



Yaşlanma ve Hipertansiyonda Yeni Bir Endotelial Disfonksiyon Belirteci: Çözünebilir Lektin Benzeri Okside Düşük Dansiteli Lipoprotein-1 Soluble Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1 As A Novel Marker of Endothelial Dysfunction Related to Hypertension in Aging

Muhammed Emin DEMİRKOL¹, Serap YAVUZER², Mahir CENGİZ², Bora KORKMAZER³

Huriye BALCI⁴, Hafize UZUN⁵, Alper DÖVENTAŞ⁶, Hakan YAVUZER⁶

¹Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

²Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Çanakkale Devlet Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Çanakkale, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

⁵İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Öz

GİRİŞ ve AMAÇ: Çözünebilir lektin benzeri oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü-1 (sLOX-1), oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (oxLDL), nitrik oksit (NOx) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve karotis intima-media kalınlığının (CIMT) yaşlanma ve hipertansiyondaki (HT) rolünü araştırmaktır.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Her biri 30 katılımcıdan oluşan; yaşlı HT, genç HT, yaşlı kontroller ve genç kontrollerin sLOX-1, oxLDL, CIMT, iNOS ve NOx değerleri karşılaştırıldı.

BULGULAR: sLOX-1 ve oxLDL düzeyleri hipertansif gruplarda kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksekti. Yaş ile sLOX-1 ve CIMT arasında pozitif korelasyon saptandı. sLOX-1, oxLDL, CIMT, iNOS, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı arasında pozitif, sLOX-1 ise NOx ile negatif korelasyon saptandı. Regresyon analizinde, CIMT ve oxLDL'nin hipertansiyon üzerinde en etkili faktörler olduğu saptandı.

TARTIŞMA ve SONUÇ: Bu çalışma sLOX-1 ile ilişkili oksidasyon yollarının ve endotel disfonksiyonunun yaşlanma ile ilişkili HT riskini artırabileceğini göstermektedir. Nitrik oksit eksikliği yaşlılarda sLOX-1 ekspresyonunu artırabilir, bu da hipertansiyonda daha fazla sLOX-1 aracılı NOx eksikliğine yol açar. Bu döngünün NOx azalması veya sLOX-1 ve iNOS aktivitesinin aktivasyonu ile tetiklenip tetiklenmediğini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Çözünebilir lektin benzeri oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein-1, hipertansiyon, nitrik oksit, oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein, yaşlanma

Abstract

INTRODUCTION: To investigate the role of soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (sLOX-1) is an endothelial receptor for circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL), nitric oxide (NOx) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) and carotid intima-media thickness (CIMT) in aging and hypertension (HT).

METHODS: Consisting of 30 participants each; sLOX-1, oxLDL, CIMT, iNOS and NOx values of old HT, young HT, old controls and young controls were compared.

RESULTS: sLOX-1 and oxLDL levels were significantly higher in the hypertensive groups than the control groups. The age was positively correlated with sLOX-1 and CIMT. sLOX-1 was positively correlated with oxLDL, CIMT, iNOS, SBP, and DBP, while sLOX-1 was negatively correlated with NOx. According to the regression analysis, CIMT and oxLDL are found to be the most effective factors on hypertension.

DISCUSSION and CONCLUSION: This study demonstrates that sLOX-1 related oxidation pathways and endothelial dysfunction may increase the risk of aging associated HT. NOx deficiency may increase sLOX-1 expression in elderly, leading to even more sLOX-1-mediated NOx deficiency in hypertension. Further studies are needed to evaluate whether this cycle is triggered by the decrease of NOx or the activation of sLOX-1 and iNOS activity.

Keywords: Aging, hypertension, nitric oxide, oxidized low density lipoprotein, soluble lectin-like oxidized low density lipoprotein-1

GİRİŞ

Yaşlanma, kardiyovasküler hastalık (KVH) gelişimi ve progresyonunda ana risk faktörlerinden biri

olup, kan damarlarında kompleks yapısal ve fonksiyonel değişikliklerle karakterizedir. Yaşlanma sürecinde ortaya çıkan endotelial

disfonksiyon hipertansiyon (HT) gelişiminde bağımsız bir risk faktörüdür (1). Çözünebilen lektin benzeri okside düşük dansiteli lipoprotein reseptörü-1 (sLOX-1) okside düşük dansiteli lipoprotein (oxLDL) ligandlarını, yaşlı hücreler veya ileri glikasyon son ürünlerini içeren bir multiligand reseptördür. Hipertansiyon varlığında sLOX-1 ekspresyonu artarken, statin ve anjiotensin reseptör blokleri kullanımı ile azalır (2,3). Yaşlanma ile birlikte sLOX-1 ve oxLDL indüklenir (4,5). Nitrik oksit (NOx), esansiyel bir aminoasit olan L-arjininin NOx sentaz (NOS) ile oksidasyonundan oluşan önemli bir vazodilatördür. Nitrik oksit sentazın üç farklı formu vardır; indüklenebilir (iNOS), nöronal (nNOS) ve endotelial (eNOS). Fare modellerinde yapılan aterogenez çalışmalarında eNOS ve nNOS'un aterosleroza karşı protektif rol oynadığı, iNOS'un ise proaterosklerotik olduğu gösterilmiştir. Yaşlı hipertansif hastalarda iNOS polimorfizmin oksidatif stres ve bozulmuş vasküler yapı ile ilişkili olarak çok daha sık olduğu rapor edilmiştir (6-8). Ancak, hipertansiyonda yaşlanmanın sLOX-1 ve karotis intima-media kalınlığı (CIMT) ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir.

Bu çalışmanın birinci amacı hipertansiyonda yaşlanmanın sLOX-1 ve CIMT ile ilişkili olup olmadığını araştırmak, ikinci amacı ise yaşlanma ve hipertansiyonda oxLDL, NOx ve iNOS aktivitelerini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma, İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından çalışma başlamadan önce 07/03/2013 tarih, 83045809/5570 nolu etik kurul ve Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalardan aydınlatılmış onam alınmış ve öncesinde çalışma prosedürleri hakkında tam olarak bilgilendirilmiştir.

Hasta Popülasyonu

Bu çalışmaya Mart 2013 ile Ocak 2016 tarihleri arasında hastanemizin iç hastalıkları ve geriatri polikliniklerine başvuran hastalar dahil edildi. İlk olarak yaşlılarda 60 yaş ve üstü toplam altmış kişi ve genç gruplarda 20-50 yaş arası toplam altmış kişi olarak iki grup tasarlandı. Genç grup 30 HT hastası, 30 normotansif sağlıklı bireyden, yaşlı grup 30 HT hastası, 30 normotansif sağlıklı bireyden oluşturuldu. Çalışma gruplarının tercih edilen yaş sınırları daha önce yayınlanmış literatür verilerine göre yapıldı (8, 9).

Çalışmamızın dışlama kriterleri; metabolik sendrom, diabetes mellitus, dislipidemi, herhangi bir sistemik hastalık varlığı ve aşırı kilo veya obezite (vücut kitle indeksi > 25 kg / m²) idi. Deneklerin hiçbirinde sigara ve alkol kullanım öyküsü yoktu. Çalışmaya alınan hastalar daha önce polikliniğimizden HT tanısı alan takipli hastalar arasından seçildi. Yaşlı ve genç HT grupları antihipertansif tedavilerine göre homojen olarak oluşturuldu. Toplam 23 genç ve 22 yaşlı HT hastası kalsiyum kanal blokleri tedavisi altında iken, 13 genç ve 15 yaşlı HT hastası diüretik tedavisi almakta idi. Oksidatif stress üzerine olan etkileri nedeniyle anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, anjiotensin reseptör blokörü ve beta bloker kullanımı olan hastalar çalışma dışında tutuldu (10, 11).

Brakiyal arter basınç ölçümleri aynı doktor tarafından üç gün içerisinde üç kez olmak üzere civalı sfigomanometreyle (Riester big ben round, Jungingen, Germany) yapıldı. Klinik sistolik kan basıncı (SKB) ve diyastolik kan basıncı (DKB) değerleri yapılan bu üç ölçümün aritmetik ortalaması alınarak hesaplandı. Kan basıncı <130/80 mm Hg olan denekler kontrol grubuna dahil edildi.

Karotis İntima-Media Kalınlığı Ölçümü

Ekstrakraniyal karotis arterlerin değerlendirilmesi 5-10 Mhz lineer prob ile yüksek çözünürlüklü B-mod ultrasonografi (ATL, Ultramark 9 HDI, Bothell, WA, USA) ile yapıldı. Standard protokolde tüm ultrasonografik CIMT ölçümleri

hastalara kör tecrübeli bir radyolog tarafından yapıldı. Ekstrakraniyal karotis arter görüntülemeleri hasta supin pozisyonda iken yapıldı. Sağ ve sol ana karotis arter, bifurkasyon ve internal karotis arterin ilk 20 milimetresi olmak üzere üç farklı noktadan ölçüm yapıldı. Ölçümler B-Modda damar lümeni ekojenitesi ile media/adventisya ekojenitesi arasından uzunlamasına yapıldı. Ortalama CIMT yapılan üç ölçümün aritmetik ortalaması alınarak hesaplandı (12). Tüm ölçümler, cihazın digital çap ölçerleri kullanılarak, uzunlamasına taramaların dondurularak elde edilen görüntülerinin taranması ile yapıldı.

Örnek Toplanması ve Ölçümü

Sabah açlık kan örnekleri antikoagülansız EDTA'lı tüplere alındı. Beş dakika boyunca 2500 x g santrifüj ile plazma ve serum ayrıldı. Her örnek dört parçaya bölünerek biyokimyasal analiz yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Serum C-reaktif protein (CRP) düzeyleri nefelometrik yöntemle ölçüldü (Immagine 800 Beckman Coulter). Diğer biyokimyasal parametreler rutin kitlerle yapıldı.

Serum sLOX-1 Konsantrasyonlarının Ölçümü

Serum sLOX-1 düzeyleri uygun Enzim-Bağlı-İmmün Assay kiti (Uscn Life Science Inc., San Diego, CA, USA; ELISA Kit, Cat. No: SEB859Hu) ile ölçüldü. Ölçüm içi ve ölçümler arası katsayı varyasyonları sırasıyla % 4.9 (n=10) ve % 5.8 (n=10) idi.

Plazma oxLDL Konsantrasyonlarının Ölçümü

Plasma oxLDL düzeyleri uygun Enzim-Bağlı-İmmün Assay kiti (Mercodia, Uppsala, Sweden; Cat. No: 10-1143-01) ile ölçüldü. Ölçüm içi ve ölçümler arası katsayı varyasyonları sırasıyla %4,6 (n=15) ve %5,3 (n=15) idi.

Serum NOx Konsantrasyonlarının Ölçümü

Serum NOx konsantrasyonları nitrat/nitrit kolorimetrik analiz kiti (Enzo Life Sciences,

Lausen, Switzerland; Cat. No: ADI-917-020) ile serum NO₂/NO₃ düzeyleri ölçülerek yapıldı. Ölçüm içi ve ölçümler arası katsayı varyasyonları sırasıyla %2,9 (n=20) ve %3.7 (n=20) idi.

Plazma iNOS Aktivitesi Ölçümü

Plazma iNOS aktivitesi uygun Enzim-Bağlı-İmmün Assay kiti (Human Nitric Oxide Synthase 2, Inducible (NOS2), Uscn Life Science Inc. ELISA Kit, Cat. No: SEA837Hu, USA) ile ölçüldü. Ölçüm içi ve ölçümler arası katsayı varyasyonları sırasıyla %4,9 (n=15) ve %6.1 (n=15) idi.

İstatistiksel Analiz

Yapılan güç analizinde ortalama rölatif endotel hasarı seviyelerinde beklenen farkı tespit etmek için alfa <0.05, % 80 güç değerinde grup başına 30 hastadan oluşan bir örneklem sayısına ihtiyaç duyulduğu tespit edildi (13). Tüm istatistiksel analizler SPSS 22.0 programı (IBM SPSS Statistics; IBM, Armonk, N.Y., USA) ile yapıldı. Kategorik değişkenler sayı olarak verilirken, sürekli değişkenler ortalama± standart sapma olarak verildi. Kategorik değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında ki-kare testi ve Fisher kesin testi (Fisher's exact test) kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında ortalama değerler karşılaştırılırken bağımsız örneklem t-testi kullanıldı. Çoklu bağımsız grupların ortalama değerleri tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile karşılaştırıldı. Bonferroni testi ile post hoc analiz yapıldı. Ölçümler arasında korelasyon olup olmadığı Pearson ve Spearman korelasyon testleri kullanılarak değerlendirildi. Hipertansiyon ve yaşlanma için bağımsız risk faktörlerini saptamak amacıyla multivaryant lojistik regresyon analizi kullanıldı. P değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Grupların demografik verileri ve laboratuvar bulgularının karşılaştırması Tablo 1'de

gösterilmiştir. Yaşlı ve genç hastalar arasında oksidatif serum parametrelerinin karşılaştırması Tablo 2’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ve HT grubunda oksidatif serum parametreleri ve CIMT değerlerinin karşılaştırması Tablo 3’te gösterilmiştir.

Tüm gruplarda; yaş ile sLOX-1 ve CIMT değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.23$ ve $r=0.68$, p değerleri $p=0.009$ ve $p<0.001$), NOx değerleri arasında negatif korelasyon ($r=-0.24$, $p=0.008$) mevcuttu, sLOX-1 değerleri ile oxLDL, CIMT, SKB, DKB ve iNOS değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.55$, $r=0.42$, $r=0.19$, $r=0.20$, $r=0.37$, p değerleri $p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.03$, $p=0.02$ ve $p<0.001$), NOx değerleri arasında negatif korelasyon ($r=-0.25$, $p=0.008$) mevcuttu, oxLDL değerleri ile CIMT, SKB, DKB ve iNOS değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.46$, $r=0.22$, $r=0.25$, $r=0.43$, p değerleri $p<0.001$, $p=0.01$, $p=0.006$ ve $p<0.001$) NOx değerleri arasında negatif korelasyon ($r=-0.25$, $p=0.005$) mevcuttu, NOx değerleri ile iNOS ve SKB değerleri arasında negatif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=-0.35$, $r=-0.31$, p değerleri $p<0.001$, $p=0.001$) mevcuttu, iNOS değerleri ile CIMT değerleri arasında pozitif korelasyon ($r=0.20$, $p=0.02$) mevcuttu.

Genç hasta grubunda sLOX-1 değerleri ile oxLDL, CIMT, DKB ve iNOS değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.64$, $r=0.45$, $r=0.33$, $r=0.394$, p değerleri $p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.01$ ve $p=0.002$), NOx ile negatif korelasyon ($r=-0.31$, $p=0.01$) mevcuttu, oxLDL ile CIMT, SKB, DKB ve iNOS arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.67$, $r=0.34$, $r=0.37$, $r=0.43$ ve p değerleri $p<0.001$, $p=0.008$, $p=0.003$ ve $p=0.001$), mevcuttu, NOx ile iNOS arasında negatif korelasyon ($r=-0.50$, $p<0.001$) mevcuttu ve CIMT ile NOx arasında negatif korelasyon ($r=-0.50$, $p<0.001$), iNOS arasında pozitif korelasyon ($r=0.49$, $p<0.001$) mevcuttu.

Yaşlı hasta grubunda; sLOX-1 değerleri ile oxLD,

CIMT, SKB ve iNOS değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.45$, $r=0.35$, $r=0.30$, $r=0.48$, p değerleri $p<0.001$, $p=0.02$, $p=0.01$ ve $p<0.001$), NOx ile negatif korelasyon ($r=-0.41$, $p=0.001$) mevcuttu, oxLDL ile CIMT ve iNOS arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.49$, $r=0.34$, $r=0.76$ ve p değerleri $p<0.001$ ve $p<0.001$) mevcuttu, NOx ile SKB ve DKB arasında negatif korelasyon (r değerleri sırasıyla $r=-0.40$, $r=-0.27$ ve p değerleri $p=0.001$ ve $p=0.03$) mevcuttu, iNOS ile CIMT arasında pozitif korelasyon ($r=0.41$, $p=0.001$) mevcuttu.

Tüm HT grubunda sLOX-1 değerleri ile oxLD, iNOS ve CIMT değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.53$, $r=0.39$, $r=0.38$, p değerleri $p<0.001$, $p=0.02$ ve $p=0.003$), NOx ile negatif korelasyon ($r=-0.26$, $p=0.03$) mevcuttu, oxLDL ile NOx arasında negatif korelasyon ($r=-0.29$, $p=0.02$), iNOS ve CIMT arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.53$, $r=0.36$ ve p değerleri $p<0.001$ ve $p=0.004$) mevcuttu.

Genç HT grubunda sLOX-1 değerleri ile oxLD, iNOS ve CIMT değerleri arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.69$, $r=0.56$, $r=0.44$, p değerleri $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p=0.01$) mevcuttu, oxLDL ile CIMT ve iNOS arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.51$, $r=0.53$ ve p değerleri $p=0.004$ ve $p=0.002$), NOx ile negatif korelasyon ($r=-0.40$, $p=0.03$) mevcuttu, CIMT ile NOx arasında negatif korelasyon ($r=-0.69$, $p<0.001$), iNOS ile pozitif korelasyon ($r=0.56$, $p<0.001$) mevcuttu.

Yaşlı HT grubunda sLOX-1 değerleri ile NOx arasında negatif korelasyon ($r=-0.41$, $p=0.02$) mevcuttu, oxLDL ile CIMT ve iNOS arasında pozitif korelasyon (sırasıyla r değerleri $r=0.75$, $r=0.57$ ve p değerleri $p<0.001$ ve $p<0.001$) mevcuttu, NOx ile iNOS arasında negatif korelasyon ($r=-0.56$, $p<0.001$) mevcuttu, CIMT ile NOx arasında negatif korelasyon ($r=-0.83$, $p<0.001$) mevcuttu.

Tüm HT grupları ve tüm kontrol grupları için ayrı ayrı, CIMT ve endotel hasar parametrelerinin her biri için odd’s oranı (OR) dahil olmak üzere çok

multivaryant lojistik regresyon analizi, gerçekleştirildi. Tüm HT gruplarında anlamlı risk faktörleri CIMT ($P<0.001$, Beta=0.748, OR (95% güven aralığı (CI) =2.088 (1.533–2.642) ve oxLDL ($P<0.001$, Beta=-0.496, OR (95% CI=-0.33 (0.048–0.017) ile ilişkili idi.

Genç ve yaşlı gruplardaki parametreler arasındaki anlamlı ilişki CIMT ($P<0.001$, Beta=0.748, OR (95% CI=-0.409 (0.481–0.337), sLOX ($P=0.001$, Beta=0.748, OR (95% CI =-0.275 (0.427–0.123) ve NOx ($P<0.001$, Beta=0.748, OR (95% CI=-6.688 (9.760–3.615) idi.

Tablo 1. Çalışma grubunun demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları

	Genç (n = 60) (20–50 yaş)			Yaşlı (n = 60) (≥ 60 yaş)		
	Kontrol (n=30)	HT (n=30)	<i>p</i>	Kontrol ^a (n=30)	HT ^b (n=30)	<i>p</i>
Cinsiyet (K/E)	18/12	17/13	0.79	15/15*	19/11*	0.43
Yaş (yıl)	42.1±4.2	43.2±3.6	0.11	69.5±7.2***	72.1±8.3***	0.16
Hastalık süresi (yıl)	-	4.9±3.7	-	-	15±7.6***	-
Klinik SKB (mmHg)	121.6±6.9	133.8±6.7	<0.001	115±7.3**	129.6±8.8*	<0.001
Klinik DKB (mmHg)	75.1±5.5	84.3±6.4	<0.001	75.1±7.2*	82.3±8.9*	<0.001
VKİ (kg/m ²)	22.3±1.8	22.4±1.6	0.35	23.9±1.3*	23.5±1.2*	0.78
Glukoz (mg/dL)	80.1±5.3	82.1±5.1	0.35	83±5.1*	84.8±5.8*	0.93
Kreatinin (mg/dL)	0.68±0.2	0.71±0.21	0.53	0.82±0.18**	0.86±0.22**	0.38
Total Kolesterol (mg/dL)	169.4±21.5	179.4±14.5	0.07	181.8±11.1**	185.4±15.4*	0.65
LDL (mg/dL)	95.2±20.1	106±14.9	0.1	113.8±15.7**	114.6±13.3*	0.89
TG (mg/dL)	82.4±28.1	94.5±31.8	0.21	85.8±33.1*	99.4±31.5*	0.13
CRP (mg/L)	1.6±1.5	3.1±2.4	0.007	3.4±2.6***	4.6±2.8**	0.15

HT: Hipertansiyon, KIMK: Karotis İntima Media Kalınlığı, SKB: Sistolic kan basıncı, DKB: Diyastolic kan basıncı, VKİ: Vücut Kitle indeksi, LDL: Low density lipoprotein, TG: Trigliserit, CRP: C-reactive protein.

aGenç kontrol vs yaşlı kontrol, bGenç HT vs yaşlı HT; *Non Significant, ** $p<0.05$, *** $p<0.001$

Tablo 2. Genç ve yaşlı grupta endoteli etkileyen parametreler

	Genç (n = 60) (20–50 yaş)			Yaşlı (n = 60) (≥ 60 yaş)		
	Kontrol (n = 30)	HT (n = 30)	<i>p</i>	Kontrol (n = 30)	HT (n = 30)	<i>p</i>
sLOX-1 (ng/mL)	0.43 ± 0.34	1.21 ± 1.02	<0.001	0.7 ± 0.23	1.49 ± 0.68	<0.001
oxLDL (mU/L)	5.2 ± 4.9	11.9 ± 8.7	0.001	6.1 ± 3.2	9.3 ± 6.2	0.01
NOx(μmol/L)	9.89 ± 5.3	9.3 ± 5.09	0.67	16.5 ± 6.4	9.5 ± 3.7	<0.001
iNOS(pg/mL)	298.7 ± 87	262.3 ± 61	0.06	353.7 ± 132	266.3 ± 74	0.003

HT: hipertansiyon; sLOX-1: soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1; oxLDL: oxidized low-density lipoprotein; NOx: nitric oksit; iNOS: inducible nitrik oksit sentaz.

Tablo 3. Genç ve yaşlı HT grubunda endoteli etkileyen oksidatif serum parametreleri

	Kontrol Grup			HT Grup		
	Genç (n = 30)	Yaşlı (n = 30)	p	Genç (n = 30)	Yaşlı (n = 30)	p
sLOX-1 (ng/mL)	0.43 ± 0.34	0.7 ± 0.23	0.001	1.21 ± 1.02	1.49 ± 0.68	0.21
oxLDL (mU/L)	5.2 ± 4.9	6.1 ± 3.2	0.42	11.9 ± 8.7	9.3 ± 6.2	0.18
NOx (µmol/L)	9.89 ± 5.3	16.5 ± 6.4	<0,001	9.3 ± 5.09	9.5 ± 3.7	0.86
iNOS (pg/mL)	298.7 ± 87	353.7 ± 132	0.06	262.3 ± 61	266.3 ± 74	0.82
CIMT (mm)	0.6 ± 0.14	1.01 ± 0.13	<0,001	0.84 ± 0.12	1.06 ± 0.16	<0,001

HT: hipertansiyon; sLOX-1: soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1; oxLDL: oxidized low-density lipoprotein; NOx: Nitrik oksit; iNOS: inducible nitrik oksit sentaz; KIMK: Karotis intima media kalınlığı.

TARTIŞMA

Kardiyovasküler risk faktörlerinden olan yaşlanma ve hipertansiyonun birlikteliği endotelial disfonksiyon üzerine additive etkiye sahiptir (14). Çalışmamızda HT'de yaşlanmanın yüksek sLOX-1, oxLDL, iNOS ve CIMT aktiviteleri ile ilişkili olduğu ve bu ilişkinin azalmış NO aktivitesi ile uyumlu olduğu gösterildi. Tüm HT hasta gruplarında yaştan bağımsız olarak sLOX-1 ile NO arasında negatif korelasyon saptandı. Nitrik oksit eksikliği, sLOX-1 ekspresyonunu artırıyor ve HT'de daha da fazla sLOX-1 aracılığına yol açabiliyor olabilir. Regresyon analizi ile HT grupları değerlendirildiğinde CIMT ve oxLDL'nin HT'de en önemli faktör olarak bulundu. Çalışmamızın sonuçları ayrıca HT'si olan bireylerin KVH gelişimi açısından yüksek riskli olarak değerlendirilmesinin önemini desteklemektedir.

Oksidatif stresin bir işareti olan oxLDL, plazmada ve aterosklerotik arterlerde bulunur (9). oxLDL ile indüklenen iNOS ekspresyonunun farmakogenetik çalışmalarda makrofajdan türetilen köpük hücre göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir. Huang ve ark. iNOS'un proaterosklerotik fonksiyonlara sahip olduğunu göstermiş ve plaklarda ateroskleroz gelişimini azaltmak için hedef gen olarak düşünülmesi

gerektiğini vurgulamışlardır (10). Bizim çalışmamızda hipertansif grupların oxLDL düzeyleri kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti. oxLDL, yaşlılarda ve tüm HT gruplarında iNOS ve CIMT ile pozitif korelasyon gösterdi. Risk faktörleri tüm HT gruplarında CIMT ve oxLDL ile ilişkili idi. Bulgularımız plazma oxLDL'nin aterosklerotik lezyonlardan dolaşıma salındığını düşündürmektedir. CIMT gibi bir ateroskleroz belirteci olarak oxLDL risk altındaki yaşlı hastada advers vasküler olayları ön gördüren değerli bir indeks olarak kullanılabilir.

Vasküler endoteliumda eksprese edilen bir radikal temizleyici reseptör olan sLOX-1, endotelial disfonksiyonun güçlü bir erken mediyatörü olarak kabul edilir ve HT'de mikrovasküler endoteliumda NOx'ya bağımlı vazodilatasyonun önemli derecede azalması ile ilişkilidir (12). Özellikle, sLOX-1 oxLDL bileşenlerini tanır. Çalışmamızda yaşlı gruplarda sLOX-1'in oxLDL, iNOS, CIMT ve SKB ile pozitif, NOx ile negatif korelasyon gösterdiğini gösterildi. sLOX-1, oxLDL, NOx ve iNOS aktivitesi genç ve yaşlı HT grupları arasında farklılık göstermemekte idi. Tüm HT gruplarında sLOX-1, oxLDL, iNOS ve CIMT ile pozitif korelasyon gösterirken, NOx ile negatif korelasyon gösterdi.

Endotel disfonksiyonu aterosklerotik sürecin erken evresinde ortaya çıkar. İnsanda aterosklerotik

lezyonlarda sLOX-1, hem aterogenezin erken evresinde hem de ileri aterosklerotik plaklarda endotel hücrelerde aşırı düzeyde eksprese edilir. Ayrıca, sLOX-1'in neovasküler oluşumların endotel hücrelerinde de aşırı düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir (15). Çalışmamızın sonuçları, oxLDL'nin sLOX-1 indüksiyonuna ve endotel hücre aktivasyonuna katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. In vivo olarak, sLOX-1'in bazal ekspresyonu düşüktür, ancak oxLDL ve diğerleri maddeler tarafından indüklenebilir. sLOX-1'in oxLDL olarak bir liganda bağlanması, oksidatif strese neden olarak endotel hasarının erken safhasında kritik bir rol oynar. Hipertansiyon artmış vasküler oksidatif stres ile ilişkilidir, ancak oksidatif stresin HT'nin bir nedeni mi veya sonucu mu olduğu tartışılmaya devam etmektedir. Daha önce yaptığımız bir çalışmanın sonuçları oksidatif stresin hipertansiyon ve yaşlanmanın gelişimini ve ilerlemesini ayrı ayrı etkileyebileceğini göstermektedir (16). Bulgularımız hipertansiyonun aterosklerozun ilerlemesine nasıl katkı sağladığını açıklayabilir ve endotel disfonksiyonunun bir göstergesi olarak sLOX-1 klinik uygulamada ateroskleroz için erken bir belirteç olarak düşünülmesi gerektiğini ön gördürebilir.

Nitrik oksit endotel bağımlı vazodilatasyona aracılık eden, endotel kaynaklı, önemli bir maddedir. Azalmış NOx aktivitesi aterosklerozun başlaması, ilerlemesi ve komplikasyonlarında rol oynar (17). iNOS'un yaşla birlikte aşırı eksprese edildiği ve yaşa bağlı vasküler hücre apoptozu ile korele olduğu gösterilmiştir (18). Daha önce yapılan çalışmalara paralel olarak çalışmamızda yaşlı HT grubunda NOx aktivitesinin yaşlı kontrol gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük ve iNOS aktivitesinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulduk. Daha önce birçok çalışmada NOx'nun plazma düzeylerinin yaşla birlikte azaldığı veya arttığı bildirilmiştir (19-21).

Bununla birlikte, yaşa bağlı endotel disfonksiyonun altında yatan nedenler ve mekanizmalar (iNOS gen indüklenebilirliği ve

aktivitesi gibi) henüz net değildir, ancak iNOS'un NOx seviyelerini değiştirdiği gösterilmiştir (10, 20). Endotel bağımlı vazodilatasyonda yaşa bağlı etkilene farklı mekanizmalara bağlı olabilir (13). Hayvan çalışmaları sLOX-1'in aşırı eksprese edilmesinin NOx azalmasıyla endotel bağımlı vazodilatasyonu azalttığını öne sürmektedir (22-24). Bu döngünün NOx biyoaktivitesinin azalması veya sLOX-1 ve iNOS aktivasyonu ile tetiklenip tetiklenmediğini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, çalışmamızın sonuçları, genç ve yaşlı hipertansif hastalarda vasküler yaşlanmanın esas olarak endotel disfonksiyonunun erken belirteci olan artmış sLOX-1 seviyeleri ile karakterize olduğunu göstermektedir. iNOS/NOx yolağı, yaşlanma sürecinde endotel disfonksiyona katkıda bulunabilir ve özellikle yaşlı hipertansiflerde hem iNOS aktivitesini hem de endotel hasarını artırır. Yaşlanma HT'de sLOX-1 ve CIMT ile ilişkilidir. CIMT ve oxLDL HT üzerinde nisbeten daha etkili faktörlerdir. sLOX-1, oksLDL, NOx, iNOS ve CIMT'nin yaşlanma ve HT ile ilişkisini araştıran, daha büyük popülasyonda yapılacak randomize klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Standartlara Uygunluk

Çalışma, İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından çalışma başlamadan önce onaylanmış ve Helsinki İkinci Bildirgesinin gereklerine göre yürütülmüştür.

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan yazılı onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje Numarası: 30697).

KAYNAKLAR

1. Herrera MD, Mingorance C, Rodríguez-Rodríguez R et

- al. (2010) Endothelial dysfunction and aging: an update. *Ageing Res Rev.* 9: 142-152.
2. Navarra T, Del Turco S, Berti S et al. (2010) The lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and its soluble form: cardiovascular implications. *J Atheroscler Thromb.* 17: 317-331.
3. Lubrano V, Balzan S (2014) LOX-1 and ROS, inseparable factors in the process of endothelial damage. *Free Radic Res.* 48: 841-848
4. Cakatay U, Kayali R, Uzun H (2008) Relation of plasma protein oxidation parameters and paraoxonase activity in the ageing population. *Clin Exp Med.* 8: 51-57.
5. Otsuki T, Maeda S, Mukai J et al. (2015) Association between plasma sLOX-1 concentration and arterial stiffness in middle-aged and older individuals. *J Clin Biochem Nutr.* 57: 151-155.
6. Oliveira-Paula GH, Lacchini R, Tanus-Santos JE (2014) Inducible nitric oxide synthase as a possible target in hypertension. *Curr Drug Targets.* 15: 164-174.
7. Cau SB, Carneiro FS, Tostes RC (2012) Differential modulation of nitric oxide synthases in aging: therapeutic opportunities. *Front Physiol.* 3: 218.
8. Glenn CL, Wang WY, Morris BJ (1999) Different frequencies of inducible nitric oxide synthase genotypes in older hypertensives. *Hypertension.* 33:927-932.
9. Mehta JL (2004) The role of LOX-1, a novel lectin-like receptor for oxidized low density lipoprotein, in atherosclerosis. *Can J Cardiol.* 20: 32-36.
10. Huang H, Koelle P, Fendler M et al. (2014) Induction of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression by oxLDL inhibits macrophage derived foam cell migration. *Atherosclerosis.* 235:213-222.
11. Besir, Fahri Halit, et al. "Normal values correlates' of carotid intima-media thickness and affecting parameters in healthy adults/Saglikli eriskinlerde karotis intima-media kalinliginin normal degerleri ve etkileyen parametreler." *The Anatolian Journal of Cardiology (Anadolu Kardiyoloji Dergisi)* 12.5 (2012): 427-434.
12. Yavuzer, S., Yavuzer, H., Cengiz, M., Erman, H., Altıparmak, M. R., Korkmazer, B. et al. (2015). Endothelial damage in white coat hypertension: role of lectin-like oxidized low-density lipoprotein-1. *Journal of human hypertension*, 29(2), 92-98.
13. Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L (2001) Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans. *Hypertension.* 38: 274–279.
14. Kataoka H, Kume N, Miyamoto S et al. (1999) Expression of lectin like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. *Circulation.* 99: 3110-3117.
15. Yavuzer S, Yavuzer H, Cengiz M et al. (2016). The role of protein oxidation and DNA damage in elderly hypertension. *Aging Clin Exp Res.* 28: 625-632.
16. Davignon J, Ganz P (2004) Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 109: III27-III32.
17. Braga M, Sinha Hikim AP, Datta S et al. (2008) Involvement of oxidative stress and caspase 2-mediated intrinsic pathway signaling in age-related increase in muscle cell apoptosis in mice. *Apoptosis.* 13: 822–832.
18. Di Massimo C1, Scarpelli P, Di Lorenzo N et al. (2006) Impaired plasma nitric oxide availability and extracellular superoxide dismutase activity in healthy humans with advancing age. *Life Sci.* 78: 1163-1167.
19. Pie JE, Baek SY, Kim HP et al. (2002) Age-related decline of inducible nitric oxide synthase gene expression in primary cultured rat hepatocytes. *Mol Cells.* 13: 399-406.
20. Alusik S, Jedlickova V, Paluch Z et al. (2008) Plasma levels of nitrite/nitrate and inflammation markers in elderly individuals. *Bratisl Lek Listy.* 109: 289-292.
21. Eichhorn B, Muller G, Leuner A et al. (2009) Impaired vascular function in small resistance arteries of LOX-1 overexpressing mice on high-fat diet. *Cardiovasc Res.* 82: 493–502.
22. Xu X, Gao X, Potter BJ et al. (2007) Anti-LOX-1 rescues endothelial function in coronary arterioles in atherosclerotic ApoE knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27: 871–877.
23. Torregrossa AC, Aranke M, Bryan NS (2011) Nitric oxide and geriatrics: Implications in diagnostics and treatment of the elderly. *J Geriatr Cardiol.* 8: 230-242.
- 24.