

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİPİT ve LİPOPROTEİN ALT SINIF DÜZEYLERİNİN
SAĞLIKLI KİŞİLERDE ve KORONER KALP
HASTALARINDA İNCELENMESİ**

Mehtap BİLİCİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Rize-2010

T.C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

LİPİT ve LİPOPROTEİN ALT SINIF DÜZEYLERİNİN SAĞLIKLI KİŞİLERDE ve KORONER
KALP HASTALARINDA İNCELENMESİ

Mehtap BİLİCİ

KİMYA

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 31.12.2009

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 29.01.2010

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hasan EFE

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Özlem FAİZ

Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Kerim SERBEST



Rize-2010

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programında yapılmıştır.

Bu çalışmada koroner kalp hastalarının lipoprotein alt sınıfları incelenmiştir.

Tez çalışmalarım boyunca bana her türlü desteği sağlayan çok değerli hocam, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU'ya saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında, bana maddi ve manevi destek olan sevgili çalışma arkadaşım Kimyager Adem DEMİR'e, tez yazımım esnasında yardımcı olan Arş. Gör. Kaan KARAOĞLU'na ve Kimyager Talat BARAN'a teşekkür ederim. Ayrıca benden yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Asım ÖREM, Yrd. Doç. Dr. Mehmet BOSTAN, Yrd. Doç. Dr. Asu USTA, Arş. Gör. Emine AKYÜZ, Arş. Gör. Emine KAPANCIK ve Arş. Gör. Arife Pınar EKİNCİ'ye teşekkür ederim.

Bu çalışmayı BAP.2008.102.02.2 numaralı proje olarak destekleyen Rize Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca benden desteklerini esirgemeyen başta annem ve babam olmak üzere sevgili aileme teşekkür ederim.

Mehtap BİLİCİ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
SUMMARY.....	V
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Lipitler.....	2
1.2.1. Basit lipitler.....	2
1.2.2. Bileşik lipitler.....	3
1.3. Lipoproteinler.....	3
1.3.1. Şilomikron metabolizması.....	4
1.3.2. VLDL metabolizması.....	6
1.3.3. IDL metabolizması.....	7
1.3.4. LDL metabolizması.....	7
1.3.5. HDL metabolizması.....	9
1.4. Apolipoproteinler.....	11
1.4.1. Apolipoproteinlerin görevleri.....	11
1.4.2. Apolipoproteinlerin yapısal özellikleri.....	12
1.4.3. Apolipoprotein sınıfları.....	12
1.4.3.1. Apolipoprotein A.....	13
1.4.3.2. Apolipoprotein B.....	13
1.4.3.3. Apolipoprotein C.....	13
1.4.3.4. Apolipoprotein D.....	14
1.4.3.5. Apolipoprotein E.....	14
1.5. Lipoprotein alt sınıfları ve klinik önemi.....	14

1.5.1.	Lipoprotein alt sınıflarının tayin metotları.....	14
1.5.2.	HDL alt sınıfları ve klinik önemleri.....	15
1.5.3.	LDL alt sınıfları ve klinik önemleri.....	16
1.6.	Koroner Arter Hastalığı.....	17
1.6.1.	Koroner arter hastalığı ile ilişkili risk faktörleri.....	19
1.6.2.	Koroner arter hastalığı ile ilişkili mutasyonlar.....	20
2.	MATERYAL ve METOT.....	22
2.1.	Materyal.....	22
2.1.1.	Deneyde kullanılan cihazlar ve kitler.....	22
2.1.2.	Numunelerin toplanması.....	22
2.2.	Metot.....	22
2.2.1.	Otoanalizörle tayin edilen parametreler.....	22
2.3.	Lipoprotein alt sınıflarının belirlenmesi	23
2.3.1.	Lipoprint sistem bileşenleri.....	23
2.3.2.	Lipoprotein alt sınıf tayin kiti bileşenleri.....	23
2.3.3.	Deneyin çalışma prensibi.....	23
2.3.4.	LDL alt sınıf tayini.....	24
2.3.5.	HDL alt sınıf tayini.....	24
2.4.	İstatistik Analizler	26
3.	BULGULAR.....	27
4.	TARTIŞMA.....	31
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	33
	KAYNAKLAR.....	34
	ÖZGEÇMİŞ.....	38

ÖZET

Tüm dünyada, koroner kalp hastalığına yol açan ateroskleroza bağlı hastalıklar başlıca ölüm nedenlerinden biridir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda serum kolesterol düzeyleri normal seviyelerde olduğu halde bireyler de koroner kalp hastalıkları belirlenmektedir. Bu durumu açıklama için lipoprotein alt sınıflarının analizine ihtiyaç duyulmaktadır. LDL ve HDL gradientli jel elektroforezi, NMR, HPLC ve ultrasantrifüjleme ile alt sınıflarına ayrılmaktadır.

Bu çalışma; koroner damar tıkanıklık düzeyleri anjiyografi tekniği ile belirlenen denekler üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmaya katılan denekler bir damarı tıkalı (n=13), iki damarı tıkalı (n=26), üç damarı tıkalı (n=22) hasta grupları ile damarı tıkalı olmayan kontrol grubu (n=24) olmak üzere 4 farklı grup oluşturuldu. Öncelikle çalışma gruplarının otoanalizörle rutin lipit profili belirlendi. Bu kişilerin plazmaların da Quantimetrix lipoprint sistem kullanılarak lipoprotein alt sınıfları tespit edildi.

Çalışma gruplarının rutin lipit parametreleri (HDL-K hariç) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlendi. Fakat kontrol grubunun HDL-K düzeyleri üç damarı tıkalı olan hasta grubuna göre yüksek bulundu. Lipoprotein alt sınıflarının analizi sonucunda LDL alt sınıfları arasında bir farklılık olmamasına rağmen HDL'nin bazı alt sınıfları arasında farklılık olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Lipoprotein Alt Sınıfları, Koroner Arter Hastalığı, Apolipoprotein

SUMMARY

INVESTIGATION OF LIPID AND LIPOPROTEIN SUBFRACTION LEVELS IN HEALTHY PEOPLE AND CORONARY HEART PATIENTS

All over the world, diseases related to atherosclerosis which causes coronary artery diseases are major death causes. Recently experiments showed that there are people who have normal levels of serum cholesterol suffer from coronary artery disease. The analysis of Lipoprotein subfractions are necessary to express this situation. Gradient gel electrophoresis, NMR, HPLC, and ultra-centrifugation are used for separating of HDL and LDL subfractions.

This study was performed in subjects who the degree of coronary artery blockage was evaluated by angiography. Individuals joined to the study were classified to four groups according to state of vessel blockage; one-vessel occlusion (n=13), two-vessel occlusion (n=26), three-vessel occlusion (n=22), and no occlusion as control(n=24). Firstly, plasma lipid parameters in the study groups were analyzed in autoanalyzer, then, the levels of lipoprotein subclasses in plasma were estimated by using gradient gel electrophoresis system.

It was observed that there is no statistically difference between traditional lipid profiles in the study groups (except for HDL-C). When analyzed lipoprotein subclasses, certain subclasses of HDL-C in the patients with three-vessel occlusion showed a significant decrement compared to control group whereas there is no change in the level of LDL-C between groups.

Keywords: Lipoprotein Subfractions, Coronary Arter Disease, Apolipoprotein

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alfa
β	: Beta
kb	: Kilo baz
dk	: Dakika
dL	: Desilitre
Da	: Dalton
K	: Kilo
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
μ L	: Mikrolitre
Apo	: Apoprotein
CETP	: Ester Kolesterol Transfer Proteini
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FL	: Fosfo Lipit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HDL-C	: High Density Lipoprotein Kolesterol
HDL-K	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
HTGL	: Hepatik Triglicerit Lipaz
IDL	: Orta Yoğunluklu Lipoprotein
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KE	: Kolesterol Esteri
KDH	: Kalp Damar Hastalığı
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
LCAT	: Lezitin Kolesterol Açıl Transteraz
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LDL-C	: Low Density Lipoprotein Kolesterol
LDL-K	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
LDLR	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptörü
LPL	: Lipoprotein Lipaz

LRP	: Lipoprotein Reseptör Proteini
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PAGE	: Poli Akrilamid Jel Elektroforezi
PLTP	: Fosfolipit Transfer Proteini
RCT	: Ters Kolesterol Transferi
RES	: Retikulo Endotelial Sistem
sd	: Küçük yoğun
SK	: Serbest Kolesterol
SYA	: Serbest Yağ Asidi
TAG (TG)	: Triasil Gliserol
TK	: Toplam Kolesterol
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Şilomikronun yapısı.....	5
Şekil 2. Şilomikron metabolizması.....	6
Şekil 3. VLDL yapısı	7
Şekil 4. VLDL metabolizması.....	7
Şekil 5. LDL yapısı	9
Şekil 6. LDL metabolizması.....	10
Şekil 7. HDL yapısı.....	11
Şekil 8. HDL metabolizması.....	12
Şekil 9. Lipoprotein jel elektroforez sistemi.....	16
Şekil 10. Kononer arter lezyonu.....	20
Şekil 11. KAH açısından yüksek riskli hastanın lipoprotein alt sınıf profili.....	26
Şekil 12. KAH açısından düşük riskli hastanın lipoprotein alt sınıf profili.....	27
Şekil 13. Geleneksel lipit profili.....	29
Şekil 14. Çalışma gruplarının aterojenik ve anti-aterojenik göstergesi.....	31

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Plazma lipoproteinlerinin bileşimi.....	4
Tablo 2. Apolipoprotein türlerinin özellikleri ve görevleri.....	13
Tablo 3. Ateroskleroz risk faktörleri.....	22
Tablo 4. Çalışma gruplarına ait demografik bulgular.....	28
Tablo 5. Çalışma gruplarının rutin lipit parametreleri	28
Tablo 6. Çalışma gruplarının lipoprotein alt fraksiyonları.....	30

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

İnsanın beslenme amacı daha sağlıklı bir yaşam sürdürmektir. Bu sebeple beslenme alışkanlığı ve özellikle de diyetle aldığımız yağlar metabolizma açısından büyük öneme sahiptir. Özellikle diyetle ortalama yağ alımı %15'den daha düşük olan ülkelere yağ alımı ortalama %30'larda olması ile ilgili Dünya Sağlık Örgütü açık ve kesin tavsiyelerde bulunmaktadır. Sağlıklı bir yaşam için ortalama toplam enerjinin en az %20'si yağlardan sağlanmalıdır. Yağlar enerji sağlamanın yanında iç organları dış darbelerden koruma, vücut ısısını denetleme, eklemlerin kayganlığını sağlama, hormonların yapımı ve yağda çözünen vitaminlerin vücutta emilimi için oldukça önemlidir. Sağlıklı bir zayıflama için bile fiziksel aktivitenin artırılması, sebze, meyve ve tahılla beslenmenin yanı sıra günlük enerjinin en az %30'u yağlardan sağlanmalıdır. Fakat ihtiyaçtan fazla yağ alınması durumunda fazla yağ adipoz dokuda doğrudan depo edilmektedir. Eğer depo edilen yağlar kullanılmaz ise çeşitli hastalıkları da beraberinde getirmektedir. Bunların en önemlileri de; obezite, hiperlipidemi, dolaşım bozuklukları ve kalp damar hastalıklarıdır [1].

Ülkemizde kalp-damar hastalığına (KDH) sahip yaklaşık 2 milyon kişinin bulunduğu tahmin edilmektedir ve her yıl yaklaşık 300 bin kişi bu hastalık nedeniyle hayatını yitirmektedir. Günümüzde her üç kişiden biri bu hastalığa yakalanma riskini taşımaktadır. Daha önceleri ileri yaşlarda gözlenen KDH, çevresel şartlar ve değişen yaşama alışkanlıklarından dolayı artık bütün yaş gruplarında da sıklıkla gözlenmektedir. Bunun içindir ki yapılacak erken, hızlı ve doğru tanınım, hastalığın tedavisine yönelik uygun stratejinin seçimine katkı sağlayacağı düşünülmektedir [2]. Son zamanlarda serum kolesterol seviyelerinin belirlenmesi hatta bu kolesterolün KDH'ı açısından ateroskleroz lehinde olan aterojenik (LDL kolesterol) ve aleyhinde olan antiaterojenik (HDL kolesterol) şeklindeki fraksiyonlarının tayin edilmesi bile hastalığın değerlendirilmesinde zaman zaman yetersiz kaldığı belirtilmektedir. Plazma lipoprotein düzeyinin tayininden daha ziyade onun alt sınıflarının tespit edilmesi, kalp-damar hastalık riskinin ortaya konması açısından daha açıklayıcı olacağı birçok çalışmada rapor edilmiştir [3,4]. Özellikle bölgemizde gözlenen kolesterolce zengin hayvansal yağ ağırlıklı beslenme alışkanlığının, hastalığın görülme sıklığında önemli derecede artışa neden olduğu tahmin edilmektedir.

Bu çalışmanın amacı; sağlıklı kişilerde ve en az bir koroner damarı tıkanmış olan hastalarda geleneksel lipit parametreleri ile lipoprotein alt sınıf düzeylerini belirleyerek, damar tıkanıklık düzeyleri ile lipoprotein alt sınıfları arasındaki muhtemel ilişkiyi ortaya koymaktır.

1.2. Lipitler

Lipitler heterojen yapıda olan, suda çözünmeyen kloroform, benzen ve eter gibi organik çözücülerde kolayca çözünebilir biyomoleküllerdir. Yapı ve fonksiyonları bakımından çok büyük farklılıklar gösterirler [5].

Lipitler hücre zarının yapısal bileşeni, adipoz dokuda enerjinin depo şekli, metabolik yakıtın bir taşınım formu ve bir çok bakterinin, yüksek bitki yapraklarının, böcek kabuklarının ve omurgalı derilerinin hücre çeperleri için koruyucu bileşeni olarak görev yapar. Bunların yanı sıra yine lipitler grubuna dahil edilen bazı bileşiklerin vitamin ve hormon olarak da etkili biyolojik aktiviteleri vardır.

Lipitler, basit ve bileşik lipitler olarak sınıflandırılırlar.

1.2.1. Basit lipitler

Yağ asitlerinin çeşitli alkollerle oluşturdukları esterlerdir.

Yağ asitleri: Yağ asitleri, hidrokarbon zincirli monokarboksilik organik asitlerdir; yapılarında, 4-36 karbonlu hidrokarbon zincirinin ucunda karboksil grubu bulunur. Yağ asitlerinin birçok hücre ve dokularda serbest haldeki konsantrasyonları çok düşük olmasına rağmen, nötral yağlar, fosfolipidler, glikolipitler, kolesterol esterleri ve bazı mumların yapı taşı oluşturmaktadır.

Nötral yağlar: Yağ asitlerinin gliserol (gliserin) ile oluşturdukları esterlerdir; trigliseridler veya triaçilgliseroller diye de adlandırılırlar. Hayvan ve bitki hücrelerindeki yağ depolarının başlıca bileşenidir. Trigliseridler tabiattaki nötral yağların büyük kısmını oluştururlar. Ayrıca diaçilgliseroller ve monoaçilgliseroller de mevcuttur.

Mumlar: Yağ asitlerinin uzun zincirli monohidroksilik alkollerle oluşturdukları esterlerdir. Bu bileşikler deri, kürk ve tüylerin koruyucu örtüsünü oluştururken, yüksek bitkilerin meyve ve yapraklarının ve birçok böceğin kutiküllerinin dış yüzeylerinde yer alır.

Kolesterol esterleri: Yağ asitlerinin kolesterol ile oluşturdukları esterlerdir.

Vitamin A esterleri: Yağ asitlerinin vitamin A ile oluşturdukları esterlerdir.

Vitamin D esterleri: Yağ asitlerinin vitamin D ile oluşturdukları esterlerdir.

1.2.2. Bileşik lipitler

Yağ asitleri ve alkole ek olarak başka gruplar içeren lipitlerdir.

Fosfolipitler: Fosfolipitler, hücre zarının en önemli bileşenidir. Yağ asitleri ve alkole ek olarak bir fosforik asit içeren bileşik lipitlerdir. Fosfolipit, gliserol molekülüne iki yağ asidi ve fosfatın bağlanmasıyla oluşan fosfotidat omurgasına serin, etanolamin, kolin, gliserol ve inositol gibi alkollerden birinin bağlanmasıyla oluşur. Fosfolipitlerin yapısındaki alkol, bazı fosfolipitlerde gliserol, bazı fosfolipitlerde ise sfingozindir [6].

Sfingolipitler: Gliserol yerine, yağ asidi ve uzun zincirli bir amino alkol olan ve organizma tarafından palmitat ve serinden çıkarak sentezlenen sfingozin içeren bileşik lipitlerdir. Sfingolipitlerin fosfat içerenleri, sfingomiyelinlerdir. Sfingomiyelinler özellikle sinir hücrelerinin membranlarında bulunur. Sfingolipitlerin fosfat içermeyip karbohidrat içerenleri ise glikolipitler olarak bilinirler. Glikolipitler kan grubu antijenlerini oluşturur [5].

1.3. Lipoproteinler

Apolar bileşikler olan lipitler suda çözünmediği için, plazmada lipoprotein şeklinde taşınırlar. Lipoproteinlerin merkezinde polar olmayan lipitler (trigliserit ve kolesterol esterleri) ve yüzeyinde ise polar lipitleri (fosfolipit, serbest kolesterol ve apoproteinler) taşıyan küresel makromoleküllerdir. Yapılarında apolipoprotein adı verilen ve yüzeysel yerleşimli özel proteinler bulunur. Merkezinde yer alan lipitler, fosfolipitle ve proteinlerle birbirlerine Van Der Waals kuvvetleri etkileşimlerde bulunurlar. Bu lipitlerle proteinler arasındaki etkileşimler, lipitlerin lipoproteinler ile hücre zarı arasındaki değiş tokuşuna ortam sağlar [7].

Lipoproteinler ultrasantrifüjleme tekniği ile yoğunluklarına göre şilomikronlar, VLDL, IDL, LDL ve HDL olmak üzere beş gruba ayrılırlar.

Lipoproteinler ilk kez 1920'lerde Machebouf tarafından tanımlanmıştır. Bu araştırmacı, lipoproteinleri ayırmak için amonyum sülfat kullanmıştır. Daha sonra, 1940'larda Onclay ve arkadaşları, lipoproteinleri fraksiyonlandırmada Cohn yöntemini, Goffman ve arkadaşları ise, aynı amaçla ultrasantrifüjü kullanmışlardır. Bu yöntem, daha sonra geliştirilip klasik bir yöntem haline gelmiştir. Hatch ve arkadaşları ise lipoproteinleri ayırmak için elektroforez tekniğini kullanmışlardır [8].

Tablo 1. Plazma lipoproteinlerinin bileşimi

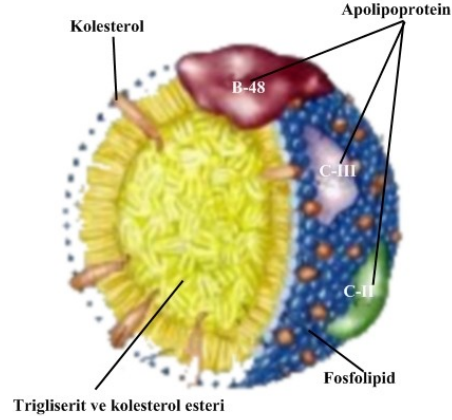
Lipoprotein	Kaynağı	Yoğunluk (g/mL)	%Protein	%TAG ^a	%FL ^b	%KE ^c	%SK ^d	%SYA ^e
Şilomikron	Bağırsak	<0.95	1-2	85-88	8	3	1	0
VLDL	Karaciğer	0.95-1.006	7-10	50-55	18-20	12-15	8-10	1
IDL	VLDL	1.006-1.019	10-12	25-30	25-27	32-35	8-10	1
LDL	VLDL	1.019-1.063	20-22	10-15	20-28	37-48	8-10	1
HDL ₂	Bağırsak, Karaciğer	1.063-1.125	33-35	5-15	32-43	20-30	5-10	0
HDL ₃	Bağırsak, Karaciğer	1.125-1.21	55-57	3-13	26-46	15-30	2-6	6
Albümin- SYA	Yağ dokusu	>1.281	99	0	0	0	0	100

a, triaçilgliserol; b, fosfolipit; c, kolesterol esteri; d, serbest kolesterol; e, serbest yağ asiti

1.3.1. Şilomikron metabolizması

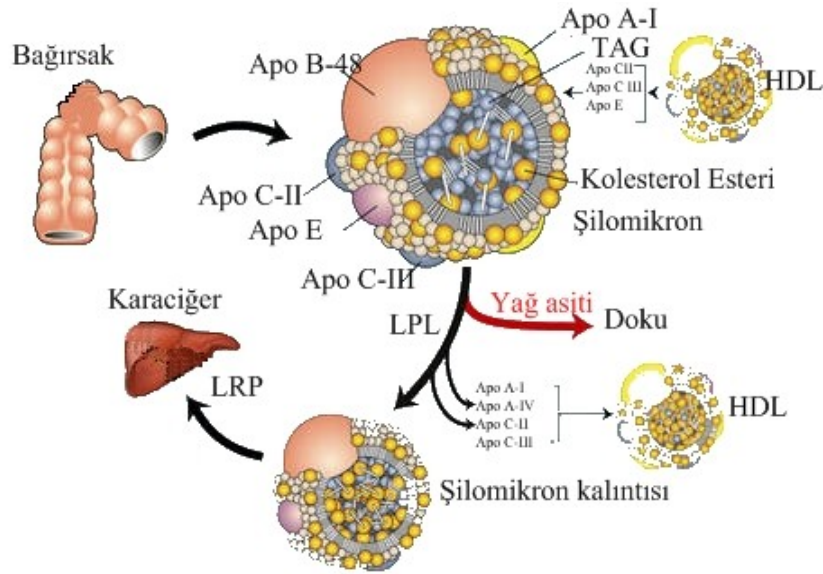
Şilomikronlar, diyetdeki lipitleri dolaşıma taşımaktan sorumludur. Bağırsakta sentezlenen, özellikle on karbondan büyük yağ asitlerinin oluşturduğu trigliseritler yanında yapıya kolesterol, fosfolipit, Apo B-48 ve Apo A dahil ederek şilomikronlar oluşturulur (Şekil 1). Büyüklüğü 100-1000 nm arasında değişen yoğunluğu <0.950 g/mL, elektroforetik mobilitesine göre incelendiğinde orjinde yer alan, plazmanın en büyük lipoprotein molekülüdür. Proteinler şilomikronların yapı taşıdır. Şilomikronların protein içeriği %1-2 olmasına rağmen önemli rollere sahiptirler. Şilomikronların plazmadan temizlenmesi (klirensleri) oldukça hızlıdır ve yarılanma ömürleri bir saatten azdır. Normalde 12 saatlik açlık sonrasında kanda şilomikrona rastlanmaz [9].

Yemek sonrası bağırsaktan lenf yolu ile genel dolaşıma geçen şilomikronlar dolaşımda bulunan HDL'den Apo C-II'yi ve Apo E'yi alır. Şilomikronlar, ekstrahepatik doku damar endotelinde bulunan, sentezi insülin ile uyarılan lipoprotein lipaz ile etkileşime girer. Şilomikron yapısındaki Apo C-II ve fosfolipitler ile gerçekleştirilen bu etkileşim ile trigliseritlerin büyük kısmı lipolize uğrar ve açığa çıkan yağ asitleri dokular tarafından alınır (Şekil 2).



Şekil 1. Şilomikronun yapısı

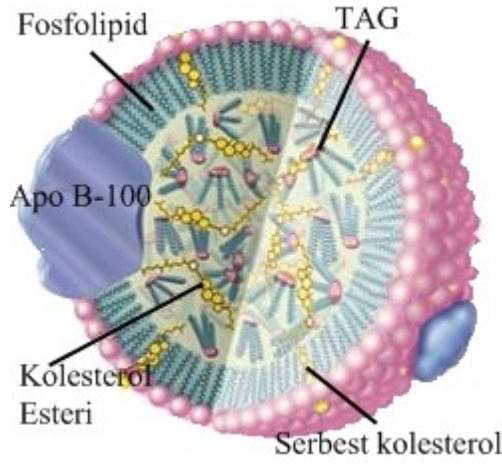
Lipoprotein lipaz ile büyük oranda trigliseritleri, Apo A ve Apo C'sini kaybeden şilomikron kalıntıları karaciğer Apo E reseptörleri ve lipoprotein reseptör proteini (LRP) tarafından tanınıp tamamen dolaşımdan uzaklaştırılır [8,9].



Şekil 2. Şilomikron metabolizması

1.3.2.VLDL metabolizması

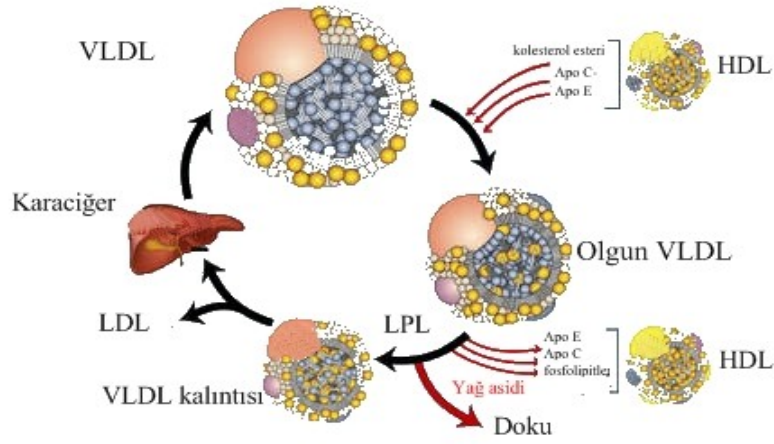
Yapı ve kompozisyon olarak şilomikronlara benzemekle birlikte trigliserit içeriği daha az, kolesterol, fosfolipit ve protein içeriği daha fazladır. Partikül büyüklüğü 25-100 nm arasındadır, yoğunluğu <1.006 g/mL ve elektroforezde pre- β mobilitesi göstermektedir. Yapısında Apo C, Apo E ve Apo B-100 bulunmaktadır (Şekil 3). VLDL ve şilomikronlar arasındaki başlıca farklar, sentez yeri ve taşıdıkları trigliseritlerin türüdür [7]. VLDL, en çok karaciğerde sentezlenir. Başlıca görevi açlıkta dokular için gerekli endojen kaynaklı lipitleri taşır. Ancak bazı VLDL'ler ince bağırsakta sentezlenir ve safra kökenli yağ asitleri ile endojen kolesterolün yeniden emiliminde rol alırlar. Aşırı karbohidrat alımına bağlı olarak endojen yağ asitlerinin hepatik sentez hızının ve karaciğere serbest yağ asitlerinin giriş hızının fazlaştığı durumda VLDL sentezinde artış görülür [10].



Şekil 3. VLDL yapısı

Açlıkta yağ dokusunda serbestleşen yağ asitleri karaciğerde trigliseritlere çevrilip, yapıya fosfolipit, kolesterol, Apo B-100 dahil edilerek VLDL olarak dolaşıma verilir. VLDL'nin HDL ile etkileşimi sonucu HDL'den Apo C-II ve Apo E alan VLDL, lipoprotein lipaz tarafından büyük ölçüde trigliseritler lipolize uğrar ve açığa çıkan yağ asitleri ekstrahepatik dokulara verilir (Şekil 4).

VLDL kalıntısı (IDL) ya karaciğer tarafından tutulur ya da LDL haline dönüşüp karaciğer ya da ekstrahepatik dokular tarafından tamamen metabolize edilir [9].



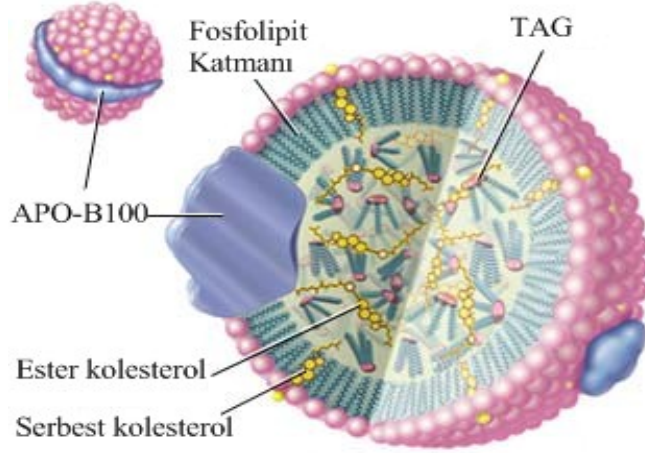
Şekil 4.VLDL metabolizması

1.3.3. IDL metabolizması

VLDL'nin LDL'ye dönüşümünde IDL ara ürün olarak meydana gelir ve buna VLDL kalıntısı (remnant) da denilebilir. Partikül büyüklüğü ortalama 25-30 nm olup yoğunluğu 1.006-1.019 g/mL arasındadır. Elektroforezde yavaş pre- β mobilitesi gösterir. Başlıca protein yapı taşları Apo B-100 ve Apo E'dir. Dolaşımdan LDL reseptörlerince temizlenir veya hepatik lipoprotein lipaz enzimi ile LDL'yi oluştururlar [8].

1.3.4. LDL metabolizması

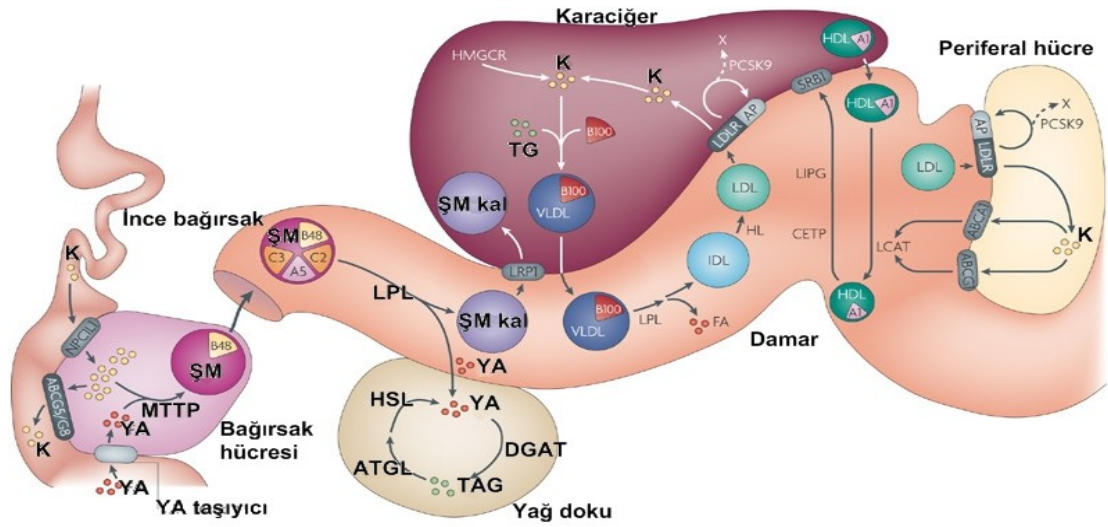
LDL plazmadaki ana kolesterol taşıyıcı partiküldür. Kolesterolün karaciğerden dokulara dağıtılmasında görev alır. Partikül büyüklüğü 20-25 nm, yoğunluğu 1.190-1.630 g/mL olup, elektroforezde β -mobilitesi gösterirler. Yapısında eser miktardaki Apo E dışında sadece Apo B-100 bulundurur. VLDL partikülü başına düşen toplam Apo B miktarı değişmediği görülünce LDL'nin VLDL katabolizması sonucunda oluştuğu bildirilmiştir [10]. Bir çok durumda LDL'nin sentezi VLDL sentez hızına ve LDL'ye dönüşen VLDL yüzdesine eşittir. Plazmadaki LDL konsantrasyonu, sentezlenme hızı kadar katabolizma hızına da bağlıdır. Diyet yağının türü ve LDL reseptörü ile Apo B genlerinin mutasyonu gibi çevresel ve genetik faktörler LDL metabolizmasına etkileri oldukça fazladır [11].



Şekil 5. LDL yapısı

Fibroblast, lenfosit ve arteryel düz kas hücre kültürleri ve karaciğerde yapılan çalışmalarda LDL için spesifik bağlanma yerlerinin ya da reseptörlerin Apo B-100, Apo E reseptörünün olduğunu göstermiştir. Dolaşımdaki LDL Apo B-100 ile doku reseptörlerine bağlanır ve endositoz olayı ile hücre içine alınır. Hücre içine alınan bu vezikül lizozom ile birleşir. Burada LDL'deki apoproteinler hücre içi hidrolitik enzimler tarafından yıkılır ve aminoasitlere ayrılır. Ester kolesterol ise lipaz enzimi ile serbest kolesterol ve yağ asitlerine parçalanır. Oluşan serbest kolesterol hücre içerisinde değişik şekillerde kullanılır. Fazla miktarda serbest kolesterol bulunması halinde ise, açıl KoA kolesterol transferaz enzimi aktive edilerek ester kolesterole çevrilir ve depo edilir [9]. Plazma LDL kolesterol konsantrasyonu yükselirse RES (Retikulo Endotelial System)'e ait makrofajlar tarafından dolaşıma alınabilirler. Makrofajlardaki kolesterol esteri yükselmesi sonucunda köpük hücresi olarak adlandırılan hücreler oluşur. Aterosiklorotik plakların gelişiminde bu hücrelerin rolü büyüktür.

Ailesel hiperkolestrolemi'de LDL reseptörleri protein konfigürasyonu bozulmuştur. Dolaşımdaki LDL kolesterol, dokudaki LDL reseptörleri tarafından tanınmaz ve bağlanamaz. Bu durumda serum kolesterol düzeyi oldukça yükselir ve ateroskloroz gelişimine sebep olur [8].



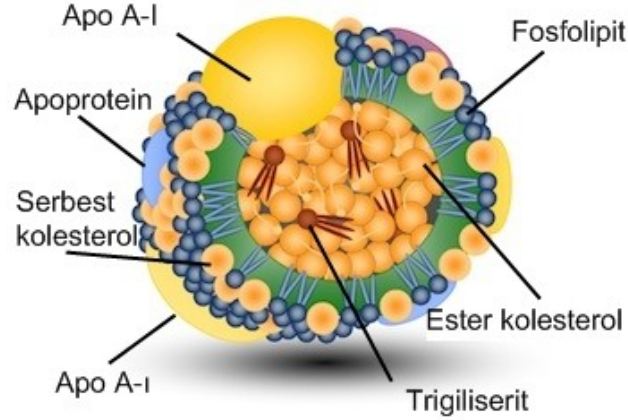
Şekil 6. LDL metabolizması

1.3.5. HDL metabolizması

HDL dokudaki kolesterolü karaciğere taşımakta rol alır. HDL serum protein tanecikleri içinde 5-17 nm çapında en küçük ve en yoğun olanıdır. Plazmada tek formda olup, lipit içeriğindeki değişikliklere göre disk ve küre formu arasında dönüşür. Diğer lipoproteinlerden farklı olarak kütesinin %50'sini proteinler oluşturur. Fosfolipitler gibi yüklü lipitler ve proteinler yüzeyde, trigliseritler ve kolesterol esterleri çekirdek kısmında yer alırken serbest kolesterol bu iki bölüm arasında dağılmış halde bulunur [12]. HDL'in temel apoproteini Apo AI dir. Ayrıca yapısında Apo AII ve Apo AIV'de bulunur. HDL taneciklerinin protein kütesinin %70'ini Apo AI, %20 kadarını Apo AII kalanı ise Apo C'ler Apo E, D ve Apo J gibi diğer apoproteinler oluşturur. Plazmada Apo E'nin en büyük kısmı HDL'de bulunduğundan HDL Apo E için adeta bir depo görevindedir [7]. Bu nedenle HDL konsantrasyonları koroner ateroskleroz sıklığı ile ters ilişkilidir.

HDL'nin yoğunluğu 1.063 ile 1.125 g/mL'de arasında olan HDL₂ ve yoğunluğu 1.125-1.210 g/mL'de arasında olan HDL₃ isimli iki farklı fraksiyonu vardır. Partikül büyüklüğü HDL₂ için 9.5 nm ve HDL₃ için ise 6.5 nm'dir. Elektrofrezde α -mobilitesi gösterirler. HDL₂'nin yapısında kolesterol, kolesterol esterleri, fosfolipit ve Apo AI bulunur. Trigliseritlerce zengin lipoproteinlerin lipolizi sırasında, yüzey elemanlarının serbest

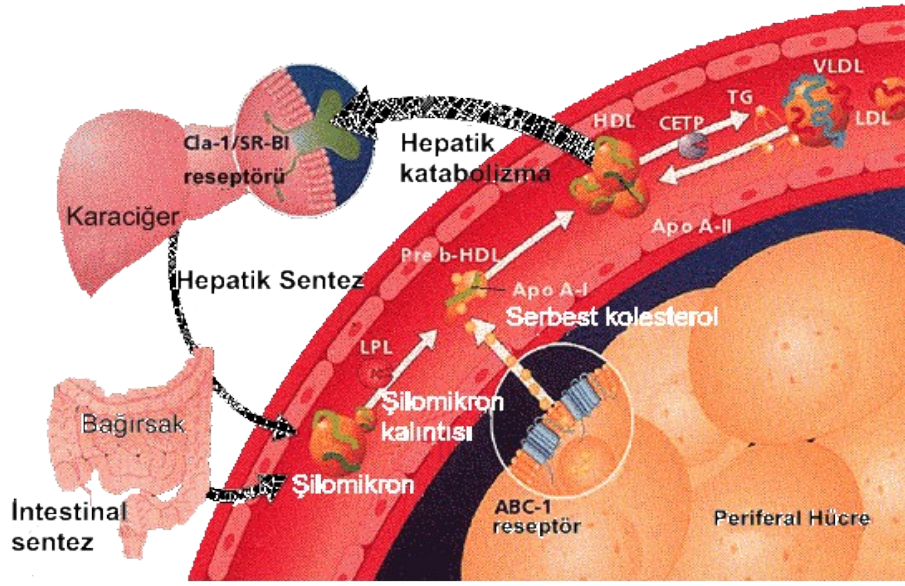
bırakılması HDL₃'ün HDL₂'ye dönüşümünü hızlandırır. HDL₃'ün yapısında ise kolesterol esteri, fosfolipit ve Apo AI bulunur. Apo D proteini ilk kez HDL₃'den izole edilmiştir. Lipoproteinler arasında kolesterol esteri ve trigliserit transferinde rol aldığı düşünülmektedir [8].



Şekil 7. HDL yapısı

HDL hem karaciğerde hem de ince bağırsakta sentezlenir. Olgunlaşmamış partiküller başlıca Apo E, Apo C, fosfolipt ve serbest kolesterollerden oluşur. Daha sonra Apo E'lerin yerine Apo A'lar geçer ve serbest kolesterol, lesitin, kolesterol, açil transferaz (LCAT) aracılığı ile kanda esterleştikçe partikül küreselleşmeye başlar. Apo E ve Apo C başlıca karaciğerde sentezlenirken Apo AI hem karaciğerde hem de ince bağırsakta eşit oranda sentezlenir.

Genelde plazmadaki HDL ve VLDL konsantrasyonları arasında karşılıklı bir ilişki vardır. Yüksek karbohidratlı diyet alımı sonucunda görülen HDL konsantrasyon düşmesinin, artmış katabolizmaya bağlı olduğu sanılmaktadır. Hücre yüzeyinde LDL'yi tanıyan spesifik bölgelerin veya reseptörlerin bulunduğu belirtilmiştir. Normalde erkeklerde serumda 35 mg/dL kadınlarda ise 45 mg/dL altındaki değerlerin ateroskleroz için risk faktörü olduğu belirtilmiştir [13].



Şekil 8. HDL metabolizması

1.4. Apolipoproteinler

Apolipoproteinler, lipidlerin suda çözünürlüğünü etkiler. Bu apolipoproteinler lipidler ve diğer komşu polipeptit zincirlerinin küreselleşmelerini engelleyerek yapının çözünürlüğünü artırırlar. Bu nedenle lipidler ile proteinler arasındaki etkileşim birbirini tamamlar.

1.4.1. Apolipoproteinlerin görevleri

Apolipoproteinlerin başlıca dört görevi vardır.

- Lipitlerin çözünür hale getirilmesini sağlayarak plazmada yağları taşımak.
- Fosfolipitler ile reaksiyona girerek kolesterol esterlerinin ve trigliseritlerin çözümlerine yardımcı olmak
- Hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanarak diğer lipoprotein içeriklerinin özellikle de kolesterolün bağlantı bölgesiyle parçalanma hızını belirlemek
- Kolesterol esteri ve trigliseritlerin, LCAT, lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz gibi enzimlerle olan reaksiyonlarını düzenlemek.

1.4.2. Apolipoproteinlerin yapısal özellikleri

Apolipoproteinler değişik büyüklüklerde, örneğin Apo C-I 57 aminoasitten oluşurken, Apo B-100 4356 aminoasitten oluşmaktadır. Apo B-48, Apo B-100, Apo D, Apo E ve Apo C-III sialik asit ile biten karbohidrat zincirleri ile değişik şekilde glikolize olurlar. Birçok apolipoprotein aminoasit dizilişlerinin bir veya iki pozisyonundaki farklılıklara bağlı olarak iki veya daha fazla izoform içerir. Apolipoproteinlerin lipitlerle teması geçen amfipatik helikal bölgeler içerdikleri gösterilmiştir [15]. Amfipatik helikal yapıların en önemli özelliği iki farklı yüzünün bulunmasıdır. Bunlardan biri fosfolipit moleküllerinin yağ asidi zincirleri arasına giren hidrofobik yüzey, diğeri ise fosfolipitlerin hidrofobik baş grupları ve sulu fazla temasta bulunan hidrofilik yüzeydir. Diğer bir özelliği ise polar yüzeydeki yüklü aminoasitlerin dağılımı ile ilgilidir. Glutamik asit ve aspartik asit gibi negatif yüklü amino asitler polar yüzeyin ortalarında yer alırken, lizin ve arginin gibi pozitif yüklü amino asitler polar yüzün kenarlarında yerleşmişlerdir [15].

1.4.3. Apolipoprotein sınıfları

Plazma, apolipoproteinleri büyüklüğüne, yoğunluğuna, yüzmeye hızlarına ve elektroforetik hareketlerine göre en az beş grupta sınıflandırılır. Bunlar arasında en yaygın olanı ultrasantrifüj ile yoğunluklarına göre yapılan sınıflandırmadır.

Tablo 2. Apolipoprotein türlerinin özellikleri ve görevleri

Apolipoprotein	Molekül Ağırlığı	Yer Aldığı Lipoprotein	Görevi (Biliniyorsa)
Apo A-I	28 331	HDL	LCAT aktivasyonu
Apo A-II	17 380	HDL	
Apo B-48	240 000	Şilomikronlar	
Apo B-100	513 000	VLDL, LDL	LDL reseptörüne bağlanır
Apo C-I	7 000	VLDL, LDL	
Apo C-II	8 837	Şilomikronlar, VLDL, HDL	Lipoprotein lipazı aktive eder
Apo C-III	8 751	Şilomikronlar, VLDL, HDL	Lipoprotein lipazı inhibe eder
Apo D	32 500	HDL	
Apo E	34 145	Şilomikronlar, VLDL, HDL	VLDL ve şilomikron kalıntılarının temizlenmesini tetikler

1.4.3.1. Apolipoprotein A

Apoprotein A, HDL'nin başlıca proteinlerindedir ve Apo A-I ve Apo A-II olmak üzere iki alt sınıfı vardır. Apo A-I'in molekül ağırlığı 28.300 Da, Apo A-II 17.000 Da'dur. Apo A-I/Apo A-II oranı 3:1'e eşittir. Apo A'nın sentez yeri karaciğer ve ince bağırsaktır. Apo A-I karaciğer dışı dokulardan serbest kolesterolün alınması ve LCAT enzim aktivasyonunda görev alır. Apo A-II'nin tam fonksiyonu bilinmemekle beraber LCAT enzimini inhibe ettiği düşünülmektedir. Bir diğer fonksiyonu ise HDL metabolizmasında hepatik lipazi (HPL) aktive etmektir. Ayrıca bu iki apoprotein yan yana bulunduğu, Apo A-II Apo A-I'in lipit bağlama yeteneğini artırır [13].

1.4.3.2. Apolipoprotein B

Apoprotein B, başlıca şilomikron, VLDL ve LDL yapısında Apo B-48 ve Apo B-100 olmak üzere iki formda bulunur. Her iki proteinde bir yapısal genin translasyon ürünüdür. Apo B-100, tek bir polipeptit olarak Apo B geninin tam olarak translasyonundan oluşmaktadır. Apo B-48 ise bu gende 2153 rezidüye denk gelen kodonda tek baz değişimi ile oluşan stop kodonu nedeni ile tam olarak translasyonu yapılmamış bir polipeptit ürünüdür.

Apo B-100, düşük yoğunluklu lipoprotein LDL reseptörüne bağlanmasına aracılık eder, 43 kb uzunluğundaki genin translasyonu sonucu oluşan 4536 aminoasitlik bir proteindir. Apo B-100, 4536 aminoasit dizisi içerisinde 12'si N terminalinde olmak üzere toplam 25 sistein kalıntısı vardır. Apo E reseptör bağlama bölgesi ile benzerlik gösteren iki LDL reseptörü bağlayan bölge tespit edilmiştir. Apo B-48, bağırsaklarda sentezi yapılan şilomikronların ana protein bileşeni olarak görev alır. Apo B-48 şilomikronların kararlılıklarından sorumludur ve şilomikronların oluşumu için mutlaka bulunması gereken apoproteindir [15].

1.4.3.3. Apolipoprotein C

Apo C'nin büyük bir kısmı açlık durumunda VLDL ve HDL'nin yapısında bulunmaktadır. Apo C-I, Apo C-II ve Apo C-III olmak üzere üç alt grubu vardır. Başlıca karaciğerde sentezlenir. Apo C-II'nin LPL enziminin aktivasyonunda görev aldığı saptanmıştır. Apo C-III'ün ise LPL enzimi üzerinde inhibitör etkisi bulunduğu bilinmektedir [8].

1.4.3.4. Apolipoprotein D

Apo D, 29 Kda ağırlığında yüksek yoğunluklu lipoproteindir. Apo D; kolesterol, progesteron, pregnenolon, bilirubin ve araşidonik asit ile etkileşir ve bu etkileşim tam olarak aydınlatılamamıştır. Apo D ilk defa HDL₃ alt grubundan izole edilmiştir [16].

1.4.3.5. Apolipoprotein E

Apo E, karaciğerde sentezlenen 299 aminoasitlik polimorfik bir proteindir. Apo E geni 19 no'lu kromozoma yerleşmiştir ve Apo C-I ve Apo C-II'nin içinde yer aldığı gen kümesinin bir bölümünü oluşturur. 3.6 Kb uzunluğundadır ve 1163 nükleotitten oluşan mRNA'yı oluşturur. Birincil olarak VLDL'de olmak üzere şilomikron ve bazı HDL alt gruplarında bulunmaktadır. Özellikle lipoprotein kalıntılarını plazmadan temizlenmesinde görev alır. Apo E LDL reseptörü bağlama bölgesi içerir ve bu bölge özellikle 130.-150. bazik karakterdeki amino asitler bulunur. Bağlanma bölgesinin dışında ki 170.-183. rezidüel arasında yer alan aminoasitlerinde reseptöre bağlanma aktivitesini etkilediği bilinmektedir.

C-terminal bölge, amplifatik ve polar ile polar olmayan rezidüelardan oluşan helikal yapılar içerir. Bu bölge molekülün ana lipit bağlama bölgesidir. Ek olarak heparini bağlayan bölgeler içeren Apo E molekülünün bu bölgeleri 142.-147. rezidüeları arasında yerleşiktir. 22 KDa molekül ağırlıklı N-terminal ucu dört antiparalel helikal yapı gösterir ve bunlar 24-42, 54-81, 87-122 ve 130.-163. rezidüeları arasında yer alır. 1 ve 4 ile 2 ve 3. yapılar arasında kararlılığı sağlayan tuz köprüleri ve hidrofobik etkileşimler vardır. Apo E'nin genetik olarak saptanan başlıca üç şekli vardır. Apo E-II, Apo E-III ve Apo E-IV'dür ve ε-2, ε-3 ve ε-4 adı verilen ve çeşitli toplumlarda sırasıyla %8, %77 ve %15 sıklıkla görülen üç gen çiftinden kaynaklanır. Bu gen çiftlerinden herhangi ikisinde mutasyon olması sonucu üç homozigot ve üç heterozigot genotip meydana gelir. Apo E-II ile Apo E-III arasındaki fark normalde var olan arginin yerine sisteinin geçtiği kodon 158 dir. ApoE-IV ile ApoE-III arasındaki fark normalde var olan sistein yerine argininin geçtiği kodon 112 dir [15].

1.5. Lipoprotein alt sınıfları ve klinik önemi

1.5.1. Lipoprotein alt sınıflarının tayin metotları

Lipoprotein alt sınıflarının tayininde çeşitli metodlar ve cihazlar kullanılmaktadır. Bunlar; gradientli jel elektroforezi, NMR, HPLC ve ultrasantrifüjlemedir [17].

Gradientli jel elektroforezi ile yapılan lipoprotein alt sınıfı tayinlerinde lipoprint system kullanılır (Şekil 9).



Şekil 9. Lipoprotein jel elektroforez sistemi

1.5.2. HDL alt sınıfları ve klinik önemleri

HDL-K'nin plazma konsantrasyonu ateroskleroz ve koroner kalp hastalıkları riski ile ters orantılı olduğu hesaplanmıştır [18]. Epidemiyolojik çalışmalar da düşük HDL-K'nin koroner kalp hastalıkları için bağımsız ve önemli bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir [19]. HDL'nin antrojenik etkisi, onun ters kolesterol taşınımı üzerindeki rolüne bağlı olduğu kabul edilir [20].

HDL alt sınıfları zonel veya tek spinli dikey ultrasantifüjleme, heparin magnezyum çöktürmesi ve NMR spektroskopisi veya bir ve iki boyutlu PAGE tarafından ayrılabilir [21]. Agoroz jel elektroforez kullanarak HDL Pre β ve α HDL olarak iki kısma ayrılabilir. PAGE ile de artan partikül boyutlarına göre Pre β kısmı; Pre β 1, Pre β 2 HDL olarak ikiye ve α -HDL; HDL3c, 3b, 3a, 2a, 2b olmak üzere beş alt sınıfa ayrılır. HDL bileşim, boyut, yoğunluk ve apolipoprotein içeriğine göre değişen çeşitli alt sınıfları içeren partiküllerin heterojen bir grubunu temsil eder [22]. İki boyutlu jel elektroforez ve ileri immunoblotting metodu kullanılarak HDL geniş boyutlu alt sınıflara (HDL2a ve HDL2b), küçük boyutlu alt sınıfa (pre- β 1-HDL, HDL3c, HDL3b ve HDL3a) ve pre- β 2-HDL olarak 7 alt sınıfa ayrılır [23]. HDL alt sınıfları arasında belirgin farklılığı olduğuna inanılır. Pek çok araştırma HDL alt sınıflarının aterosklerotik risk hakkında ilave bilgiler sağlar. HDL'nin

antiaterojenik özelliği HDL-K'nin mutlak plazma seviyesinden ziyade HDL alt sınıflarının fonksiyonel ve biyolojik özelliklerinden etkilenir. HDL karaciğer ve bağırsaklar tarafından başlangıç pre- β 1-HDL formunda bulunur ve çoğunlukla fosfolipit ve çok az kolesterolle birlikte Apo-A1 bulundurur. Başlangıç HDL partikülleri bundan dolayı hücrelerden kolesterol taşınımında öncüdür. İlk olarak kan da taşınımı içinde ester kolesterol transfer proteini (CETP) ve fosfolipit transfer proteini (PLTP) ile birlikte lezitin: kolesterol açiltransferaz (LCAT), lipoprotein lipaz (LPL) ve hepatik trigliserit lipaz (HTGL) gibi çeşitli enzimler ve transfer proteinleri ile başlangıç disk-şeklinde pre- β -HDL, pre- β -HDL \rightarrow HDL₃ \rightarrow HDL₂ döngüsünü takiben olgun küresel HDL₂'ye dönüşür. Başlangıç pre- β -HDL'nin olgun HDL₂'ye dönüşüm sürecinde, kolesteroler atılım için karaciğere dağılırlar, bundan dolayı ters kolesterol taşınımı (RCT) aslında HDL oluşum sürecidir [20, 21, 24]. Son yıllarda HDL alt sınıf dağılımındaki değişikliklerin plazma düşük HDL-K seviyesinden ziyade ateroskleroz ile daha yakın ilişkili olduğu düşünülür. Bazı yapılan ve yapılmakta olan çalışmalar büyük boyutlu HDL alt sınıfları kardiyovasküler kalp hastalıklarını azaltma ile ilişkilendirilirken küçük boyutlu HDL alt sınıflarının KKH'yi artırma riskini oluşturduğu düşünülmüştür [24]. Ayrıca Pre β 1 HDL'deki Apo-A1 içeriği hiperlipidemili hastalarda normal lipidemili hastalara göre daha yüksektir. Karışık hiperlipidemi hastalarında HDL 3b ve 3a konsantrasyonunun yüksek, HDL 2a ve 2b konsantrasyonunun ise düşük olduğu gösterilmiştir. Hiperlipidemili hastalardaki TAG konsantrasyonunun Pre β 1 HDL ile pozitif bir ilişkisi HDL 2a ile negatif bir ilişkisi vardır, bunlar artan TAG ve azalan HDL-K konsantrasyonudur [25].

1.5.3. LDL alt sınıfları ve klinik önemleri

Son zamanlarda plazma LDL ve LDL alt sınıflarının lipit emiliminin azaltılmasından sorumlu olan lipoproteinler arasında yakın ilişki olduğu bulunmuştur. Her ne kadar genetik olmayan faktörlerin LDL alt sınıflarını etkilediği bilinse de, LDL partikül dağılımının boyut ve yoğunluk bakımından genetik belirteçler tarafından etkilendiğinin kanıtları bulunmaktadır [26]. LDL alt sınıflarının partikül büyüklüğü, yoğunluğu ve kimyasal bileşeni farklı olduğundan dolayı heterojenik olduğu bilinmektedir. LDL alt sınıflarının heterojenliği yoğunluk gradientli ultrasentrifüjleme, NMR, gradientli jel elektroforezi ve poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) gibi değişik analitiksel metodlarla gösterilmiştir [25]. PAGE ile LDL; lipit içeriği bakımından zengin olan ve partikül büyüklüğü en büyük olan LDL-1'den, lipit içeriği en az ve partikül büyüklüğü en küçük

olan LDL-7'ye kadar 7 alt sınıfa ayrılır [27, 28]. Çevresel şartların yanında genetik özellikler de bireyler arasındaki LDL derecesinin farklı olmasından sorumludur. Yaş, cinsiyet ve plazma lipit bileşimi LDL alt sınıf etkilemektedir [29]. Bireylerin lipoprotein profilleri gösteriyor ki; geniş ve hafif içeriğinden dolayı LDL-1 ve LDL-2 model A (Pattern A) diye sınıflandırılır. Bunun yanında daha küçük ve daha yoğun olan LDL-3'den LDL-7'ye kadar olan alt sınıflar ise model B (Pattern B) olarak sınıflandırılır [30]. Model B grubu plazmadaki Apo-B miktarı bakımından oldukça fakir ve ester kolesterolce zengindir. Yapılan çalışmalarda model B'nin artış sıklığı TAG miktarının artması (>150 mg/dL) ve HDL-K miktarının azalması(<40mg/dL) ile artarken, model A'nın artış sıklığı TAG miktarının azalması ve HDL-K miktarının yükselmesi ile arttığı görülmüştür[31]. Model B türleri model A'ya göre proteoglikanlara daha sıkı bağlanır ve daha oksidatif duyarlılığa sahiptir. Türler reseptör afinitesi bakımından karşılaştırıldığında sağlıklı bireylerde model A'ya daha fazla rastlanmıştır [32].

İlk çalışmalarda, Grendient jel elektroforezi kullanılarak elde edilen küçük ve yoğun lipoprotein alt sınıflarının (model B) koroner arter hastalığı (KAH) ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Nükleer manyetik rezonansın(NMR) kullanıldığı sonraki çalışmalarda, küçük ve daha fazla LDL partiküllerinin genel popülasyon ve koroner hastalıklı bireylerde KAH gelişimine ve ilerlemesine neden olduğu saptanmıştır [33].

Model B (sdLDL) oldukça atarojeniktir ve KAH için LDL-K'den daha önemli risk faktörü olarak bilinir.[11,16] LDL heterojenliği değişen çeşitli hastalıklar ve diyabetik hastalar sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında sdLDL miktarında artış gösterirler. Yapılan çalışmalarda model B'nin tedaviye çok fazla cevap verme eğiliminde oldukları gözlenmiştir [17].

1.6. Koroner Arter Hastalığı

Koroner kalp hastalığı, kalp kaslarına kan akışının azalması nedeni ile oluşan miyokard iskemisi ile sonuçlanan bir hastalıktır. İskemi genellikle ateroskleroz, tromboz, spazm ya da emboli gibi nedenlerle kanın kalbin bir bölümüne az ulaşması ya da anemi, karboksihemoglobinemi ya da hipotansiyon gibi nedenlerle kan akımının azalması ile gelişen ve doku hasarı ile sonuçlanan patolojik bir durumdur. En sık görülen nedeni ise bir ya da birden fazla koroner arterin daralması nedeni olan aterosklerozdur [15].

Koroner kalp hastalığı ölümlerine sonuçlanabilen bir hastalık olması, çeşitli komplikasyonlara yol açması ve genellikle üretken yaş grubunda görünmesi nedeniyle

önemli bir toplum sağlığı sorunudur. Koroner kalp hastalığı tüm ölümlerin %33-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise %50-75'inin nedenidir [34]. Amerika Birleşik Devletleri ve batı Avrupa ülkelerinde sağlığı geliştirme, hastalıktan korunma ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler sonucu son 30 yılda koroner kalp hastalığı ve ölüm oranlarında bir azalma olmasına rağmen koroner arter hastalığı hala en önemli sağlık ve ölüm nedenidir [34]. Türk erişkinlerinde kalp hastalığı ve risk faktörleri üzerine yapılan bir çalışmaya göre ülkemizde koroner arter hastalığı prevalansı 1990 yılında %5.4 iken bu oran on yıl sonra %8.1'e çıkmıştır ve on yıllık dönemde nedeni bilinen ölümlerin %42'si koroner arter hastalığı kökenlidir [35].

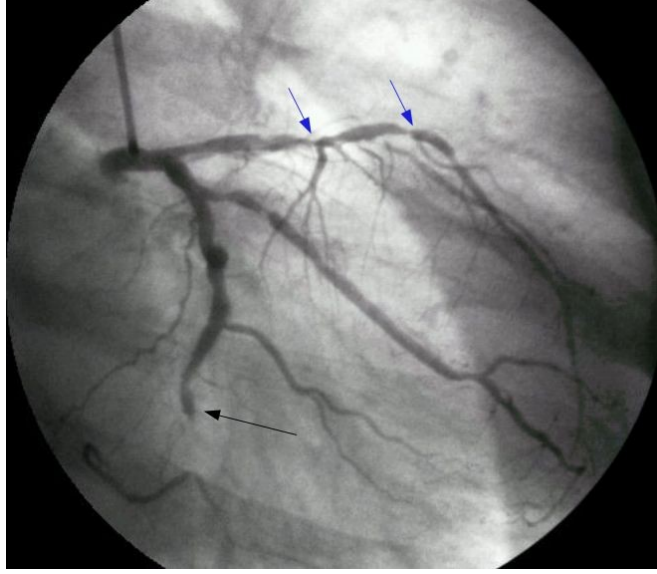
Koroner kalp hastalıklarının en önemli sonuçlarından biri olan ateroskleroz daha çok orta ve büyük çaplı damarları tutan intimal bir hastalıktır. Aterom plakları adı verilen yağlı fibröz lezyonlarının oluşumu sonucu damar duvarlarının esnekliğinin kaybı, damar lümen çapının daralması ve damardan geçen kan miktarının azalması ile kendini gösteren bir süreçtir. Hücrelere az oksijen veya besin ulaşmasına bağlı olarak dokularda iskemi veya infarktüse yol açar [7].

Aterosklerotik lezyonların gelişimi makroskopik olarak üç evrede incelenebilir [7];

a) Yağlı Çizgileme: İntimada oluşan hafif kabarık sarı çizgiler ateroskleroz gelişiminde ortaya çıkan ilk makroskopik değişikliktir. Plazmadan intimaya geçen LDL'nin burada oksitlenerek makrofajlar tarafından alınması sonucu oluşan köpük hücrelerin birikmesi ile oluşur.

b) Fibröz Plak: Düz kas hücreleri, bağ dokusu matriksi ve makrofajlardan oluşan fibröz kapsülün çevrelediği lipit yüklü makrofajlar, T-lenfositler ve nekrotik doku atıklarından meydana gelen beyaz renkli bir lezyondur. Fibröz plak gelişiminde intimada gerçekleşen esas olay düz kas hücrelerinin intimaya göçü ve proliferasyonudur.

c) Komplike Aterosklerotik Lezyon: Fibröz plakta kanama, kalsifikasyon ve ülserasyona uğrayarak büyüme sonucu oluşan lümeni tıkayabilen plaklardır.



Şekil 10. Koroner arter lezyonu

1.6.1. Koroner arter hastalığı ile ilişkili risk faktörleri

Koroner arter hastalığı risk faktörleri iki grup altında incelenebilir [15].

a) Değiştirilebilen Risk Faktörleri

- 1- Sigara
- 2- Hipertansiyon
- 3- Diyet
- 4- Obezite
- 5- Diyabet
- 6- Fiziksel olarak inaktif yaşam

b) Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

- 1- Cinsiyet
- 2- Yaş (Erkeklerde 45 ve üzeri, kadınlarda 55 ve üzeri veya erken menopoz)
- 3- Genetik Yatkınlık (Ailede 55 yaşın altında miyokard enfarktüsü veya aynı ölüm öyküsü)
- 4- Total kolesterol ≥ 200 mg/dL ve LDL-K ≥ 130 mg/dL
- 5- HDL-K < 35 mg/dL

Negatif risk faktörü olarak bildirilen HDL-K düzeylerinin yüksekliği (≥ 60 mg/dL) ise hastalık riskini azaltmakta veya risk faktörünün olumsuz etkisini gidermektedir [36].

1.6.2. Koroner arter hastalığı ile ilişkili mutasyonlar

Koroner arter hastalığı ile ilişkili mutasyonlar üç ana başlık altında toplanmaktadır

[37];

- a) Koagulasyon ile ilişkili mutasyonlar
- b) Kan basıncının regülasyonu ile ilişkili mutasyonlar
- c) Lipoproteinlerle ilişkili mutasyonlar

Lipoproteinlerle ilişkili mutasyonlar;

- a) Apo AI
- b) Apo AIV
- c) CETP (kolesterol ester transfer proteini)
- d) Apo B-100
- e) Apo CII
- f) Apo E
- g) LPL (lipoprotein lipaz)
- h) LDLR (düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü) gen polimorfizmidir.

Ateroskleroz hastalığının çeşit etkenleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Ateroskleroz risk faktörleri

HASTALIK	GENETİK DEFEKT	ATEROSKLEROZ RİSKİ
Apo AI eksikliği	ApoAI	HDL eksikliğine bağlı şiddetli ateroskleroz
Apo AI varyantları	Apo AI nokta mutasyonları	HDL azalmasına bağlı ateroskleroz
Apo CII eksikliği	Apo CII mutasyonları	Tip1 hiperlipidemi
Apo E varyantları	Apo E mutasyonları	Tip3 hiperlipidemi
Enzim bozuklukları		
Lipoprotein lipaz eksikliği	Lipoprotein lipaz mutasyonları	Tip1 hiperlipidemi
Hepatik lipaz eksikliği	Hepatik lipaz mutasyonları	Ağır ateroskleroz
Lesitin kolesterol açiltransferaz eksikliği	LCAT mutasyonları	Hipertrigiseridemi
Reseptör bozuklukları		
Familyal hiperkolesterolomi	LDL reseptör mutasyonları	Tip2 hiperlipidemi

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Deneyde kullanılan cihazlar ve kitler

Soğutmalı santrifüj (Thermo Scientific Multifuge 3SR+)

Vorteks (Velp Scientifica)

Hassas terazi (Precisa XB 220A)

pH metre(Thermo Scientific Orion 3 Star)

Derin dondurucu (-20°C, Vestel FT 280)

Buzdolabı (+4°C,Beko 7121T)

Manyetik karıştırıcı (Shin/Saeng)

Lipoprint System(Quantimetrix)

Farklı hacimlerde yarı otomatik pipet (Rainin)

LDL'yi alt sınıfa ayırma kiti (Quantimetrix Lipoprotein System, Lot:96510B)

HDL'yi alt sınıfa ayırma kiti (Quantimetrix Lipoprotein System, Lot:102708A)

2.1.2. Numunelerin toplanması

Bu çalışma Rize Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı Polikliniğine 2009 Ocak-Nisan döneminde başvuran, anjiyografi ile kalp damarlarında tıkanıklık olan hastalar üzerinde yapıldı. Hastalar değerlendirilirken üç damarı tıkalı (n=22), iki damarı tıkalı (n=26) ve bir damarı tıkalı (n=13) olan hasta grubu ile damarların da tıkanıklık olmayan (n=24) kontrol grubu olmak üzere çalışma grupları oluşturuldu.

Her denekten 10 mL kan antikoagülanlı (EDTA, 1 mg/dL) tüpe alındı. Örnekler 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen plazmalar küçük hacimlerde aligotlanarak daha sonraki yapılan çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

2.2. Metot

2.2.1. Otoanalizörle tayin edilen parametreler

Total kolesterol, TAG, LDL-K ve HDL-K düzeyleri Abbot Architect C16000 otoanalizöründe yapıldı. TAG ve kolesterol tayini için enzimatik kolorimetrik yöntemler kullanıldı. HDL-K tayini için dekstran sülfat ile çöktürme işlemlerinden sonra enzimatik

kolesterol tayin yöntemi kullanıldı. LDL-K Friedewald formülüyle hesaplandı. $LDL-K=TK-(TAG/5+HDL-K)$ bu denklem TAG seviyesi 400 mg/dL'den küçük olduğunda geçerlidir.

2.3. Lipoprotein alt sınıflarının belirlenmesi

Lipoproteinler ve lipoprotein alt grupları LIPOPRINT sistemi (Quantimetrix 48-9150) ve Lipoprint sistem LDL alt grupları tayin kiti (Quantimetrix 48-7002) kullanılarak belirlenmiştir. LIPOPRINT sistemi ilk ve tek FDA onaylı, LDL alt gruplarında kolesterol tayini için kullanılan, kullanıma hazır reaktifleri, hardware ve software donanımı ile bütün bir sistemdir. Bu sistem her bir lipoprotein alt grubundaki kolesterol düzeyini 1 mg/dL sınırına kadar ölçerek yüksek aterositeniteye sahip küçük-yoğun LDL ve IDL alt gruplarının tayinini sağlar. Kolesterol miktarı tayinine ek olarak partiküllerin tanecik büyüklüğü ve yoğunluğu da belirlenmektedir. Ayrıca bu sistemle kabul edilmiş metodlarla uyumlu lipoprotein profil sınıflandırması yapılmaktadır. LIPOPRINT sistemi jel gradienti kullanılmadan, lineer poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile çalışan bir sistemdir.

2.3.1. Lipoprint sistem bileşenleri

Bilgisayar; Lipoware Analiz Programı içermektedir. Ayrıca renkli yazıcı, dijital tarayıcı, elektroforez çemberi, güç kaynağı, jel tüpleri için rak ve fotopolimerizasyon için ışık kaynağından oluşur.

2.3.2. Lipoprotein alt sınıf tayin kiti bileşenleri

1. Jel tüpleri; lineer poliakrilamid jel (yığıma jeli ve ayırma jeli) ile dolu cam tüpler.
2. Yükleme jeli; akrilamid, N, N-metilenbisakrilamid, lipofilik boya, tampon.
3. Tampon; tris (hidroksimetil) aminometan, borik asit.

2.3.3. Deneyin çalışma prensibi

Yükleme jeli bileşeni olan lipofilik boya her bir lipoproteinindeki kolesterol miktarı ile doğru orantılı olarak bağlanır ve daha sonra boyanan lipoproteinlere elektroforez işlemi uygulanır. Elektroforezin ilk aşamasında, lipoprotein partikülleri yükleme ve yığıma jeli yardımı ile tek bir bantta yoğunlaşır. Sonraki aşamada ise lipoprotein partikülleri ayırma

jelinde partikül büyüklüklerine göre en büyükten en küçüğe doğru hareket ederek bantlar oluştururlar. Jelde en hızlı HDL, arkasından da sırası ile küçük-yoğun LDL, büyük- az yoğun LDL, esas olarak IDL' den oluşan orta bantlar ve son olarak ta VLDL ilerler. Eğer numunede şilomikron varsa yığıma jelinin üst kısmında görünür ya da yükleme jelinde kalır. Elektroforez tamamlandıktan sonra farklı yoğunluklarda boyanan lipoprotein alt grupları (bantlar), başlangıç referans noktası olarak VLDL (VLDL=0) ve ileri referans noktası olarak HDL (HDL=1) alınarak relatif mobilitelerine (R_f) göre belirlenir. Her bir lipoprotein için bant alanı belirlenir ve otoanalizörde ölçülen total kolesterol miktarı ile çarpılarak her bir banttaki kolesterol miktarı mg/dL olarak bulunur. Bütün bu hesaplama işlemleri elektroforez tamamlanıp, jel tüpleri dijital tarayıcıda tarandıktan sonra Lipoware analiz programı kullanılarak yapılmaktadır.

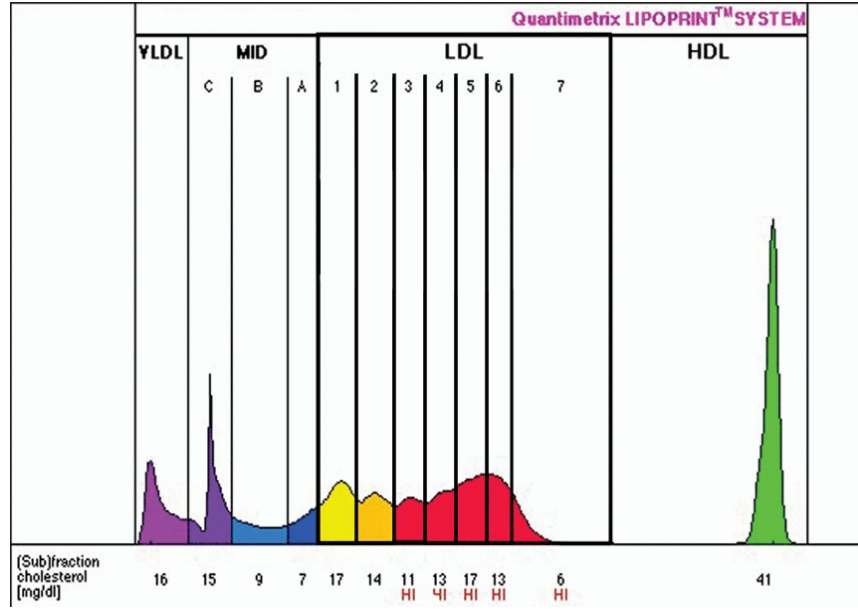
2.3.4. LDL alt sınıf tayini

25 µL plazma jel tüpüne pipetlenir üzerine 200 µL yükleme jeli konur ve tüpler alt-üst edilerek karışması sağlanır. Tüpler 35 dk. boyunca ışığa maruz bırakılarak jelin polimerize olması sağlanır. Süre bitiminde tüpler hazırlama bölmesinden tek tek çıkartılır ve dikkatlice silikon adaptöre tutturulur. Alt odacığa 1000 mL, üst bölüme de 200 mL elektrolit tampon çözeltisi konur ve tüp başına 3 mA voltaj olacak şekilde 1 saat elektroforez işlemi uygulanır. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jel tüpleri dijital tarayıcıda taranır. Taranan tüpler Lipoware analiz programı ile değerlendirilir.

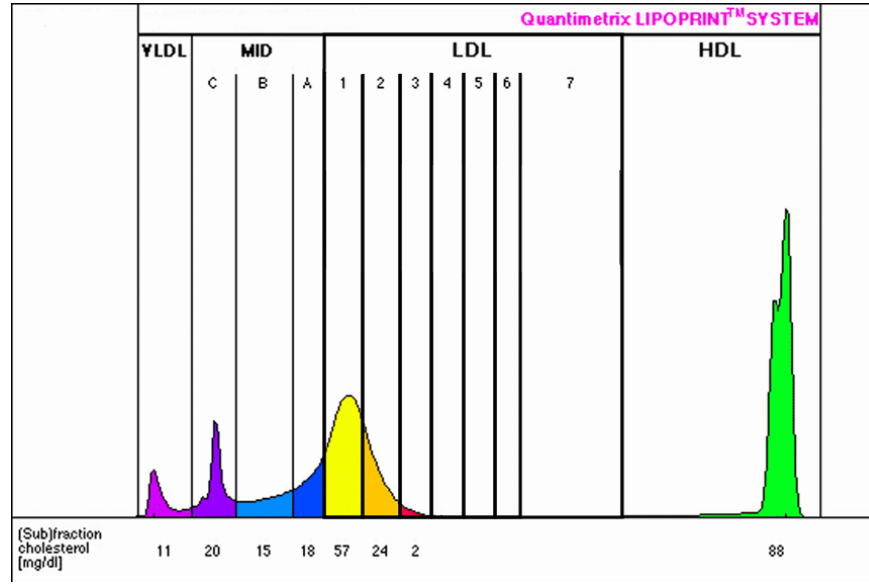
2.3.5. HDL alt sınıf tayini

Her tüpe 25 µL plazma pipetlenir ve üzerine 300 µL yükleme jeli ilave edilip tüpler birkaç kez alt üst edilir. Tüpler 30 dk ışığa maruz bırakılarak yükleme jeli fotopolimerize edilir. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra jel tüpleri hazırlama bölmesinden tek tek çıkartılır ve dikkatlice silikon adaptöre tutturulur. Alt odacığa 1000 mL, üst bölüme de 200 mL elektrolit tampon çözeltisi konur. Güç kaynağı her tüpe 3 mA dağıtacak şekilde ayarlanır ve elektroforez başlatılır. Elektroforez süresi yaklaşık 50 dakikadır. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jel tüpleri dijital tarayıcıda taranır. Taranan tüpler Lipoware analiz programı ile değer.

Lipoprint System kullanılarak yapılan örnek analiz sonuçları Şekil 11-12'de verilmiştir.



Şekil 11. KAH açısından yüksek riskli hastanın lipoprotein alt sınıf profili



Şekil 12. KAH açısından düşük riskli hastanın lipoprotein alt sınıf profili

2.4. İstatistik Analizler

Elde edilen değerler aritmetik ortalama (X) ve standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Bütün alışma gruplarındaki parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorow-Simirnow testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma gruplarına ait ilgili parametrelerin zamana ve özüt konsantrasyonuna bağlı değişimlerinin anlamlılığı One-Way ANOVA testiyle, çalışma gruplarına ait parametrelerinin birbirleriyle karşılaştırılması Student-t testi ile gerçekleştirilmiştir. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

3. BULGULAR

Çalışma gruplarına bel çevresi, cinsiyet ve vücut kütle indeksi açısından yapılan istatistik analiz çalışmaları sonucunda, çalışma grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Fakat yaş bakımından, kontrol grubu ve 2 damarı tıkalı olan hasta grubu arasında ($p<0.001$) ve kontrol grubu ile 3 damarı tıkalı olan hasta grubu arasında ($p<0.05$) düzeyinde anlamlı bir farklılık gözlemlendi. Sonuçlar Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Çalışma gruplarına ait demografik bulgular

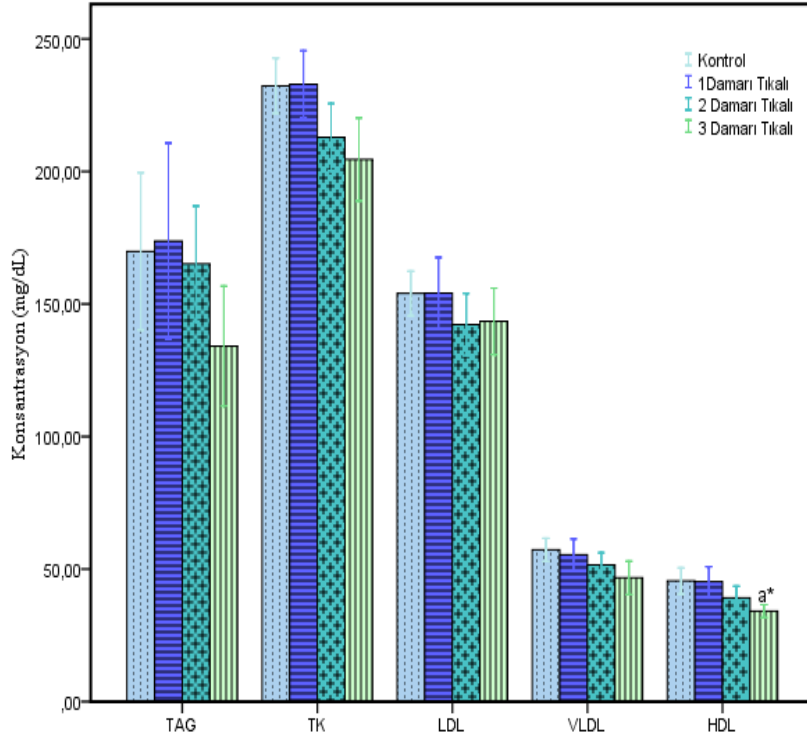
Ölçülen parametreler	Kontrol grubu (X±SD)	1 damar tıkalı (X±SD)	2 damar tıkalı (X±SD)	3 damar tıkalı (X±SD)
Yaş	55 ± 7.7	60.6±8.76	63.2±9.58 c**	62.3±8.33 d*
Cinsiyet (E/K)	6/17	10/8	19/9	21/3
BMI	30.7±6.12	30.6±5.42	28.7±4.34	29.2±3.69
Bel Çevresi (cm)	101.4±14.83	105±11.5	101.6±9.82	102±8.6

*: $p<0.05$ ve **: $p<0.005$, c: kontrol ile 2 damarı tıkalı hasta grubunun karşılaştırılması, d: kontrol ile 3 damarı tıkalı olan hasta grubunun karşılaştırılması.

Çalışma gruplarına ait TK, TAG, HDL-K, LDL-K ve VLDL geleneksel lipit profili Tablo 5 ve Şekil 13'de verilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda kontrol grubu ile 3 damarı tıkalı olan hasta grubunun HDL-K seviyeleri arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir fark gözlemlendi. Ayrıca 1 damarı ile 3 damarı tıkalı olan hasta gruplarının HDL-K seviyeleri arasında fark gözlemlendi ($p<0.076$), fakat bu sonuç istatistik bakımından anlamlı değildir. Benzer şekilde kontrol grubu ile 3 damarı tıkalı olan hasta gruplarının toplam kolesterol seviyeleri arasında da anlamlı bir fark bulunamadı ($p<0.085$).

Tablo 5. Çalışma gruplarının rutin lipit parametreleri

Ölçülen parametreler	Kontrol grubu (n=23, X±SD)	1 damar tıkalı (n=18, X±SD)	2 damar tıkalı (n=28, X±SD)	3 damar tıkalı (n=24, X±SD)
TAG (mg/dL)	169±86.2	174±56.4	165±75.1	139±70.5
TK (mg/dL)	232±30.9	233±34.8	213±44.4	205±41.6
LDL-K (mg/dL)	154±25.1	154±21.6	142±41.8	143±31.2
VLDL (mg/dL)	57±13.5	55±13.7	52±14.9	47±18.6
HDL-K (mg/dL)	47±13.9	45±8.2	39±8.1	34±12.2 a*



*: $p < 0.005$ a: kontrol grubu ve 3 damarı tıkalı olan hasta gruplarının karşılaştırılması.

Şekil 13. Geleneksel lipit profili

Çalışma gruplarının lipoprotein alt fraksiyonları ile ilgili verileri Tablo 6'da verilmiştir. Yapılan istatistik analiz çalışmaları sonucunda LDL alt sınıfları arasında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır.

Buna karşın çalışma gruplarının HDL alt sınıfları arasında farklılıklar mevcuttur. 2 damarı ile 3 damarı tıkalı hasta gruplarının HDL₁ seviyeleri arasında $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bir farklılık mevcuttur. Aynı şekilde kontrol grubu ile 2 damarı tıkalı olan hasta grubunun HDL₃ seviyelerinde $p < 0.01$ ve kontrol grubu ile 3 damarı tıkalı olan hasta grubunun arasında da $p < 0.001$ düzeyinde farklılık bulunmaktadır. HDL₄ de ise kontrol grubu ve 3 damarı tıkalı olan hasta grubu arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı fark gözlemlendi. Son olarak da HDL₆ da 1 damarı ile 3 damarı tıkalı hasta grubu arasında $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı farklılık tespit edildi.

HDL'nin bazı alt sınıfları arasında istatistik olarak fark bulundu ancak bu farklılıkta bir anlamlılık söz konusu değildir. Bir damar ve 3 damarı tıkalı hasta gruplarının HDL₂

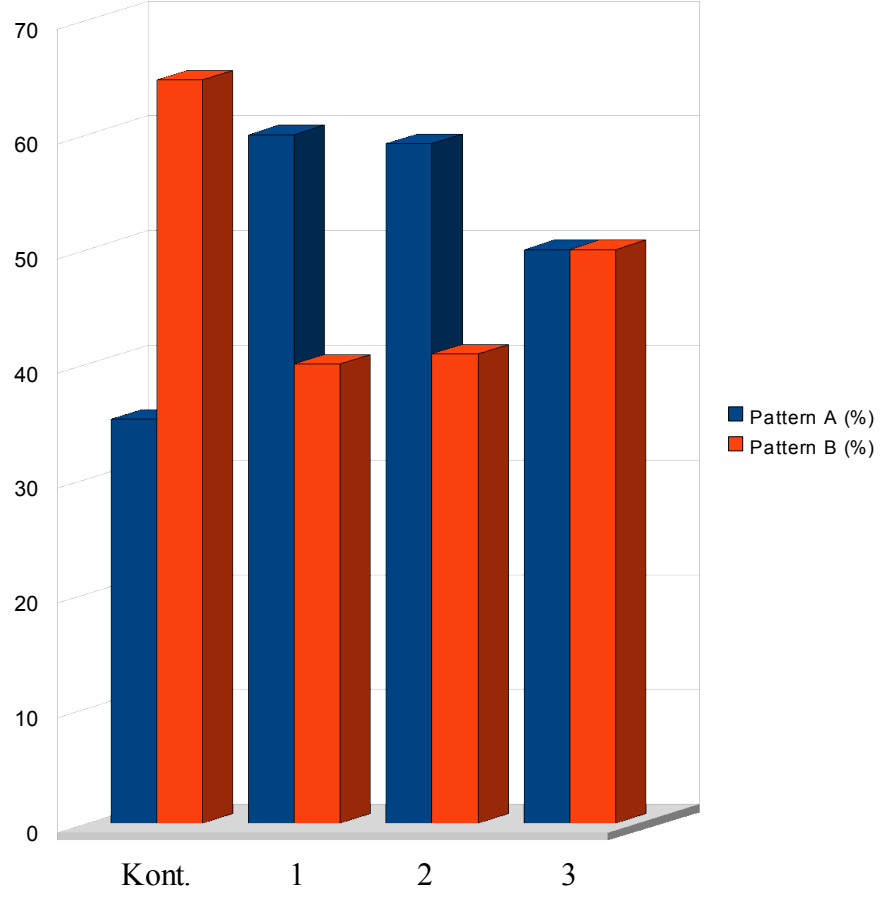
seviyeleri arasında ($p<0.095$) fark vardır. Ayrıca aynı hasta gruplarının HDL₇ seviyesinde ($p<0.082$) fark bulundu. HDL₉ da ise kontrol grubu ve 1 damarı tıkalı olan hasta grubu arasında ($p<0.076$) fark tespit edildi.

Tablo 6. Çalışma gruplarının lipoprotein alt fraksiyonları

Ölçülen parametreler	Kontrol grubu (n=23, X±SD)	1 damar tıkalı (n=18, X±SD)	2 damar tıkalı (n=28, X±SD)	3 damar tıkalı (n=24, X±SD)
LDL ₁ (mg/dL)	27.5±8.52	32.5±9.46	30.3±10.61	26.5±11.13
LDL ₂ (mg/dL)	25.2±8.71	26.2±6.51	22.6±9.25	23±10.9
LDL ₃ (mg/dL)	10.2±6.15	8.5±6.30	7.7±7.24	9.7±8.90
LDL ₄ (mg/dL)	2.64±2.318	1.2±2.27	2.4±4.76	3.5±5.51
LDL ₅ (mg/dL)	0.32±0.789	0±0	0.42±1.653	0.55±1.105
LDL ₆ (mg/dL)	0±0	0±0	0.1±0.41	0±0
HDL ₁ (mg/dL)	7.0±2.64	5.5±2.82	5.4±3.75	4.8±3.53 b***
HDL ₂ (mg/dL)	7.3±2.85	6.3±2.53	5.5±2.96	4.1±1.78
HDL ₃ (mg/dL)	4.8±1.51c*	3.8±1.12	3.5±1.49	3.3±1.15 d**
HDL ₄ (mg/dL)	5.9±1.41	5.4±1.42	4.8±1.51	4.6±1.52 d*
HDL ₅ (mg/dL)	5.8±1.51	5.9±1.54	5.3±1.82	4.7±1.64
HDL ₆ (mg/dL)	8.7±2.23	9.3±2.81	8.2±2.65	6.9±1.91 e*
HDL ₇ (mg/dL)	2.6±0.79	3.1±1.42	2.7±0.92	2.2±0.81
HDL ₈ (mg/dL)	2.4±1.52	2.9±1.72	2.2±1.34	1.9±1.12
HDL ₉ (mg/dL)	0.9±0.87	1.7±1.32	1.4±0.82	0.9±0.92
HDL ₁₀ (mg/dL)	0.6±0.98	1.4±1.68	0.8±1.29	0.5±1.13
Pattern A (%)	35.2	60	59.2	50
Pattern B (%)	64.8	40	40.9	50

(*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$ ve **b**: 2 ile 3 damarı tıkalı olan hasta grupları arasında, **c**: kontrol ile 2 damarı tıkalı olan hasta grupları arasında, **d**: kontrol grubu ile 3 damarı tıkalı olan hasta grubu ve **e**: 1 ve 3 damarı tıkalı olan hasta grubu ile karşılaştırma.)

Çalışma gruplarına ait aterojenik (pattern A) ve anti-aterojenik (pattern B) göstergeleri Şekil 14'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda çalışma grupları arasında fark tespit edilememiştir.



Şekil 14. Çalışma gruplarının aterojenik ve anti-aterojenik göstergesi

4. TARTIŞMA

Diyetle aldığımız yağların plazma lipit düzeyleri ve lipoproteinlerin yağ asidi bileşimleri üzerinde etkili olması ateroskleroz ve koroner arter hastalığı gelişiminde oldukça önemlidir. Aterosklerotik hastalarda, kan lipitlerinin önemli risk faktörü olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [8]. Açlıkta trigliseridler VLDL'lerle dolaşıma katılırlar ve LDL ile onun kalıntılarının aterojenik olduğu çalışmalarda rapor edilmiştir. Rapor edilen bu çalışmalarda yüksek TAG düzeyleri, düşük HDL-K ve yüksek LDL-K düzeyleri ile pozitif ilişkisinden söz edilmektedir. KKH'nın görünme sıklığı ile HDL-K düzeyleri arasında da ters bir korelasyon bulunmaktadır [8]. Yapılan mevcut çalışmalarda HDL-K hariç hasta grupları ile kontrol grubu arasında geleneksel lipit profili (TAG, TK, HDL, LDL) arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmemiştir. Aterojenik olarak kabul edilen HDL-K düzeyi ise ancak 3 damarı tıkalı olan hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda plazma lipit seviyelerinin KKH için belirleyici bir faktör olmadığı ve lipoprotein alt sınıflarının da incelenmesi gerektiği belirlenmiştir. Koroner arter hastalığı olan kişilerin yarıya yakınında kolesterol düzeyinin normal sınırlar içinde olduğu, dolayısıyla günümüzde lipidlerin kantitatif özelliklerinden ziyade LDL partikül büyüklüğü gibi kalitatif özelliklerinin önem kazanmaya başladığı söylenmektedir [38]. “Küçük-yoğun LDL (sd-LDL)” ve “büyük-hafif LDL” olmak üzere tanımlanan iki farklı LDL fenotipi gradient jel elektroforezi sonucu elde edilen partikül çapı esas alınarak tespit edilmiştir; partikül çapı büyük olan “Tip A” (büyük-hafif LDL'nin baskın olduğu fenotip), partikül çapı küçük olan ise “Tip B” (küçük-yoğun LDL'nin baskın olduğu fenotip) olarak değerlendirilir [39]. Tip A” fenotipi düşük plazma trigliserid düzeylerinde [$<0,5$ mmol/L (≈ 44 mg/dL)] görülürken, “Tip B” fenotipi trigliserid düzeyi 2 mmol/L'yi (≈ 200 mg/dL) aşan şahıslarda görülmüştür [40]. Mevcut çalışmada deneklerin trigliserid düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığından dolayı “Tip B” ve “Tip A” arasında da anlamlı bir fark mevcut değildir. LDL-1 ve LDL-2 büyük-LDL, LDL-3, LDL-4, LDL-5, LDL-6 ve LDL-7 küçük-LDL olarak belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçlarının istatistiksel analizi sonucunda LDL alt sınıfları arasında anlamlı farklılık yoktur. Çalışma grupları arasında gerek TK gerekse LDL-K düzeylerinde anlamlı bir değişim gözlenmemesi, LDL alt sınıf seviyelerinde gözlenen istatistiksel olarak anlamlı olmayan değişimleri teyit

etmektedir. Dolayısıyla çalışma gruplarının LDL alt sınıfları arasındaki gözlenmeyen farklılık lipid profili ile (TK, TAG, LDL-K) uyumludur.

Benzer şekilde aynı teknik kullanılarak HDL geniş boyutlu alt sınıflara (HDL2a ve HDL2b), küçük boyutlu alt sınıfa (pre- β 1-HDL, HDL3c, HDL3b ve HDL3a) ve pre- β 2-HDL olarak 7 alt sınıfa ayrılır [23]. Pek çok araştırma HDL alt sınıflarının aterosklerotik risk hakkında ilave bilgiler sağlar. Son yıllarda HDL alt sınıf dağılımındaki değişikliklerin plazma düşük HDL-K seviyesinden ziyade ateroskleroz ile daha yakın ilişkili olduğu düşünülür. Bazı yapılan ve yapılmakta olan çalışmalar büyük boyutlu HDL alt sınıfları kardiyovasküler kalp hastalıklarını azaltma riski ile ilişkilendirilirken küçük boyutlu HDL alt sınıflarının KKH'yi artırma riskini oluşturduğu düşünülmüştür [24]. Mevcut çalışmada da büyük ve küçük boyutlu HDL alt sınıflarının koroner kalp hastalığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. HDL₁ alt sınıflarındaki değişim plazma toplam HDL düzeyleri ile uyumludur. 2 damarı tıkalı olan hasta grubunda HDL₁ seviyesi 3 damarı tıkalı hasta grubuna ($p<0.001$), kontrol grubu'nun HDL₃ seviyesi 2 damarı ve 3 damarı tıkalı olan hasta gruplarına göre ($p<0.001$) daha yüksek olduğu bulundu. HDL₄ de ise kontrol grubunun seviyesi 3 damarı tıkalı olan hasta grubu kıyasla yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). Son olarak da 3 damarı tıkalı olan hasta grubunun HDL₆ düzeyi 1 damarı tıkalı hasta grubu göre daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Bu çalışmada kullanılan gradientli jel elektroforezi yöntemiyle HDL-K ile HDL alt sınıfları arasındaki uyum tespit edilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol grubu ile 3 damarı tıkalı olan hasta grubunun HDL-K seviyesi arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu farklılık HDL alt sınıflarının seviyesine de yansımıştır. Plazma lipitleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcut değildir. Benzer şekilde LDL alt sınıfları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu çalışmada kullanılan deneklerin yaşları arasında anlamlı bir fark saptanmıştır.

Çalışma grubundaki denek sayısının artırılması daha sağlıklı sonuçlar alınmasına, apolipoprotein bileşiminin tespit edilmesi lipoprotein alt sınıflarının belirlenmesine yardımcı olabilir. İleride yapılacak daha detaylı gen polimorfizm çalışmaları hem lipoprotein alt sınıf öneminin klinik olarak artmasına hem de koroner kalp hastalığının teşhisine imkan sağlayabileceği aşıkardır.

KAYNAKLAR

- [1] Stubbs, J., Ferres, S., Horgon, G., Energy density of food: effects on energy intake , Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40 (2000) 481-515.
- [2] Örem, C., Lipid düşürücü tedaviin serum okside LDL antikor düzeyine etkisi ve bunun LDL oksidasyon kapasitesi ve plazma total antioksidan kapasite ile ilişkisi, KTÜ Tıp Fakültesi Kardiyoloji ABD Uzmanlık Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, KTÜ Tıp Fakültesi, Trabzon 2001.
- [3] Superko, R.H., Lipoprotein subclasses and atherosclerosis, Front Biosci., 6 (2001) D355-365.
- [4] Krauss, R.M., Dietary and Genetic Probes of Atherogenic Dyslipidemia, Arterioscler Thromb Vasc Biol., 25 (11) (2005) 2265-2272.
- [5] Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum s. 171-185, 2005.
- [6] Nelson, D.L, Cox, M.M., Principles of Biochemistry, W.H. Freeman and Company, New York s. 343-365, 2008.
- [7] Tanrıku, S., Koroner Arter Hastalığı olgularında Kolesterol Ester Transfer Protein Polimorfizminin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2004.
- [8] Kızıldağ, S., Anjiyografi İle Koroner Kalp Hastalığı Tanısı Konulmuş Kişilerde Serum Lipid, Apoprotein, Lipoprotein ve HDL Subfraksiyonlarının İncelenmesi, Yüksek Lisans, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 1997.
- [9] Telefoncu, A., Değer, O, Kılınç, A., Çolak, A., Metabolizmanın Regülasyonu ve Metabolik Bozukluklar, Ege Üniversitesi Basım Evi, Bornova-İzmir s. 112-113, 2008.
- [10] Baykara, O., Beyin Travması ve Kafa Yaralanması Geçiren Hastalarda Apolipoprotein E Gen Polimorfizminin İncelenmesi, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2003.
- [11] Ayar, E.G., Lipoproteinler ve Ateroskleroz, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi, Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü, İstanbul 1983.
- [12] McCoy, M.G., Sun, G.S., Marchadier, D., Maugeais, C., Glick, J.M., Rader, D.J., Characterization of the lipolytic activity of endotelial lipase, J. Lipid. Res., 43 (2002) 921-929.

- [13] Thomson, G.R., Hiperlipidemi El Kitabı, Uycan Yayınları A.Ş., İstanbul s. , 1990.
- [14] Betteridge, D.J., Illingworth, D.R., Shepherd, J., Lipoproteins in health and disease, Oxford University Press, İngiltere s. 3-17, 163-181, 303-323, 1993.
- [15] Ercan, B., Kroner Arter Hastalıklarında Genetik Risk Faktörlerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin 2002.
- [16] Rassart, E., Bedirian, A., Do Cormo, S., Guinard, O., Sirois, J., Terrisse, L., Milne, R., Apolipoprotein D, Biochim. Biophys. Acta, 1482 (2000) 185-198.
- [17] Warnick, G.R., Remaley, A.T., Boggess, C.N., Mallori, T., Chao-Shern, C., Lipoprotein subclasses in cardiovascular disease risk assessment and patient management, Cardiovascular Disease, 31 (2007) 28-30.
- [18] Johnsen, S.H., Mathiesen, E.B., Fosse, E., Elevated high-density lipoprotein cholesterol levels are protective against plaque progression: a followup study of 1952 persons with carotid atherosclerosis The Tromsø Study, Circulation, 112 (2005) 498–504.
- [19] Adult Treatment Panel III, 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, JAMA, 285 (2001) 2486–97.
- [20] Lianqun, J., Mingde, F., Ying, T., Yanhua, X., Lantu, G., Haoming, T., Li, T., Alterations of high-density lipoprotein subclasses in hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia, International Journal of Cardiology, 120 (2007) 331–337.
- [21] Yanhua, X., Mingde, F., Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia, Clinica Chimica Acta, 332 (2003) 95–102.
- [22] Yanga, Y., Yana, B., Fua, M., Xub, Y., Tianc, Y., Relationship between plasma lipid concentrations and HDL subclasses, Clinica Chimica Acta, 354 (2005) 49–58.
- [23] Wu, X., Fu, M., Liu, B., Study on the immunodetection method of HDL subclasses in human serum, Chin. J. Arterioscler, 7 (1999) 253-255.
- [24] Asztalos, B., Zhang, W., Roheim, P.S., Wong, L., Role of free apolipoprotein A-I in cholesterol efflux. Formation of pre-alpha-migrating high-density lipoprotein particles, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 17 (1997) 1630–1636.
- [25] Yanhua, X., Mingde, F., Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia, Clin. Chim. Acta., 332 (2003) 95– 102.

- [26] Krauss, R.A. and Dreon, D.M., Low-density-lipoprotein subclasses and response to a low-fat diet in healthy men, Am. J. Clin. Nutr., 62 (1995) 478-487.
- [27] Rajman, I., Kendall, M.J., Cramb, R., Holder, R.L., Salih, M., Gammage, M.D., Investigation of low density lipoprotein subfractions as a coronary risk factor in normotriglyceridaemic men, Atherosclerosis, 125 (2) (1996) 231-242.
- [28] Lee, W., Min, W.K., Chun, S., Jang, S., Kim, J.Q., Lee, D.H., Park, J.Y., Park, H., Son, J.E., Low-density lipoprotein subclass and its correlating factors in diabetics, Clinical Biochemistry, 36 (2003) 657-661.
- [29] McNamara, J.R., Campos, H., Ordovas, J.M., Peterson, J., Wilson, P.W., Schaefer, E.J., Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study, Arteriosclerosis, 7 (1987) 483-490.
- [30] Austin, M.A., King, M.C., Vranizan, K.M., Krauss, R.M., Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk, Circulation, 82 (1990) 495-506.
- [31] Ito, M.K., Pharm, D., Niacin-Based Therapy for Dyslipidemia: Past Evidence and Future Advances, The American Journal of Managed Care, 8 (2002) 315-322.
- [32] Krauss, R.M., Dietary and Genetic Probes of Atherogenic Dyslipidemia, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 25 (2005) 2265-2272.
- [33] Decewicz, D.J., Neatrou, D.N., Burke, A., Haberkorn, M.J., Patney, H.L., Vernalis, M.N., and Ellsworth, D.L., Effects of cardiovascular lifestyle change on lipoprotein subclass profiles defined by nuclear magnetic resonance spectroscopy, Lipids in Health and Disease, 8 (2009) 1-14.
- [34] American Heart Association Statistical Facts Sheets 2004 Publication, International Cardiovascular Disease Statistics, <http://www.americanheart.org>.
- [35] Onat, A., Avcı, G.S., Soydan, I., Koylan, N., Sansoy, V., Tokgözoğlu, L., Türk Erişkinlerde Kalp Sağlığının Dünü ve Bugününü : TEKHARF Çalışmasının Sağladığı Üç Boyutlu Harita, Türk kardioloji Derneği Yayınları, İstanbul s. , 1996.
- [36] Grundy, S.M., Balady, G.J., Criqui, M.H., Fletcher, G., Greenland, P., Hiratzka, L.F., Houston-Miller, N., Kris-Etherton, P., Krumholz, H.M., LaRosa, J., Ockene, I.S., Pearson, T.A., Reed, J., Washington, R., Smith, S.C., Primary prevention of coronary heart disease: guidance from Framingham: a statement for healthcare professionals from the AHA Task Force on Risk Reduction, American Heart Association Circulation, 97 (1998) 1876-1887.

- [37] Ercan, B., Tamer, L., Atik, U., Koroner kalp hastalığı ile ilişkili genetik risk faktörleri, MEÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 2 (2002) 213-219.
- [38] Shimada, K., Kawarabayashi, T., Tanaka, A., Fukuda, D., Nakamura, Y., Yoshiyama, M., Takeuchi, K., Sawaki, T., Hosoda, K., Yoshikawa, J., Oolong tea increases plasma adiponectin levels and low-density lipoprotein particle size in patients with coronary artery disease, Diabetes Research and Clinical Practice, 65 (2004) 227-234.
- [39] Rizzo, M. ve Berneis, K., Should we measure routinely the LDL peak particle size, International Journal of Cardiology, 107 (2006) 166-170.
- [40] Packard, C.J. and Shepherd, J., Lipoprotein Heterogeneity and Apolipoprotein B Metabolism, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 17 (1997) 3542-3556.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Erzincan'ın Tercan ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Mercan Ahmet Yesevi İlköğretim Okulunda, Lise öğrenimini Mercan Lisesinde tamamladı. 2001 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde başladığı lisans öğrenimini 2005 yılında tamamladı. 2007 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Tezli Yüksek Lisans programına kaydoldu, 2008 yılında Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Tezli Yüksek Lisans programına geçiş yaptı.