemia: strategies based on the best-available evidence. J Clin Lipidol. 2012; 6:413–426.
27. T.A. Jacobson, Matthew K. Ito, PharmD, et al. National Lipid Association Recommendations for Patient-Centered Management of Dyslipidemia: Part 1 Full Report. Journal of Clinical Lipidology. J Clin Lipidol. 2015; 9:129-169.
28. Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al, Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. J Clin Lipidol 2011; 5:133-140.
29. Berglund L, Brunzell JD, Goldberg AC, et al, Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab 2012; 97:2969-2989.

30. American Diabetes Association. Cardiovascular Disease and Risk Management. Diabetes Care 2015 38: S49-S57.

31. NCEP Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001, 285:2486– 2497.

32. Kwiterovich PO jr. State-of-the-art update and review: Clinical trials of lipid lowering agents. Am J Cardiol 1998; 82:3U-17U.

33. Bray GA. Medical consequences of obesity. j Clin Endocrinol Metab 2004; 89:2583-9.

34. Jensen MD. Obesity. In: Cecil Medicine, 23rd Edition. Editors: Goldman L, Ausiello D. Elsevier, PA, USA 2008; 1643- 1652.

35. Tchernof A, Lamarche B, Prud'Homme D, et al. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. Diabetes Care 1996; 19:629-37.

36. Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, New inhibitors of cholesterogenesis produced by penicillium citrinum. J. Antibiot 1976; 29:1346-8.

37. Olsson AG, McTaggart F, Raza A. Rosuvastatin: a highly effective new HMG-CoA reductase inhibitor. Cardiovasc Drug Rev 2002; 20:303-28.

38. Jones PH, Davidson MH, Stein EA, et al. Comparison of the effi- cacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR* Trial). Am J Cardiol 2003; 92:152-60.

39. Baykan M. Hiperlipidemise statinler. Türkiye Klinikleri Kardiyoloji 2006; 2/7:57-65.

40. Tatlı E. Poliklinikte Hiperlipidemik Hasta Takibi Trakya Üniv tıp Fak Derg 2010; 27:39-41.

41. Marchioli R, Marfisi RM, Carinci F, Tognoni G. Meta- analysis, clinical trials, and transferability of research results into practice. The case of cholesterol-lowering

interventions in the secondary prevention of coronary heart disease. Arch Intern Med 1996; 156:1158-72.

42. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with sim- vastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. Lancet 2002; 360:7-22.

43. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002; 33:110 – 118.

44. Fidan AF. DNA hasar tespitinde tek hücre jel elektroforezi. Afyon Kocatepe University Journal of Science (Fen Bilimleri Dergisi); 2008; 8: 53-64.

45. De Boer J, Hoeijmakers J. Nucleotide excision repair and human syndromes. Carcinogenesis 2000; 21: 453-460.

46. Bohr VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. Carcinogenesis 1995; 16: 2885-2892.

47. Fenech M, Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. Mutat Res 1985; 147: 29-36.

48. Gökalp FD. Kültürü Yapılan İnsan Lenfositlerinde Triasulfuron'un Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Edirne, 2006; 9-12.

49. Sears DA, Udden MM. Howell-Jolly bodies: a brief historical review. Am J Med Sci 2012; 343:407-9

50. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nature Protocols 2007; 2: 1084-1104.

51. Vanparys P, Vermeiren F, Sysmans M, et al. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activitiy. Mutat Res 1990; 244:95-103.

52. Demirel S, Zamani A. MN tekniği ve kullanım alanları. Genel Tıp Dergisi 2002; 12:123-127.

53. Labay K, Ould-Elhkim M, Kles V, et al. Effects of griseofulvin in medium-term liver carcinogenesis assay and peripheral blood micronucleus test in rat. Teratog Carcinog Mutagen 2001; 21:441-451.

54. Hessel H, Radon K, Pethran A, et al. The genotoxic risk of hospital, pharmacy and medical personnel occupationally exposed to cytostatic drugs evaluation by the micronucleus assay. Mutat Res 2001; 497:101-109.

55. Bonassi S, Fenech M, Lando C, et al. HUman MicroNucleus project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. Environ Mol Mutagen 2001; 37:31-45.

56. Fenech M, Holland N, Zeiger E, et al. The HUMN and $HUMN_{xL}$ international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells-past, present and future. Mutagenesis 2011; 26:239-245.

57. Thomas P, Holland N, BolognesiI C, et al. Buccal micronucleus cytome assay. Nat Protoc 2009; 4:825-837.

58. Fenech M. The lymphocyte cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in radiation biodosimetry. Health Phys 2010; 98: 234-243.

59. Umegaki K, Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay in WILZ-NS cells: a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils. Mutagenesis 2000; 15:261-269.

60. Tawn EJ, Whıtehouse CA. Frequencies of chromosome aberrations in a control population determined by G banding. Mutat Res. 2001; 490:171-177.

61. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, et al. HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. Mutat Res 2003; 534:65-75.

62. Eastmond DA, Tucker JD. Identification of aneuploidy–inducing agents using cytokinesis–blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. Environ Mol Mutgen 1989; 13:34-43.

63. Serafini M, Baynes JW, Del Rio D. Role of oxidative stress in development of Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? Redox Report 2004; 9:145-152.

64. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39:44-84.

65. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, et al. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. FASEB J 2003; 17:1195-1214.

66. Dincer Y, Erzin Y, Himmetoglu S, et al. Oxidative DNA damage and antioxidant activity in patients with inflammatory bowel disease. Dig Dis Sci 2007; 52: 1636-1641.

67. Luan Y, Suzuki T, Palanisamy R, et al. Potassium bromate treatment predominantly causes large deletions, but not GC>TA transversion in human cells. Mutat Res 2007; 619:113-123.

68. Hattori Y, Nishigori C, Tanaka T et al (1996). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. J Invest Dermatol 107:733-737.

69. Yokuş B, Çakır DÜ. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkırı; 8-Hydroxy- 2'-deoxyguanosine. T Klin J Med Sci 2002; 22:535-543.

70. Cooke MS, Olinski R, Loft S. Measurement and Meaning of Oxidatively Modified DNA Lesions in Urine. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008; 17:3-14.

71. Donmez-Altuntas H, Bitgen N. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity in the general population in Turkey by use of the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutat Res 2012; 748: 1-7.

72. Bonassi S, Znaor A,Ceppi M, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis 2007; 28:625-631.

73. Chen HI, Liou SH, Ho SF, et al. Oxidative DNA damage estimated by plasma 8-hydroxyguanosine (8-OHdG): Influence of 4, 4'-methylenebis (2-chloroaniline) exposure and smoking. J Occup Health 2007; 49: 389-398.

74. Kirsch-Volders M, Plas G, Elhajouji A, et al. The in vitro MN assay in 2011: origin and fate, biological significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance. Arch Toxicol 2011; 85: 873-899.

75. Inoue T, Inoue K, Maeda H, Takayanagi K, Morooka S. Immunological response to oxidized LDL occurs in association with oxidative DNA damage independently of serum LDL concentrations in dyslipidemic patients. Clin Chim Acta 2001; 305: 115-121.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURULUN ADI	: ERCİYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
AÇIK ADRES	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Melikgazi/KAYSERİ
TELEFON	: 0 352 437 49 10 - 11
FAKS	: 0 352 437 52 85
E-POSTA	: byancar@erciyes.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Displipidemik hastalarda statin tedavisi öncesi ve sonrası genomik in stabilitenin araştırılması
ARIŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU	
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Hamiyet Dönmez
KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji
KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Hamiyet Dönmez
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı/Kayseri
DESTEKLEYİCİ	
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ	

ARAŞTIRMA FAZI	FAZ 1			
	FAZ 2			
	FAZ 3			
	FAZ 4			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon			
	Yüksek Doz Araştırması			
	Diğer İse Belirtiniz	X	Yüksek Lisans Tezi	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ	X	ÇOKMERKEZ	
	ULUSAL	X	ULUSLARARASI	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER

BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe	İngilizce	Diğer
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe	İngilizce	Diğer
OLGU RAPOR FORMU			Türkçe	İngilizce	Diğer
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe	İngilizce	Diğer

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER

BELGE ADI		Açıklama
TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ		
SİGORTA		
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		
BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFERFORMU		
HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ		
İLAN		
YILLIK BİLDİRİM		
SONUÇ RAPORU		

Bahri YANCAR
Fakülte Sekr.

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER			
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ		
	DİĞER		

Bakri YANCAR
Fakülte Şefi

KARAR BİLGİLERİ		
Karar No : 2014/185	Karar Tarihi : 21.03.2014	
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.		

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI : Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı / Adı Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E [ ] K [X]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Prof.Dr. Sami AYDOĞAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Prof. Dr. Karamehmet YILDIZ	Anest. ve Rean.	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Prof. Dr. Salih KUK	Tıbbi Parazitoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Prof.Dr. Kemal DENİZ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Doç. Dr.Musa KARAKÜKÇÜ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Doç.Dr. Hüseyin ARINÇ	Kardiyoloji	Kayseri Eğitim Hastanesi	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Doç.Dr. Erdem KILIÇ	Ağız , Diş ve Çene Cerrahisi	E.Ü. Diş Hek. Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Doç.Dr. Aydın ÜNAL	İç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Yard.Doç. Dr. Afra YILDIRIM	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E [ ] K [X]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Yard.Doç. Dr. Zafer SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Yard. Doç. Dr. Ferhan ELMALI	Biyoistatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Av. Zafer Tuğrul SARIASLAN	Avukat	Hukuk Müşaviri	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E [ ] K [X]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	
Serkan KARACA	Sivil Üye	Öğretmen	E [X] K [ ]	E [ ] H [X]	E [X] H [ ]	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL
İmza:

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ayşe Nur COŞKUN DEMİRKALP
Uyruğu: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri: 06.02.1989, Kayseri
Medeni Durumu: Evli
e-mail: aysenurcoskun@hotmail.com.tr

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2016
Lisans	İstanbul Kültür Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2011

YABANCI DİL

İngilizce