

**T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANJİYOĞRAFI İLE KORONER KALP HASTALIĞI TANISI
KONMUŞ KİŞİLERDE SERUM LİPİD, APOPROTEİN,
LİPOPROTEİN VE HDL SUBFRAKSİYONLARININ
İNCELENMESİ**

SERVET (İNAN) KIZILDAĞ

T 59695

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS**

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
PROF. DR. MERAL FADİLOĞLU**

**İZMİR
1997**

Anjiyografi ile koroner kalp hastalığı tanısı konmuş kişilerde serum Lipid, Apoprotein, Lipoprotein ve IIDL subfraksiyonlarının incelenmesi isimli bu tez 08-07-1997 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı/başarısız bulunmuştur.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Meral Fadiloğlu



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Banu Önvural



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Güldal Kırkrah

İÇİNDEKİLER

Şekil listesi	I
Tablo listesi	II
Grafik listesi	IV
Kısaltmalar	V
Teşekkür	VI
Özet	1
Summary	3

BİRİNCİ BÖLÜM

1.0	Giriş ve amaç	5
-----	---------------	---

İKİNCİ BÖLÜM

2.0.	Genel bilgiler	7
2.1.	Lipoprotein metabolizması	7
2.1.1.	Şilomikron metabolizması	9
2.1.2.	VI.DI. metabolizması	10
2.1.3.	IDL metabolizması	12
2.1.4.	LDL metabolizması	12
2.1.5.	HDL metabolizması	14
2.1.5.1.	HDL ₂ metabolizması	16
2.1.5.2.	HDL ₃ metabolizması	16
2.2.	Lipid biyokimyası	16
2.2.1.	Trigliserid metabolizması	17
2.2.2.	Kolesterol metabolizması	19
2.3.	Apoproteinler	21
2.3.1.	Apoproteinlerin genel özellikleri	21
2.3.2.	Apoprotein A	21
2.3.3.	Apoprotein B	22
2.3.4.	Apoprotein C	22
2.3.5.	Apoprotein D	23
2.3.6.	Apoprotein E	23
2.4.	Koroner kalp hastalığı	24
2.4.1.	Ateroskleroz oluşum mekanizması	25

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3.0.	Gereç ve yöntemler	28
3.1.	Gereçler	28
3.1.1.	Kullanılan araç ve gereçler	28
3.1.2.	Kullanılan kimyasal maddeler	28

3.2.	Olguların seçimi, kan örneklerinin alınması ve saklanması	29
3.3.	Solüsyonların hazırlanması	29
3.4.	Yöntemler	30
3.4.1.	Trigliserid analiz yöntemi	30
3.4.2.	Kolesterol analiz yöntemi	31
3.4.3.	HDL kolesterol analiz yöntemi	31
3.4.4.	HDL ₃ kolesterol analiz yöntemi	32
3.4.5.	HDL ₂ kolesterol tayini	33
3.4.6.	LDL kolesterol tayini	33
3.4.7.	Apoprotein AI ve Apoprotein B analiz yöntemi	33
3.5.	İstatistiksel analizler	34

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.0.	Bulgular	35
------	----------	----

BEŞİNCİ BÖLÜM

5.0.	Tartışma ve sonuç	55
------	-------------------	----

KAYNAKÇA

66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: İnsan plazmasında bulunan başlıca lipoprotein sınıflarının elektron mikrografları.	8
Şekil 2	: Çeşitli lipoprotein sınıflarının, orjin dokuları, degradasyonu ve intravasküler metabolizmanın diyagramatik görünümü.	9
Şekil 3	: Şilomikronların orijini ve katabolik yolu.	10
Şekil 4	: VLDL'lerin orijini ve katabolik yolu.	11
Şekil 5	: VLDL'nin şematik görünümü.	12
Şekil 6	: LDL'nin hücre içerisine alınımı ve katabolizması.	13
Şekil 7	: HDL'nin şematik görünümü.	14
Şekil 8	: HDL'nin metabolizması	15
Şekil 9	: Barsak mukoza hücresinde lipid transportu.	17
Şekil 10	: Yemek sonrası karaciğerdeki yağ metabolizması.	18
Şekil 11	: Siklopentanoperhidrofenantren halkasının kimyasal yapısı.	19
Şekil 12	: Serbest kolesterolün esterifikasyon reaksiyonu.	20
Şekil 13	: Ateromatöz plağın gelişimi..	27

TABLO LİSTESİ

Tablo 1	: İnsan serum lipoproteinlerinin özellikleri.	7
Tablo 2	: Açlık plazma lipoproteinlerinin protein kompozisyonu.	23
Tablo 3	: Aterosklerozun gelişimi.	26
Tablo 4	: KKII grubunda erkek olguların sırasıyla yaş, serum, trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL ₂ kolesterol, HDL ₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apoprotein AI, Apoprotein B düzeyleri ve total kolesterol/HDL, HDL ₂ /HDL ₃ , Apoprotein AI/Apoprotein B, Apoprotein B/Apoprotein AI oranları	36
Tablo 5	: KKH grubunda kadın olguların sırasıyla yaş, serum, trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL ₂ kolesterol, HDL ₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apoprotein AI, Apoprotein B düzeyleri ve total kolesterol/HDL, HDL ₂ /HDL ₃ , Apoprotein AI/Apoprotein B, Apoprotein B/Apoprotein AI oranları.	38
Tablo 6	: Kontrol grubunda erkek olguların sırasıyla yaş, serum, trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL ₂ kolesterol, HDL ₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apoprotein AI, Apoprotein B düzeyleri ve total kolesterol/HDL, HDL ₂ /HDL ₃ , Apoprotein AI/Apoprotein B, Apoprotein B/Apoprotein AI oranları.	39
Tablo 7	: Kontrol grubunda kadın olguların sırasıyla yaş, serum, trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL ₂ kolesterol, HDL ₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apoprotein AI, Apoprotein B düzeyleri ve total kolesterol/HDL, HDL ₂ /HDL ₃ , Apoprotein AI/Apoprotein B, Apoprotein B/Apoprotein AI oranları	40
Tablo 8	: KKH grubunda erkek olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.	41
Tablo 9	: KKH grubunda kadın olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.	41
Tablo 10	: Kontrol grubunda erkek olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.	42
Tablo 11	: Kontrol grubunda kadın olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.	42

Tablo 12 : Erkek olgularda KKH ve kontrol gruplarında parametrelerin ortalama değerleri standart sapmaları ve gruplararası farklılıkların anlamlılık değerleri.	43
Tablo 13 : Kadın olgularda KKH ve kontrol gruplarında parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları ve gruplararası farklılıkların anlamlılık değerleri.	43
Tablo 14 : KKH grubunda erkek olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r =korelasyon katsayıları, p =ilişkinin anlamlılık değeri)	50
Tablo 15 : Kontrol grubunda erkek olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r =korelasyon katsayıları, p =ilişkinin anlamlılık değeri)	51
Tablo 16 : KKH grubunda kadın olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r =korelasyon katsayıları, p =ilişkinin anlamlılık değeri)	52
Tablo 17 : Kontrol grubunda kadın olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r =korelasyon katsayıları, p =ilişkinin anlamlılık değeri)	53



GRAFİK LİSTESİ

- Grafik 1 : KKH ve kontrol gruplarında erkek olgularda yaş, trigliserid, total kolesterol ve LDL kolesterol değerlerinin ortalamaları. 44
- Grafik 2 : KKH ve kontrol gruplarında erkek olgularda HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol HDL₃ kolesterol, HDL₂/HDL₃ kolesterol, Total kolesterol/HDL değerlerinin ortalamaları. 44
- Grafik 3 : KKH ve kontrol gruplarında erkek olgularda Apoprotein AI, Apoprotein B, Apoprotein AI/B, Apoprotein B/AI değerlerinin ortalamaları. 44
- Grafik 4 : KKH ve kontrol gruplarında kadın olgularda yaş, trigliserid, total kolesterol ve LDL kolesterol değerlerinin ortalamaları. 45
- Grafik 5 : KKH ve kontrol gruplarında kadın olgularda HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol HDL₃ kolesterol, HDL₂/HDL₃ kolesterol, Total kolesterol/HDL değerlerinin ortalamaları. 45
- Grafik 6 : KKH ve kontrol gruplarında kadın olgularda Apoprotein AI, Apoprotein B, Apoprotein AI/B, Apoprotein B/AI değerlerinin ortalamaları. 45
- Grafik 7 : KKH grubunda erkek olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisi. 46
- Grafik 8 : KKH grubunda kadın olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisi. 47
- Grafik 9 : Kontrol grubunda erkek olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisi. 48
- Grafik 10 : Kontrol grubunda kadın olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisi. 49

KISALTMALAR

ACAT	:	Açıl: kolesterol açıltransferaz
Apo AI	:	Apoprotein AI
Apo AII	:	Apoprotein AII
Apo B	:	Apoprotein B
Apo B48	:	Apoprotein B48
Apo B100	:	Apoprotein B100
Apo C	:	Apoprotein C
Apo CII	:	Apoprotein CII
Apo E	:	Apoprotein E
d	:	Dansite
FFA	:	Serbest yağ asiti
HDL	:	Yüksek dansiteli lipoprotein
HDL ₂	:	Yüksek dansiteli lipoprotein 2
HDL ₃	:	Yüksek dansiteli lipoprotein 3
HMG-CoA	:	β -Hidroksi β -metil glutaril Koenzim A
HPL	:	Hepatik lipoprotein lipaz
IDL	:	Orta dansiteli lipoprotein
KKH	:	Koroner kalp hastalığı
LCAT	:	Lesitin kolesterol açıl transferaz
LDL	:	Düşük dansiteli lipoprotein
LPL	:	Lipoprotein lipaz
MI	:	Miyokard infarktüsü
NCEP	:	National Cholesterol Education Programme
PDGF	:	Trombositten derive büyüme faktörü
PTA	:	Fosfotungustik asit
RES	:	Retikulo endotelial sistem
TG	:	Trigliserid
T.Kol	:	Total kolesterol
TXA ₂	:	Tromboksan A ₂
VLDL	:	Çok düşük dansiteli lipoprotein

TEŞEKKÜR

Tcz çalıŐmalarımı yűrűtcbilmem için bana her tűrlű olanađı sađlayan, çalıŐmamın her aŐamasında yakın ilgi, destek ve katkısı bulunan danıŐmanım; Biyokimya Anabilim Dalı űđretim űyesi Prof. Dr. Sayın Meral Fadilođlu'na, lisans ve lisansűstű űđrenimim boyunca űzerimde emeđi bulunan; artık aramızda bulunmayan ve rahmetle andıđımız Biyokimya Anabilim Dalı eski BaŐkanı Prof. Dr. Sayın İ. Ruhi Tűre'ye, Biyokimya Anabilim Dalı yeni BaŐkanı Prof. Dr. Sayın Banu Őnvural'a; tűm Biyokimya Anabilim Dalı űđretim űyelerine, Kardiyoloji Kliniđi'nden Uzm. Dr. Ahmet TaŐtan'a, Anjiyografi teknisyeni Tıbbi Biyolog Sebahattin İduđ'a, Kimya Műh. Faruk Turgay'a, AraŐ. Gűr. Dr. Pınar Akan'a ve Biyokimya Anabilim Dalındaki tűm arkadaŐlarımın anlayıŐ, destek ve yardımlarından dolayı teŐekkűrű borç bilirim.

Ayrıca; her zaman sevgisini ve desteđini yanımda bulduđum eŐim AraŐ. Gűr. Sefa Kızıldađ'a ve aileme teŐekkűr ederim.

SERVET (İNAN) KIZILDAĞ

ÖZET

ANJİYOĞRAFİ İLE KORONER KALP HASTALIĞI TANISI KONMUŞ KİŞİLERDE SERUM LİPİD, APOPROTEİN, LİPOPROTEİN VE HDL SUBFRAKSİYONLARININ İNCELENMESİ

SERVET (İNAN) KIZILDAĞ

Tüm dünyada, koroner kalp hastalığına yol açan ateroskleroz ve bunun komplikasyonlarına bağlı ölümler başlıca ölüm nedenlerinden biridir. Yüksek kan trigliserid ve total kolesterol düzeyleri bu hastalığın gelişiminde temel risk faktörlerindedirler. Ateroskleroz gelişiminde serum lipoproteinlerinden HDL kolesterol ve LDL kolesterol rol oynamaktadır. Yüksek serum LDL kolesterol ve düşük HDL kolesterol düzeyleri de önemli risk faktörleridir. Bir çok görüş HDL kolesterol düzeylerindeki azalmanın gerçekte HDL₂ fraksiyonundaki düşmeden kaynaklandığını savunmaktadır. Lipoproteinlerin protein komponenti olan apoproteinler, lipoproteinlerin kendilerine özgü reseptörlere bağlanmasında rol oynarlar ve lipoprotein metabolizmasında önemli bir yere sahiptirler.

Bu çalışmada; KKH ve aterosklerozun gelişiminde serum lipid, lipoprotein ve apoproteinleri ile birlikte HDL subfraksiyonlarının kantite edilmesi yöntemini laboratuvarımıza ve rutine yerleştirmeyi ve elde edilen sonuçları bir kontrol grubu ile karşılaştırarak incelemeyi amaçladık.

Çalışmamız, anjiyografik olarak KKH tanısı konmuş 43 erkek (yaş;59.9±10.3) ve 10 kadın (yaş;60.6±8.4) hastadan oluşan hasta grupları ile sağlıklı 9 erkek (yaş;57.5±12.8) ve 11 kadın (yaş;56.1±11.5) bireyden oluşan kontrol grupları üzerinde gerçekleştirildi.

Hasta ve kontrol gruplarında açlık serum trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apo AI, Apo B düzeyleri ve Total kolesterol/ HDL, HDL₂/HDL₃, Apo AI/Apo B, Apo B/Apo AI oranları saptandı. Bu değerler; KKH grubunda erkek olgularda sırasıyla; 168.9±78.6* , 237.6±72.6* , 34.2±8.3* , 12.6±6.0* , 21.6±6.3* , 171.1±67.8* , 104.3±16.3* , 120.4±29.3* , 7.3±2.6 , 0.6±0.4 , 0.8±0.1 , 1.2±0.2 , KKII grubunda kadın olgularda sırasıyla; 149.1±36.2* , 260.6±28.4* , 31.0±6.5* , 11.3±4.0* , 19.7±5.6* , 199.8±27.0* , 106.7±17.6* , 129.1±29.1* , 8.2±2.1 , 0.6±0.3 , 0.8±0.2 , 1.2±0.3 ,

Kontrol grubunda erkek olgularda sırasıyla; $124.3 \pm 71.0^*$, $196.7 \pm 30.2^*$, $46.5 \pm 16.6^*$, $21.7 \pm 11.7^*$, $24.7 \pm 10.5^*$, $125.3 \pm 32.4^*$, $113.6 \pm 24.5^*$, $99.1 \pm 32.9^*$, 4.7 ± 1.8 , 1.0 ± 0.6 , 1.3 ± 1.0 , 0.9 ± 0.3 , Kontrol grubunda kadın olgularda sırasıyla; $151.4 \pm 35.1^*$, $219.1 \pm 44.5^*$, $37.0 \pm 9.1^*$, $16.0 \pm 9.6^*$, $21.0 \pm 6.9^*$, $151.8 \pm 40.7^*$, $110.9 \pm 22.2^*$, $119.1 \pm 31.9^*$, 6.0 ± 1.4 , 0.8 ± 0.7 , 0.9 ± 0.3 , 1.1 ± 0.3 olarak bulundu.

KKH grubunda erkek olgularda; trigliserid ($p=0.0277$), total kolesterol ($p=0.0418$), LDL kolesterol ($p=0.0226$), apo B ($p=0.0044$) düzeyleri ve total kolesterol/HDL ($p=0.0021$), apo B/apo AI ($p=0.0118$) oranları kontrol grubuna göre artmış; HDL kolesterol ($p=0.0277$), HDL₂ kolesterol ($p=0.0226$), HDL₃ kolesterol ($p=0.0431$), apo AI ($p=0.0339$) düzeyleri ve HDL₂/HDL₃ ($p=0.0421$), apo AI/apo B ($p=0.0171$) oranları kontrol grubuna göre azalmış saptandı.

KKH grubunda kadın olgularda; total kolesterol ($p=0.0357$), LDL kolesterol ($p=0.0101$), apo B ($p=0.0467$) düzeyleri ve total kolesterol/HDL ($p=0.0295$), apo B/apo AI ($p=0.0387$) oranları kontrol grubuna göre artmış; HDL kolesterol ($p=0.0410$), HDL₂ kolesterol ($p=0.0340$), apo AI ($p=0.0349$) düzeyleri ve apo AI/apo B ($p=0.0386$) oranı kontrol grubuna göre azalmış saptandı.

Kadın olgularda; Trigliserid ($p=0.7045$), HDL₃ kolesterol ($p=1.000$) düzeyleri ve HDL₂/HDL₃ ($p=0.9725$) oranında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı.

Bu bulgular, HDL₂ ve HDL₃ kolesterollerin ateroskleroz gelişiminde önemli rolü olduğunu, HDL₂ ve HDL₃ kolesterol düzeylerinin ve HDL₂/HDL₃ oranının belirlenmesinin ateroskleroz risk profilinin ortaya konmasında çok değerli kriterler olduğunu göstermektedir. Lipid profilinde total kolesterol/HDL, apoAI/apo B, apo B/apo AI oranlarının tek başına lipoprotein kolesterollerin belirlenmesinden daha anlamlı sonuçlar verebileceğini göstermektedir.

(*) : mg/dl

Anahtar sözcükler: Ateroskleroz, KKH, HDL subfraksiyonları, Lipoproteinler, Apoproteinler.

SUMMARY

SERUM LIPID, APOPROTEIN, LIPOPROTEIN AND HDL SUBFRACTION ANALYSIS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASES DIAGNOSED ANGIOGRAPHICALLY

SERVET (İNAN) KIZILDAĞ

Atherosclerosis, which causes coronary artery disease, and its complications are the leading cause of the death throughout the world. High triglyceride and total cholesterol levels are the main risk factors in the development of the disease. High serum LDL and low HDL levels are also important risk factors in the development of atherosclerosis. Many authors claim that low HDL levels is due to decreased HDL₂ fraction. Apoproteins, which are protein components of lipoproteins, are responsible for binding of lipoproteins to their specific receptors and they have a vital role in lipoprotein metabolism.

In this study, we have proposed to study the role of serum lipid, lipoprotein, apoproteins and HDL subfractions in the development of coronary artery disease and atherosclerosis and we have compared the results of the patient group with those of the control group. 43 male (age 59.9±10.3) and 10 female (age 60±8.4) in patient group and 9 healthy male (age 57.5±12.8) and 11 healthy female (age 56.5±11.5) in control group were included in the study. Fasting serum triglyceride, total cholesterol, HDL cholesterol, HDL₂ cholesterol, HDL₃ cholesterol, LDL cholesterol, apo AI, apo B levels and total cholesterol/HDL, HDL₂/HDL₃, apo AI/apo B, apo B/apo AI ratios were studied in patient and control groups. These results were as follows in males with coronary artery disease; 168.9±78.6* , 237.6±72.6* , 34.2±8.3* , 12.6±6.0* , 21.6±6.3* , 171.1±67.8* , 104.3±16.3* , 120.4±29.3* , 7.3±2.6 , 0.6±0.4 , 0.8±0.1 , 1.2±0.2 , These results were as follows in females with coronary artery disease; 149.1±36.2* , 260.6±28.4* , 31.0±6.5* , 11.3±4.0* , 19.7±5.6* , 199.8±27.0* , 106.7±17.6* , 129.1±29.1* , 8.2±2.1 , 0.6±0.3 , 0.8±0.2 , 1.2±0.3 , These results were as follows in males control group; 124.3±71.0* , 196.7±30.2* , 46.5±16.6* , 21.7±11.7* , 24.7±10.5* , 125.3±32.4* , 113.6±24.5* , 99.1±32.9* , 4.7±1.8 , 1.0±0.6 , 1.3±1.0 , 0.9±0.3 , These results were as follows in female control group; 151.4±35.1* , 219.1±44.5* , 37.0±9.1*

, 16.0±9.6* , 21.0±6.9* , 151.8±40.7* , 110.9±22.2* , 119.1±31.9* , 6.0±1.4 , 0.8±0.7 , 0.9±0.3 , 1.1±0.3.

In males with coronary artery disease triglycerid (p=0.0277), total cholesterol (p=0.0418), LDL cholesterol (p=0.0226), apo B(p=0.0044) levels and total cholesterol/HDL (p=0.0021), apo B/apo AI (p=0.0118) ratios were increased whereas HDL cholesterol (p=0.0277), HDL₂ cholesterol (p=0.0226), HDL₃ cholesterol (p=0.0431), apo AI (p=0.0339) levels and HDL₂/HDL₃ (p=0.0421), apo AI/apo B (p=0.0171) ratios were decreased when compared with that of control groups.

In females with coronary artery disease total cholesterol (p=0.0357), LDL cholesterol (p=0.0101), apo B (p=0.0467) levels and total cholesterol/HDL (p=0.0295), apo B/apo AI (p=0.0387) ratios were increased and HDL cholesterol (p=0.0410), HDL₂ cholesterol (p=0.0340), apo AI (p=0.0349) levels and apo AI/apo B (p=0.0386) ratios were decreased when compared with that of control groups.

We could not obtain statistically significant difference when we compared in females triglyceride (p=0.7045), HDL₃ cholesterol (p=1.000) level and HDL₂/HDL₃ (p=0.9725) ratio with that of control group.

All data shows that HDL₂ and HDL₃ cholesterol levels have an important role in the development of atherosclerosis and determination of HDL₂, HDL₃ levels and HDL₂/HDL₃ ratio is a invalid tool to identify atherosclerosis risk profile. It also shows that total cholesterol/HDL, apo AI/apo B, apo B/apo AI are more valuable than sole lipoprotein levels.

(*) : mg/dl

Key words: Atherosclerosis, CAD, HDL subfractions, Lipoproteins, Apoproteins

BİRİNCİ BÖLÜM

1.0. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde tüm dünyada, Koroner kalp hastalığı (KKH) sonucu oluşan miyokard infarktüsünün (MI), başlıca ani ölüm nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir. KKH ve bunun komplikasyonlarına bağlı ölümler endüstrileşmiş ülkelerde daha sık görülmektedir.(1) Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre her yıl ölümlerin Amerika Birleşik Devletleri'nde %55'i İsviçre'de %33'ü ve Japonya'da %15'i KKH nedeni ile gerçekleşmektedir.(2) Türkiye'nin endüstrileşme sürecindeki bir ülke olması nedeniyle KKH'a bağlı ölümlerin artacağı tahmin edilmektedir. Avrupa ve Amerika'da yapılan prospektif epidemiyolojik çalışmalarda KKH'nin risk faktörleri belirlenmiştir. Bunlar; artmış serum (veya plazma) kolesterol düzeyleri, sigara içimi, hipertansiyon, diyabet, obezite, yaş, cinsiyet, durağan bir yaşam biçimi ve genetik faktörlerdir.(3) Obezite, sigara içimi, beslenme alışkanlıkları ve egzersiz gibi değiştirilebilir faktörlerin ortadan kaldırılmasıyla hastalık riski önemli ölçüde azaltılabilir.(4,5)

Bir çok epidemiyolojik çalışmada KKH'nin serum (plazma) lipidleri, lipoproteinleri ve apoproteinleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.(1,2,6,7) Yüksek kan kolesterol düzeylerinin, KKH görülme sıklığı ile doğru orantılı olduğu bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir.(8) Özellikle ateroskleroz gelişiminin yüksek kan LDL (Low density lipoprotein) kolesterol ve düşük HDL (high density lipoprotein) kolesterol düzeyleri ile kuvvetli ilişkisi olduğu birçok araştırmacı tarafından deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır. (6,7,9) Aterosklerozun gelişiminde hipertrigliserideminin önemi, hala tartışma konusudur. Bazı çalışmalarda, kan trigliserid düzeylerinin MI için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir.(8) Ayrıca apoprotein AI ve apoprotein B'nin KKH gelişimindeki rolünü belirlemek üzere yapılan çalışmalarda anjiyografik olarak KKH tanısı konmuş hastalarda, KKH olmayan semptomatik hastalara göre Apo B'nin daha yüksek ve Apo AI 'in ise daha düşük olduğu bildirilmiştir.(6,10,11) İleri ayırıcı çalışmalar, KKH tanısında apoproteinlerin yerinin lipidlerden ve lipoprotein kolesterollerden daha önemli olduğunu vurgulamıştır. Hatta bazı çalışmalarda Apo B/Apo AI oranının tek tek lipoproteinlerden daha hassas olduğu belirtilmektedir. Apo B'nin yükselmiş konsantrasyonları (LDL'nin) diffüz koroner aterosklerozün genç yaşta oluşması üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir.(12)

Diğer yandan KKH olan kadın ve erkeklerde HDL kolesterol düzeyleri azalmıştır. Yapılan bir çok çalışmada düşük HDL kolesterol düzeylerinin gerçekte HDL₂ subfraksiyonundaki düşmeden kaynaklandığı ve aterosklerozdan korunmada major rolü HDL₂ subfraksiyonunun oynadığı bildirilmiştir.(4,6,10,13,14) Diğer bazı araştırmacılar ise KKH'nda hem HDL₂ hem de HDL₃ fraksiyonlarında azalma olduğunu savunmaktadırlar.(15,16,17) Bir çok çalışmanın sonucunda KKH tanısında ve ateroskleroz risk profilinin belirlenmesinde, HDL subfraksiyon düzeylerinin belirlenmesinin, lipoprotein kolesterollerinin düzeylerinin belirlenmesinden çok daha hassas bir kriter olduğu bildirilmiştir.(4,6,10,13,18,19)

Daha önceleri bir çok çalışmada lipid ve lipoprotein metabolizmasının, ateroskleroz ve KKH gelişimi ile ilişkisi incelenmiş ve bulgular ortaya konmuştur. Bu çalışmada; KKH'ndaki aterosklerozun gelişiminde rolü olan ve Anabilim dalımızda önceleri çalışılmış olan lipid, lipoprotein, apoproteinler ile birlikte Anabilim dalımızda daha önce çalışılmamış olan HDL subfraksiyonlarının kantitasyonunun laboratuvarımıza ve rutin hizmetimize katkısı olabileceğini düşünerek analiz yöntemimizi yerleştirmeyi ve elde edilen sonuçları bir olgu gurubu üzerinde tartışmayı amaçladık.

İKİNCİ BÖLÜM

2.0.GENEL BİLGİLER

2.1. LİPOPROTEİN METABOLİZMASI

Apolar bileşikler olan lipidler plazmada lipoproteinler şeklinde taşınırlar. Lipoproteinler, kolesterol, kolesterol esteri ve trigliserid gibi suda çözünemeyen lipidleri, sulu bir ortam olan kan plazmasında taşımakla görevli olan oluşumlardır. Bu makromoleküller komplekslerin iç kısmında trigliserid ve kolesterol esterlerinden oluşan non polar bir çekirdek, dış yüzünde ise fosfolipid, serbest kolesterol ve apoproteinlerden oluşan polar bir kabuk vardır. Lipoproteinlerin yüzeyinde yer alan özgül apoproteinler, onların metabolizmalarını belirler ve çeşitli lipoproteinlerle ilgili apoprotein (apolipoprotein) adı verilen 10 kadar değişik protein yapısı bulunmaktadır.(20,21,22)

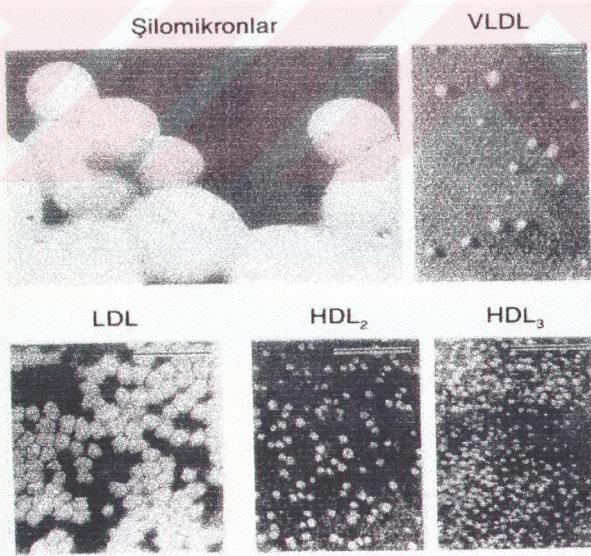
Tablo 1: İnsan serum lipoproteinlerinin özellikleri. (22)

	Çap (Å)	Dansite (kg/L)	Sf	Elektroforetik mobilité
Şilomikron	750-12,000	<0.95	>400	Orjin
VLDL	300-700	0.95-1.006	20-400	Pre-β
IDL		1.006-1.019	12-20	β veya pre-β
LDL	180-300	1.019-1.063	0-12	β
HDL2		1.063-1.125		
	50-120			α1
HDL3		1.125-1.210		
Lp(a)		1.045-1.080		pre-β

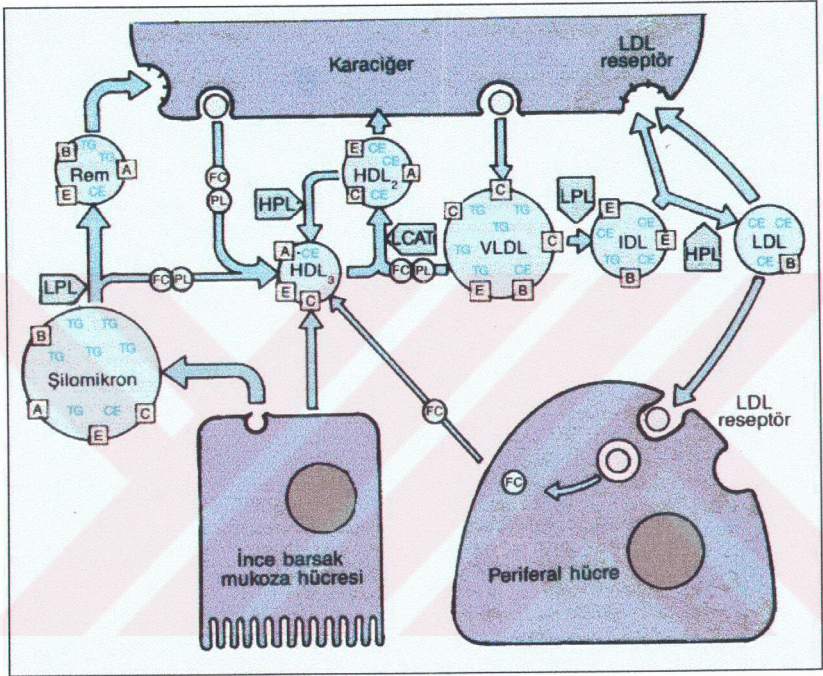
Lipoproteinler ilk kez 1920'lerde Machebouf tarafından tanımlanmıştır. Bu araştırmacı, lipoproteinleri ayırmak için amonyum sülfat kullanmıştır. Daha sonra, 1940'larda Onclay ve arkadaşları, lipoproteinleri fraksiyonlandırmada Cohn yöntemini, Goffman ve arkadaşları ise, aynı amaçla ultrasentrifüjü kullanmışlardır. Bu yöntem, daha sonra geliştirilip klasik bir yöntem haline almıştır. Hatch ve arkadaşları ise, lipoproteinleri ayırmak için elektroforez tekniğini kullanmışlardır.(23)

Plazma lipoproteinleri flotasyon hızlarına (Sf), hidrate dansitelerine (d), büyüklüklerine ve elektroforetik mobilitelerine göre sınıflandırılırlar. Bunlar arasında en yaygın olanları ultrasantrifüj ile dansitelerine göre yada elektroforez ile elektroforetik mobilitelerine göre yapılan sınıflandırmadır. Serbest yağ asitlerinin (FFA) dışında, fizyolojik olarak ve klinik tanımda önemli olan 4 ana lipoprotein tanımlanmıştır. Bunlar Şilomikronlar, VLDL, LDL ve HDL'dir. Ultrasantrifüj ayırımına göre ise lipoproteinler; Şilomikronlar, VLDL, LDL, IDL, HDL olarak sınıflandırılırlar.

Şekil 1: İnsan plazmasında bulunan başlıca lipoprotein sınıflarının elektron mikrografları. (20)



Şekil 2: Çeşitli lipoprotein sınıflarının, orijin dokuları, degradasyonu ve intravasküler metabolizmasının diyagramatik görünümü. (20)

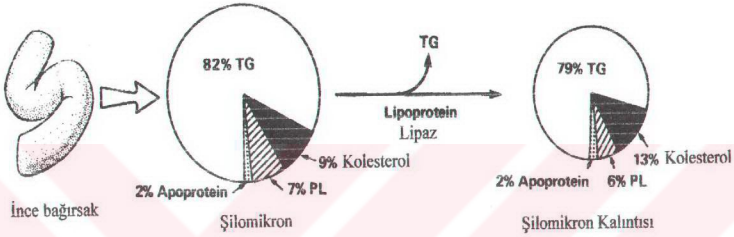


2.1.1. ŞİLOMİKRON METABOLİZMASI

Şilomikronlar, diyetteki lipidleri dolaşıma taşımaktan sorumlu başlıca trigliserid, daha az oranda da fosfolipid, serbest kolesterol, kolesterol esterleri ve proteinden oluşur. Büyüklüğü 100-1000 nm arasında değişen, dansitesi <950 g/ml, elektroforetik mobilitesine göre incelendiğinde orijinde yer alan, plazmanın en büyük lipoprotein molekülleridir. Proteinler, şilomikronların minör yapı taşlarıdır. Şilomikronların protein içeriği %1-2 kadar olmasına rağmen major fonksiyonel role sahiptirler. Şilomikronlarda apoprotein A, B48, C ve E

bulunmaktadır. Diyet trigliseridleri, absorbe edildikleri ince bağırsaktan sistemik dolaşıma şilomikronlar ile taşınırlar. Şilomikronların plazmadan klirensleri oldukça hızlıdır ve yarılanma ömürleri bir saatten azdır. Normalde 12 saatlik açlık sonrasında kanda şilomikrona rastlanmaz.(20,21,22)

Şekil 3: Şilomikronların orijini ve katabolik yolu. (24)



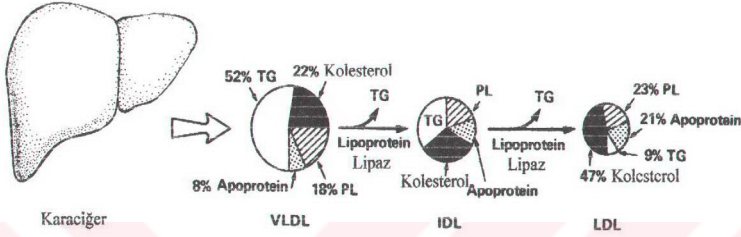
Şilomikronlar dolaşıma girdikten sonra, HDL'den Apo CII apoproteinlerini alır. Lipoprotein lipaz enziminin aktivitesi için kofaktör olarak hem fosfolipidler hem de apoprotein CII gereklidir.(21) Apo CII özel bir fosfolipid bağlayıcı yere sahiptir ve bu yolla kendisi lipoproteine bağlanır. Böylece şilomikronlar bu enzime hem substratını hem de kofaktörlerini sağlarlar. Lipoprotein lipaz enzimi aracılığı ile, şilomikronlardaki trigliserid, monogliserid ve yağ asitlerine hidroliz olur. Lipoprotein lipaz ile reaksiyon, şilomikrondaki trigliseridlerin %90'ının ve HDL'ye dönen Apo C'nin kaybına yol açar. Geriye Apo B48 ve Apo E içeren şilomikron kalıntısı kalır. Şilomikron kalıntıları spesifik reseptörler aracılığı ile karaciğer tarafından alınır ve metabolize edilirler.(20,21,24,25)

2.1.2. VLDL METABOLİZMASI

VLDL yapı ve kompozisyon olarak şilomikronlara benzemekle birlikte, trigliserid içeriği daha az, kolesterol, fosfolipid ve protein içeriği daha fazladır. Partikül büyüklüğü 25-100 nm arasındadır, dansitesi <1006 g/ml ve elektroforezde pre-β mobilitesi gösterirler. Yapılarında apoprotein C, E ve B100 bulundurulur. En çok karaciğerde sentezlenir ve başlıca

görevi endojen trigliseridi taşımaktır. Ancak bazı VLDL'ler ince bağırsakta sentezlenir ve safra orjinli yağ asitleri ile endojen kolesterolün reabsorbsiyonunda rol alırlar.(20,21,22,26)

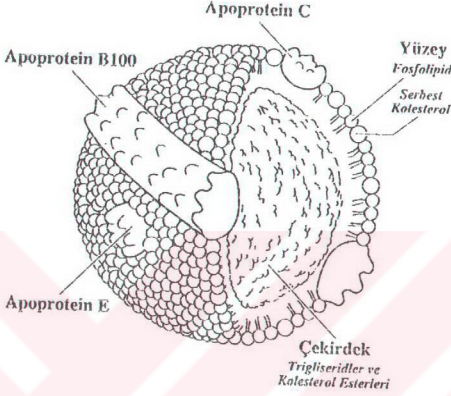
Şekil 4: VLDL'nin orjini ve katabolik yolu. (24)



Hepatik trigliseridler plazma VLDL'de bulunan trigliseridlerin direkt ön maddesidir. Trigliserid sentezi, VLDL oluşum ve salgılanmasını derhal uyarır. Hepatik trigliserid sentezinde kullanılan yağ asitleri; ekzojen karbohidrattan türeyen asetil KoA dan sentez ve serbest yağ asitlerinin tutulmasından kaynaklanır.(21) Dolaşıma yeni verilen olgunlaşmamış VLDL Apo B100 ve Apo E içerir, daha sonra HDL'den bir miktar Apo E ve Apo C apoproteinlerini alır. VLDL turnover hızı şilomikronlardan daha yavaştır ve yarı ömrü 2-4 saat olarak belirtilmiştir.(20,21)

VLDL trigliseridleri, lipoprotein lipaz ve daha az olarak hepatic lipaz ile hidroliz edilirler. Lipoliz sonucu VLDL partikülleri daha da küçülür ve kolesterol açısından zenginleşen küçük partiküllere çevrilir. Bunlar VLDL kalıntıları veya IDL olarak adlandırılır. (20,25)

Şekil 5: VLDL'nin şematik görünümü.(26)



2.1.3. IDL METABOLİZMASI

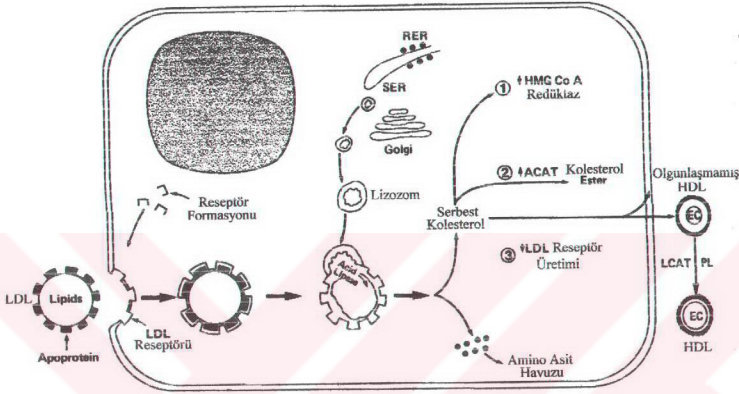
VLDL'nin LDL'ye dönüşümünde, IDL ara ürün olarak meydana gelir ve buna VLDL kalıntıları da denilebilir. Partikül büyüklüğü ortalama 25-30 nm olup, dansitesi 1006-1019 g/ml dir ve elektroforezde yavaş pre- β mobilitesi gösterir. Başlıca protein yapı taşları Apo B100 ve Apo E dir. Dolaşımdan LDL reseptörlerince temizlenirler veya HPL (Hepatik Lipoprotein Lipaz) enzimi ile LDL'yi oluşturular. (20,24,25)

2.1.4. LDL METABOLİZMASI

LDL, plazmadaki majör kolesterol taşıyıcı partiküldür. Kolesterolün karaciğerden dokulara dağıtılmasında görev alır. Partikül büyüklüğü 20-25 nm, dansitesi 1019-1063 g/ml arasında olup, elektroforezde β mobilitesi gösterirler. Yapısında eser miktardaki Apo E dışında, sadece Apo B100 bulundurulur. LDL partikül başına düşen mutlak Apo B miktarının

değişmediği ve VLDL'ye benzediği görülünce, LDL'nin VLDL katabolizması sonucu oluştuğu açıklanmıştır.(20,21)

Şekil 6: LDL'nin hücre içerisine alınımı ve katabolizması.(24)



Fibroblast, lenfosit ve arteriyel düz kas hücre kültürleri ve karaciğerde yapılan çalışmalar, LDL için spesifik bağlanma yerlerinin yada reseptörlerin, B100, E reseptörünün varlığını göstermiştir. Dolaşımdaki LDL, apoprotein B100 ile doku reseptörlerine bağlanır ve endositoz olayı ile hücre içerisine alınır. Hücre içine alınan bu vezikül lizozom ile birleşir. Burada, LDL'deki apoproteinler, hücre içi hidrolitik enzimler tarafından yıkılır ve amino asitlerine 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 (ACAT) enzimi aktive edilerek ester kolesterole çevrilir ve depo edilir.(25) Plazma LDL kolesterol konsantrasyonu yükselirse, RES (Retikulo Endotelial System)'e ait makrofajlar tarafından dolaşımdan alınabilir. Makrofajlardaki kolesterol esterleri yükselmesi sonucunda köpük hücresi (Foam Cell) olarak adlandırılan hücreler oluşur. Aterosklerotik plakların gelişmesinde bu hücrelerin rolü büyüktür.(25,26)

Familyal hiperkolesterolemi'de LDL reseptörlerinin protein konfigürasyonu bozulmuştur. Dolaşımdaki LDL kolesterol, dokulardaki LDL reseptörleri tarafından tanınmaz

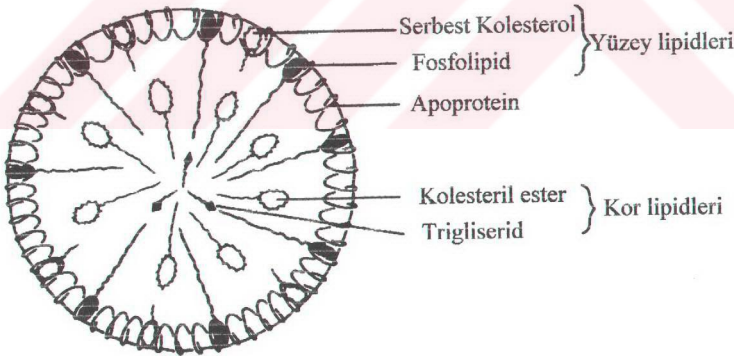
ve bağlanamaz. Bu durumda serum kolesterol düzeyi oldukça yükselir ve bu durum ateroskleroz gelişimine sebep olur.(20,24,26)

Serum LDL kolesterol düzeyi 130 mg/dl'nin üzerinde olduğu zaman ateroskleroz için yüksek risk kabul edilir.(3)

2.1.5. HDL METABOLİZMASI

HDL, dokulardaki kolesterolün karaciğere taşınmasında rol alır. Bu nedenle HDL konsantrasyonları koroner ateroskleroz insidansı ile ters ilişkiidir. (6,7,8,10,18,27,28) HDL'nin dansitesi 1063-1125'te izole edilebilen HDL₂ ve dansitesi 1125-1210'da izole edilebilen HDL₃ isimli iki subfraksiyonu vardır. Partikül büyüklüğü HDL₂ için ortalama 9.5nm, HDL₃ için 6.5nm'dir. Elektroferezde α mobilitesi gösterir. Yapısında önemli miktarlarda Apoprotein AI ve Apoprotein AII bulundurmakla birlikte daha küçük miktarlarda Apoprotein C ve Apoprotein E içerirler.(6,20,21,24,27)

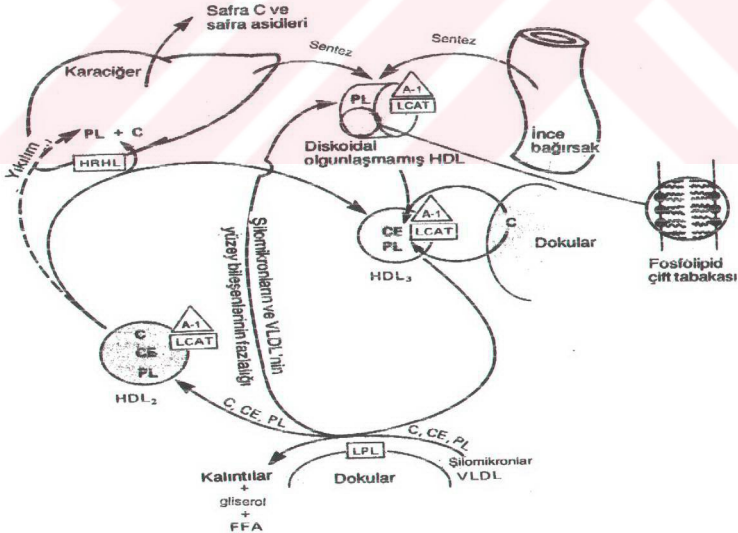
Şekil 7: HDL'nin şematik görünümü.(24)



HDL

HDL hem karaciğer, hem de ince bağırsakta sentezlenir. Bu olgunlaşmamış partiküller başlıca; Apoprotein E, apoprotein C, fosfolipid ve serbest kolesterolden oluşurlar. Daha sonraları apoprotein E'lerin yerini apoprotein A1'ler alır ve serbest kolesterol, LCAT (Lesitin Cholesterol Acyl Transferase) aracılığı ile kanda esterleştirilince, partikül küreselleşmeye başlar. Apoprotein E ve C, başlıca karaciğerde sentezlenirken, apoprotein A1 hem karaciğer hem de ince bağırsakta eşit oranda sentezlenir. "Turnover" çalışmaları HDL'nin yaklaşık %50'sinin, intravasküler kompartmanda yerleştiğini ve apoprotein A1 ile apoprotein AII'nin yarı ömürlerinin benzer olduğunu göstermiştir. Karaciğer ve olasılıkla bağırsaklar HDL apoproteinlerinin yıkımında son yer olarak görülmektedir. Genelde plazmadaki HDL ve VLDL konsantrasyonları arasında karşılıklı bir ilişki vardır. Yüksek karbohidratlı diyet alımı sonucu görülen HDL konsantrasyon düşmesinin, artmış katabolizmaya bağlı olduğu sanılmaktadır. Hücre yüzeyinde HDL'yi tanıyan spesifik bölgelerin veya reseptörlerin bulunduğu bildirilmiştir. Normalde erkeklerde serumda 35 mg/dl, kadınlarda ise 45 mg/dl altındaki değerlerin ateroskleroz için risk olduğu bildirilmiştir.(6,20,21,25,27)

Şekil 8: HDL'nin metabolizması.(21)



2.1.5.1. HDL₂ METABOLİZMASI

HDL₂ dansite 1063-1125'te izole edilen, ortalama partikül büyüklüğü 9.5 nm olan ve elektroforezde α bandına göç eden, HDL'nin büyük olan subfraksiyonudur. Yapısında kolesterol, kolesterol esteri, fosfolipid, apoprotein AI bulundurulur.(20,21)

HDL₂ konsantrasyonları ile koroner ateroskleroz insidansı ters ilişkilidir.(13,14,15,21)
HDL₂'nin plazmadaki konsantrasyonu ve içerdiği protein, HDL₃'ten daha azdır.(20)

Trigliseridden zengin lipoproteinlerin lipolizi sırasında, yüzey elemanlarının serbest bırakılması HDL₃'ün HDL₂'ye dönüşümünü hızlandırır.(20,21)

2.1.5.2. HDL₃ METABOLİZMASI

HDL₃ dansite 1125-1210'da izole edilen ortalama partikül büyüklüğü 6.5 nm olan ve elektroforezde α bandına göç eden HDL'nin küçük olan subfraksiyonudur. Yapısında kolesterol ester, fosfolipid ve apoprotein AI bulundurulur.(20,21)

Apoprotein D ilk kez HDL₃'ten izole edilmiştir. Lipoproteinler arasında kolesterol ester ve trigliserid transferinde rol aldığı düşünülmektedir.(26)

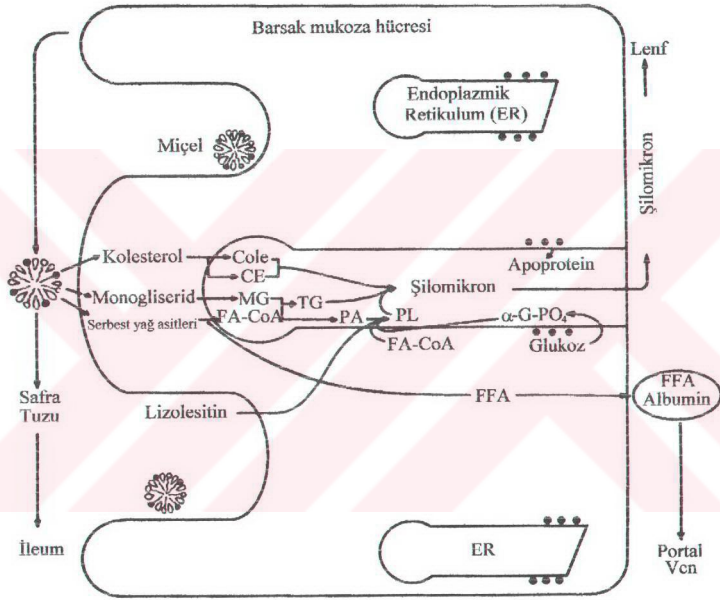
2.2. LİPİD BİYOKİMYASI

Lipidler hidrofobik özeliğe sahip, suda çözünemeyen, ancak eter, kloroform ve benzen gibi apolar çözücülerde çözünebilir organik moleküllerdir. Katı yağları, mumları ve onlarla ilişkili bileşikleri kapsarlar. Lipidler başlıca basit, kompleks ve türev lipidler olmak üzere üç ana grupta incelenirler.(21) Basit lipidler; yağ asitlerinin gliserol esterleri olan yağlar ve yüksek molekül ağırlıklı alkollerle esterleşmesinden oluşan mumlardır. Bileşik lipidler; fosfolipidleri, glikolipidleri, sülfolipidleri ve aminolipidleri ve lipoproteinleri kapsar. Prekürsör ve türev lipidler; yağ asitlerini, gliserolü, steroidleri, yağ aldehitlerini, keton cisimlerini, hidrokarbonları, yağda çözünen vitaminleri ve hormonları kapsar.(21,24)

Lipidler organizmada; hücre membranı yapısal elemanı, enerji depo ve transport maddesi, deri altı dokusu ve bazı organların çevresinde ısı yalıtıcısı olarak hizmet ederler.(21)

Lipidler suda çözünemediğinden, apolar lipidler (trigliserid ve kolesteril esterleri), amfipatik lipidler (fosfolipidler ve kolesterol) ve proteinler ile birleşerek lipoproteinleri oluştururlar ve plazmada lipoproteinler halinde taşınırlar. İnsan vücudunda sıklıkla bulunan, trigliserid, kolesterol ve fosfolipidlerdir.(20,24)

Şekil 9: Barsak mukoza hücresinde lipid transportu. (24)

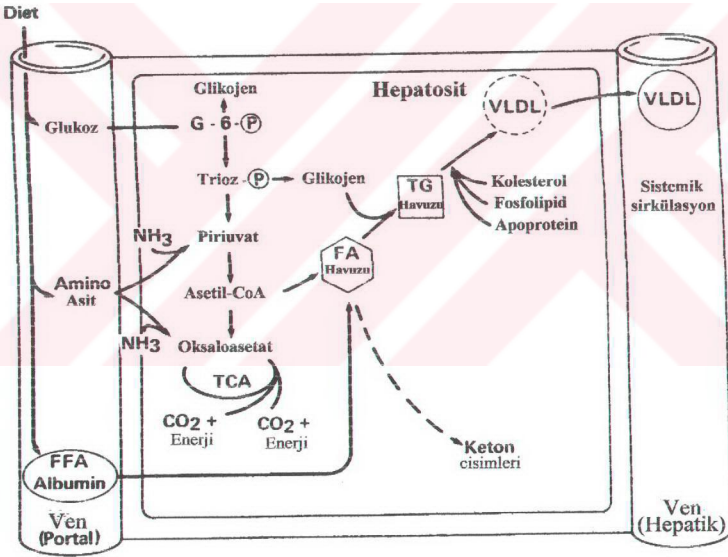


2.2.1. TRİGLİSERİD METABOLİZMASI

Trigliseridler, gliserolün yağ asidi esterleridir ve yağ dokusu içinde saklanarak, hücre için enerji deposu olarak işlev görürler. Trigliseridlerde en çok rastlanan uzun zincirli yağ asitlerinin stereospesifik analizleri sonucu molekülde palmitik asidin 1.pozisyonu, linoleik asidin 2.pozisyonu, oleik asidin 3.pozisyonu tercih ettiğini göstermektedir.(20,21,24,29)

Trigliserid sentezi karaciğer ve yağ dokusunda gliserol fosfat yolu ile, ince barsakta yağ absorpsiyonu sırasında monogliserid yolu ile meydana gelir. Diyetle alınan trigliseridler şilomikronlar şeklinde absorbe edildikten sonra, intestinal lenf kanalcıklarına ve daha sonra da torasik kanal yolu ile sistemik dolaşıma girerler. Trigliseridler plazmada lipoproteinler içerisinde taşınırlar. Tüm lipoprotein fraksiyonlarında bulunmakla birlikte, daha çok şilomikronlar ve VLDL (Very Low Density Lipoprotein) ler içerisinde yer alırlar. Endojen yağ asitlerinden köken alan trigliseridlerin asıl sentez yeri karaciğerdir ve buradan kana VLDL olarak salgılanırlar.(20,21)

Şekil 10: Yemek sonrası karaciğerdeki yağ metabolizması. (24)



Trigliseridlerin plazmadaki yarı ömrü kısadır ve hidrolizin yanısıra, başta yağ dokusu olmak üzere diğer doku ve organlar tarafından alınarak plazmadan ayrılırlar. Trigliseridlerin plazmadan alınması endotel yüzeyinde bulunan lipoprotein lipaz enzimi ile olur. Lipoprotein lipaz kapiller damar duvarında yerleşmiştir ve heparan sülfatın proteoglikan zincirleri tarafından

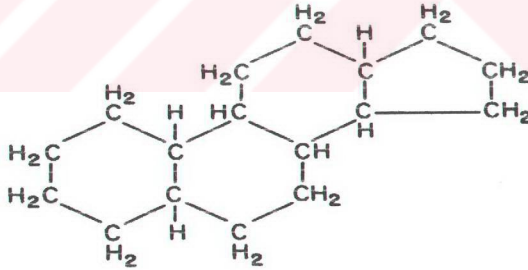
tutulurlar. Lipoprotein lipaz aktivitesi için kofaktör olarak fosfolipidler ve apoprotein CII gereklidir. Bu enzim trigliseridleri yağ asidi ve monogliseride ayırır, oluşan monogliserid, monogliserid hidrolaz aracılığı ile yağ asidi ve gliserole çevrilir. Oluşan yağ asitlerinin büyük bir kısmı doku tarafından alınır ve çeşitli şekillerde kullanılır.(20,21)

Kan trigliserid düzeyleri, yağlı bir yemek sonrası saatlerce yüksek kalsa da, normalde plazmanın bütün şilomikron trigliseridlerinden 12 saat içerisinde temizlendiği belirlenmiştir. Bu nedenle, açlık plazmasındaki ölçümler, dolaşımdaki endojen trigliseridlerin düzeyini gösterir. Normal plazma konsantrasyonu yaşa ve cinsiyete göre değişmekle birlikte, 50-170 mg arasında bulunur.(20,29)

2.2.2. KOLESTEROL METABOLİZMASI

Kolesterol, siklopentanoperhidrofenantren (steran) halkasına sahip, A halkasındaki 3. karbondaki hidroksil grubu bulunan, 27 karbonlu bir bileşiktir ve lipid sınıfı içerisinde incelenen steroid alt grubunun bir üyesidir.(24,29)

Şekil 11: Siklopentanoperhidrofenantren halkasının kimyasal yapısı. (24)

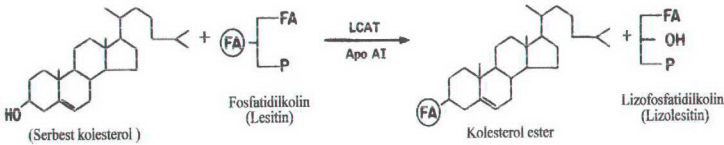


Siklopentanoperhidrofenantren

Kolesterol, dokularda ve plazma lipoproteinlerinde ya serbest kolesterol halinde veya uzun zincirli yağ asidi ile birleşmiş olarak ester kolesterol halinde bulunur. Kolesterolün serbest formu, bütün hücre membranlarının komponenti olduğu gibi bir çok dokuda da başlıca bulunur.

şeklidir. Ancak, adrenal korteks, plazma ve ateromatöz plaklarda kolesterolün önemli bir bölümü esterleşmiştir.(20,21)

Şekil 12: Serbest kolesterolün esterifikasyon reaksiyonu. (24)



Kolesterol organizmanın temel maddelerinden biridir ve başlıca fonksiyonları;

- Hücre membranı, hücre içi organellerinin membranında başlıca yapı taşıdır ve plazma lipoproteinlerinin dış tabakasının gerekli yapısal bileşenidir.
- Safra asitleri yapımında prekürsördür ve safra taşlarının temel yapı taşıdır.
- Vücutta kortikosteroidler, seks hormonları, D vitamini gibi steroidlerin ön maddesidir.

Vücut kolesterolünün yarısı sentez yoluyla meydana gelirken geri kalanı normal diyetten sağlanır. Total sentezin %50'sinden karaciğer, %15'inden barsaklar ve geri kalan büyük bir bölümünden deri sorumludur. Kolesterol hayvan metabolizmasının tipik bir ürünü olduğundan yumurta sarısı, et, karaciğer ve beyin gibi hayvansal kökenli besin maddelerinde bulunur. Bitkiler kolesterol üretmez. Hücrenin mikrozomal (endoplazmik retikulum) ve sitozol fraksiyonu kolesterol sentezinden sorumludur.(21)

İnsan dahil memelilerin bir çoğunda karaciğer toplam kolesterol sentezinin yaklaşık %10-%20'sini gerçekleştirmektedir. 70 kg ağırlığında yetişkin bir insanda, toplam 140g kadar kolesterol vardır. Bunun 8g kadarı plazmada bulunmaktadır. Dokularda bulunan kolesterol, plazma kolesterolü ile değişim içerisinde.(20,26)

Her ne kadar bir çok dokunun kolesterol sentezleme yeteneği varsa da, normal şartlarda vücutta yeni sentezlenmiş kolesterolün hepsi karaciğerde ve ince barsağın distal bölümünde oluşur.(20)

Kolesterol sentezinin başlangıç basamağı, asetat'ın mevalonik asit'e dönüşümüdür. Bu basamağın hızını sınırlayan enzim β -hidroksi β -mtilglutaril-koenzim A redüktaz (HMG-CoA redüktaz)'dır ve son ürünü olan kolesterol tarafından "feed back" mekanizması ile kontrol

edilir. Safra asitlerinin sentezi sadece karaciğerdedir ve bu sentezde hız sınırlayan enzim 7- α hidroksilazdır.(20,21)

Vücutta kolesterol metabolizmasının son ürünü çoğu kez safra asitleridir. İnce barsağa salgılanan bu safra asitlerinin %90'ı geri emilerek dolaşımına karaciğere geri gelir. Buna enterohepatik dolaşım denir. Kolesterolün bir bölümü de steroid hormonların yapımında kullanılır. Normalde bir günde feçesle atılan kolesterol miktarı 1.1g kadardır.(24,26)

Kolesterolün normal serum düzeyi, genetik, yaş, cinsiyet, diyet, fiziksel aktivite ve hormonlar gibi faktörlere göre farklılık göstermekle birlikte, ortalama 140-250 mg/dl arasında değişmektedir.(24) Bir çok çalışmada, yüksek serum (plazma) kolesterol düzeylerinin KKH için büyük bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Serum kolesterol düzeyinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması KKH için risk faktörü olarak kabul edilir.(1,3,8,9)

2.3. APOPROTEİNLER

2.3.1. APOPROTEİNLERİN GENEL ÖZELİKLERİ

Apoproteinlerin başlıca üç fonksiyonu vardır. Fosfolipidler ile reaksiyona girerek kolesterol esterlerinin ve trigliseridlerin solubilize edilmesine yardım ederler, bu lipidlerin LCAT, lipoprotein lipaz ve hepatik lipaz gibi enzimlerle olan reaksiyonlarını düzenlerler, hücre yüzey reseptörlerine bağlanır ve böylece diğer lipoprotein içeriklerinin özellikle de kolesterolün reseptör aracılığı ile alınıp katabolize edilmesini sağlarlar.(7,20,21,25)

Apoproteinlerin lipidleri bağlama mekanizması, primer olarak, fosfolipidlerin yağ açıl zincirleri ve apoproteinlerin nonpolar bölgeleri arasındaki hidrofobik bağ ve sekonder olarak, fosfolipidlerin polar baş grupları ile apoproteinlerin α sarmal bölgelerinde bulunan zıt yüklü aminoasit çiftleri arasındaki iyonik etkileşme ile açıklanır. Apoproteinler A,B,C,D ve E olmak üzere beş ana grupta incelenir.

2.3.2. APOPROTEİN A

Apoprotein A, HDL'nin başlıca proteindir ve Apoprotein AI ve Apoprotein AII olmak üzere başlıca iki alt sınıfı vardır. Apoprotein AI'in molekül ağırlığı 28300 D, Apoprotein

AII'nin ise 17000 D'dur. Apo AI/Apo AII oranı 3/1 dir. Apoprotein A karaciğer ve ince bağırsakta sentezlenir. Apoprotein AI, karaciğer dışı dokulardan serbest kolesterol alınması ve LCAT enziminin aktivasyonunda görev alır. Apoprotein AII'nin tam fonksiyonu bilinmemekle birlikte, LCAT enzimini inhibe ettiği düşünülmektedir. Bununla birlikte HPL'yi de aktive ederek HDL metabolizmasında görev alır. Ayrıca bu iki apoprotein yanyana bulunduğu Apoprotein AII, Apoprotein AI'in lipid bağlama yeteneğini artırır.(20,21,25)

2.3.3. APOPROTEİN B

HDL dışındaki lipoproteinlerin önemli fonksiyonel gurubudur. LDL'nin protein yapısının önemli kısmını oluşturur. Apoprotein B100 ve Apoprotein B48 olmak üzere iki alt grubu vardır. Apoprotein B100'ün molekül ağırlığı 512000 D dur ve başlıca; şilomikron, VLDL, LDL yapısında bulunur. Apoprotein B48'in molekül ağırlığı 241000 D dur ve sadece şilomikron yapısında bulunur. Karaciğerde, Apoprotein B100 sentezlenmekte ve VLDL'nin yapısına sokulmakta, ince bağırsakta ise apoprotein B48 sentezlenmekte ve şilomikronların yapısına sokulmaktadır. Apoprotein B, ilgili bulunduğu lipoproteinin yapıldığı organdan salınmasında rol almakta ve bunların diğer dokulara dağıtılmasını sağlamaktadır. Apoprotein B100, LDL reseptörü ile bağlanmada gerekli iken, Apoprotein B48 gerekli değildir. Serum LDL konsantrasyonu yükseldiğinde, buna bağlı olarak Apoprotein B oranının da yükseldiği saptanmıştır.(6,12,20,21,25)

2.3.4. APOPROTEİN C

Düşük moleküler ağırlıklı apoproteinlerin oluşturduğu bir guruptur. Apoprotein CI, apoprotein CII, apoprotein CIII olmak üzere üç alt grubu vardır. Başlıca karaciğerde sentezlendiği düşünülmektedir. Açlık durumunda apoproteinin büyük bir kısmı VLDL ve HDL yapısında bulunmaktadır. Apoprotein CII'nin, LPL enziminin aktivasyonunda görev aldığı saptanmıştır. Apoprotein CIII'ün ise, LPL enzimi üzerinde inhibitör etkisi olduğu düşünülmektedir.(24,25)

2.3.5. APOPROTEİN D

Bu lipoprotein ilk defa HDL₃ alt gurubundan izole edilmiştir. Lipoproteinler arasında kolesterol ester ve trigliserid transferinde rol aldığı düşünülmektedir.

2.3.6. APOPROTEİN E

Apoprotein EI, apoprotein EII, apoprotein EIII, apoprotein EIV olmak üzere dört alt grubu vardır. Karaciğerde sentezlenir ve plazmaya olgunlaşmamış HDL içerisinde girer. Daha sonra şilomikronlar ve VLDL'ye transfer edilir. Apoprotein E, şilomikron kalıntıları ve LDL'nin, ilgili reseptörler tarafından tanınmasında rol alır. Özellikle, Apoprotein EIII ve Apoprotein EIV izoformları hepatik reseptörler ile kolayca etkileşime girebilir. Apoprotein E'nin, Apoprotein B reseptörleri tarafından da tanınabildiği saptanmıştır.(25,26)

Tablo 2: Açlık plazma lipoproteinlerinin protein kompozisyonu.(20)

	Şilomikronlar	VLDL	LDL	HDL
Total protein (mg/dl)	-	6	80	190
Apoproteinler (% protein)				
Apo AI	Eser	Eser	Eser	66
Apo AII	Eser	Eser	Eser	20
Apo B	5-20	37	97	-
Apo CI	15	3	Eser	3
Apo CII	15	7	Eser	Eser
Apo CIII	40-50	40	2	4
Apo D	-	-	-	5
Apo E	4	13	1	1

2.4. KORONER KALP HASTALIĞI

Koroner arter hastalığına neden olan ateroskleroz, arter duvarlarının intima (içtabaka)'sında, damarların media (orta tabaka) 'sındaki değişmelerin de eşlik ettiği, lipidlerin, kanın öteki yapı taşlarının ve fibröz dokunun fokal birikimlerinden doğan değişikliklerin değişken bir kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu özellikler, arter duvarının yapısı ve metabolizması, kan komponentleri ve hemodinamik güçler arasındaki etkileşimlerin sonucu olarak belirir.(20)

Koroner kalp hastalığında temel patoloji, arter lümeninin lipid birikimi ile daralmasıdır.Bu daralma sonucunda, kalp kası dokusuna giden kan akışı bozulmakta ve buna bağlı olarak dokunun oksijenlenmesi sağlanamamaktadır. Oksijenlenmenin azalması ise, iskemi ve infarktüse neden olmaktadır. Koroner kalp hastalığının gelişmesinde genetik, metabolik, diyet ve yaşam şekli gibi birçok faktörün rolü olduğu gösterilmiştir.(30,31) Kalp kasını besleyen arterler tıkanıpı takdirde, ilk aşamada göğüs ağrısı ile karakterize olan anjina ortaya çıkar. Daha ileriki aşamada ise, kalp kası hücreleri ölür ve kalp krizine veya miyokard infarktüsüne neden olur.(26)

Ateroskleroz risk faktörleri (3,31)

- Yüksek serum (plazma) total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri
- Koroner arter hastalığına ilişkin kesin şikayetler.
- Cinsiyet, erkeklerde risk artmıştır.
- Ailede erken oluşan kalp hastalığı.
- Sigara içimi (>10 sigara/gün)
- Sistemik hipertansiyon (>140/90)
- Düşük HDL kolesterol (<35mg/dl)
- Diabetes mellitus
- Serebrovasküler veya periferik vasküler hastalık hikayesi
- Obezite (>30% vücut ağırlığı)
- Diğer; stres, durağan yaşam, diyet

2.4.1. ATEROSKLEROZ OLUŞUM MEKANİZMASI

Aterom ve ateroskleroz terimleri, Yunanca'da lapa+kitle+kati anlamlarına gelen "athere"+"oma"+"skleros" sözcüklerinden türetilmişlerdir.(20)

Ateroskleroz, aterosklerotik plaklar adı verilen, damar lümenini daraltan intima yerleşimli yağlı-fibröz lezyonların oluşumuyla karakterli olup media ve adventisyada dejeneratif değişikliklerle birlikte. Plakların bazıları büyük ölçüde fibröz yapıda, bazıları ise lümenide daralmayı arttıran, yada tünden tıkanmaya neden olan ikincil komplikasyonlara yol açan (kalsifikasyon, üzerinde trombozis gelişen ülserasyon ve plak içi kanama) yumuşak, yağlı yapıdadır.(32)

Ana yapı elemanı fibröz doku olmakla birlikte, lezyonun %45'ten fazlası lipidlerden, özellikle de kolesterolden oluşur. Bu kolesterol, lokal sentezden değil, hemen tümüyle kandan türemiştir.(20)

Ateroskleroz gelişiminde, yıkıma-yanıt hipotezine göre; ilk aşamalardan biri; kan monositlerinin endotel hücrelerine yapışması ve monositlerin hücrelerin arasından intimaya geçmesidir. Kimyasal ve mekanik faktörler ile zedelene damar duvarına, trombositler bağlanır ve bu trombositler, tromboksan A₂ (TXA₂) üretir ve salgırlar. Bu, trombositlerin olay yerinde kümelenmesine neden olur. Kümelenen trombositler, PDGF (Platelet Derived Growth Factor) salgılar ve trombüs oluştururlar. Daha sonra, PDGF ile uyarılmaya bağlı olarak, mediadaki düz kas hücreleri proliferasyon olarak, intimaya doğru genişlerler ve LDL'yi bünyelerinde biriktirmeye başlarlar. Bu olay monositlerin de katılımıyla devam eder. Monositler arter duvarı içerisinde makrofajlara dönüşürler. İntima içindeki makrofajlar, lipid biriktirerek köpük hücreleri haline alır. Düz kas hücreleri mediadan intimaya geç eder ve proliferasyon olmaya başlar.

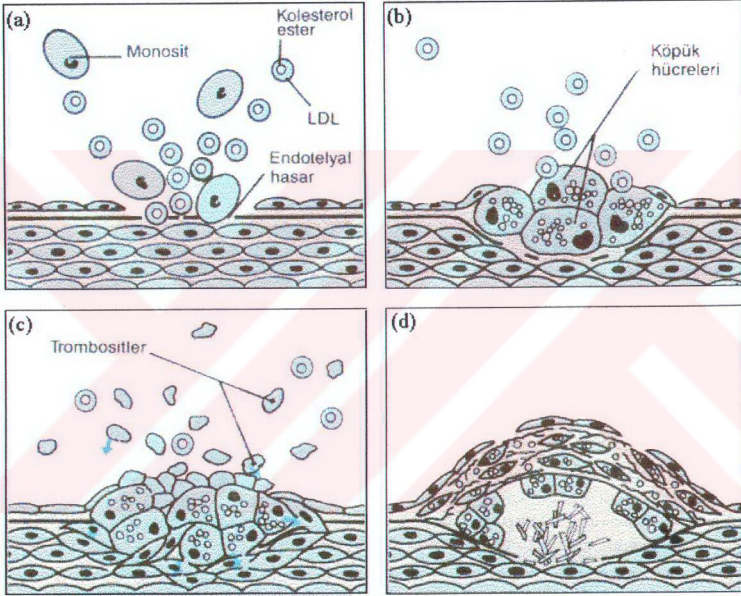
Kolesterol, gerek makrofajlarda, gerekse düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matrikste birikmeye devam eder. İntrasellüler lipidlerin hücreler üzerinde toksik etki gösterdiği ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. Bunun sonucu olarak, hücreler parçalanır ve lipidler ortaya çıkar. Bu hücre artıklarını ortadan kaldırmak için lezyona daha fazla makrofaj girer ve bunun sonucunda daha çok sayıda lipid yüklü köpük hücresi oluşur. Hücre ölümü ve onarımı şeklinde meydana gelen bu kısır döngü lezyonun genişlemesine yol açar.

Tablo 3: Aterosklerozun gelişimi (26)

Yağ birikintileri	→	Proliferatif lezyon	→	Aterom
1. Monositlerin yapışması		2. Monositlerin arter duvarına girişi		3. Makrofaj haline dönüşmeleri
4. Makrofaj köpük hücreleri		5. Köpük hücrelerinde artış		6. Düz kas hücre göçü
7. Düz kas hücre proliferasyonu		8. Matriks artışı		9. Lipid artışı
10. Nekroz		11. Kalsifikasyon		12. Ülserasyon ve tromboz

Vasküler tutulum çocukluk dönemine ilişkin sinsi değişiklikler ile başlar, ilerleyen yaşlarda ağırlaşır ve genellikle arteriyel zayıflama ve yetmezliğe yol açtığında klinik belirtiler ortaya çıkar. Koroner arterlerin ateromatöz tutulumu miyokard infarktüsü ve ani ölüme sonuçlanan KKH'na yol açar.(2,20,26,32)

Şekil 13. Ateromatöz plağın gelişimi. (20)



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3.0.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. GEREÇLER

3.1.1. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

Cihaz	Marka
Spektrofotometre	Jasco V-550 UV/VIS
Spektrofotometre	Shimadzu CL 750
Otoanalizör	Dacos
Otoanalizör	Beckman Array Protein System
Santrifüj soğutmalı	Centricon T324
Santrifüj	Hermle Z38
Distile su cihazı	Electromantle
Derin dondurucu	Heraeus sepatech
Hassas terazi	Shimadzu Libror AEG-220
pH metre	Orion 710 A
Karıştırıcı	Thermolyne
Otomatik pipet 50-200 µl	Biohit-proline
Otomatik pipet 200-1000 µl	Biohit-proline

3.1.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Kimyasal maddeler	Marka
PEG (Polietilen glikol)	Merck
Na ₂ HPO ₄ (Di sodyum hidrojen fosfat)	Merck
NaH ₂ PO ₄ (Sodyum dihidrojen fosfat)	Merck
MgCl ₂ .6H ₂ O (Magnezyum klorür)	Merck

3.2. OLGULARIN SEÇİMİ, KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE SAKLANMASI

Bu çalışmada olgu gurubu, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği ile yapılan ortak çalışma ile oluşturuldu. Olguların seçiminde, Kardiyoloji Kliniğince kabul edilen kriterlere göre anjiyografi sonucunda koroner arterlerinde %50 ve daha fazla daralma olanlar ve anjioplasti uygulanan kişiler KKH olarak kabul edildi. Anjiyografi sonucunda koroner arterlerinde hiç daralma olmayan, anamnezinde diabet, hormon bozukluğu, malignite bulunmayan kişiler kontrol gurubu olarak seçildi. Anjiyografik olarak KKH tanısı konan 36-80 yaşları arasında (59.9 ± 10.3) 43 erkek ve 50-71 yaşları arasında (60.6 ± 8.4) 10 kadın hasta grubunu oluştururken, 42-75 yaşları arasında (57.5 ± 12.8) 9 erkek ve 34-77 yaşları arasında (56.1 ± 11.5) 11 kadın kontrol grubunu oluşturdu.

Alınan kan örneklerinde, açlık serum trigliserid, total kolesterol, HDL, HDL₂, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, apoprotein AI, apoprotein B analizleri yapıldı. Kan örnekleri 12-14 saat açlığı izleyen dönemde alındı ve örnekler alınırken, çeşitli değişiklikleri önlemek için, kişiler yatar pozisyon verilerek, turnike uygulama sürelerinin 30-40 saniyeyi geçmemesine dikkat edildi.

Alınan kan örnekleri, bir saat içerisinde santrifüj edilip, serumları ayırdı. Serumlar yaklaşık 500µl'lik porsiyonlara ayrılarak ependorf tüplerine konuldu ve analizlerin yapılacağı güne kadar -72 °C de saklandı. Tüm örneklerin toplanması 2 ay içerisinde tamamlandı, bu süre sonunda tüm analizler üç gün içerisinde yapıldı.

Bu analizler Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı.

3.3. SOLUSYONLARIN HAZIRLANMASI

1) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ Ma=358.14g

0.1M 250 ml tampon hazırlamak için;

8.9535g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartılarak, 250 ml ye distile su ile tamamlanır.

2) $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Ma=156.01g

0.1M 250 ml tampon hazırlamak için;

3.9002g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak, 250 ml ye distile su ile tamamlanır.

Bu iki tampon kullanılarak pH=6.5 ve pH=7.5 olan ayrı iki tampon hazırlanır.

Solusyon A'nın hazırlanması:

4.75g Polietilenglikol 0.1M, pH=6.5 olan sodyum fosfat tamponu ile 50ml ye tamamlanarak solusyon A hazırlanır.

- %9.5 (w/v) Polietilenglikol 20000, pH=6.5 sodyum fosfat tamponu içinde

Solusyon B'nin hazırlanması:

7.5g polietilenglikol 0.1M, pH=7.5 olan sodyum fosfat tamponu ile 50ml ye tamamlanarak solusyon B hazırlanır.

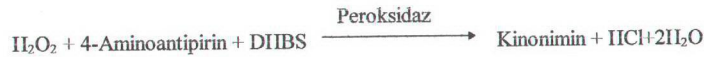
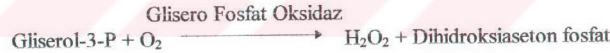
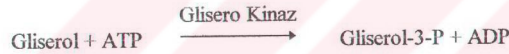
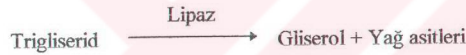
- %15 (w/v) Polietilenglikol 20000, pH=7.5 sodyum fosfat tamponu içinde

3.4.YÖNTEMLER

3.4.1.TRİGLİSERİD ANALİZ YÖNTEMİ

Enzimatik ilkelere dayalı "Coulter Triglicerides-GPO" kiti kullanılarak, "Dacos" otoanalizöründe serum trigliserid tayini yapıldı.

Prensip:



Serum Trigliseridleri, lipaz ile gliserol ve yağ asitlerine ayrılır. Gliserol, ATP varlığında gliserolkinaz (GK) enzimi ile Gliserol-3-P'ye çevrilir. Bu ürün, Gliserolfosfat-oksidad (GPO) enzimi aracılığı ile Hidrojenperoksit (H_2O_2) ve Dihidroksiaseton fosfat'a okside olur.Hidrojen peroksit ise peroksidaz enzimi ile kırmızı renkli bir bileşik olan kinonimine katalize olur. Oluşan kinonimin, trigliserid konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.(25)

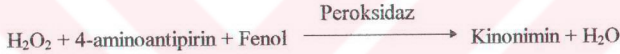
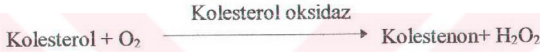
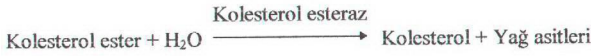
Ayıracılar:

ATP 2.0 mmol/L, Magnezyum 18 mmol/L, 4-aminoantiprin 2.2 mmol/L, DHBS (Diklorohidroksibenzen sülfonik asit) 1.5 mmol/L, Peroksidaz 360 U/L, Gliserofosfat oksidaz 7560 U/L, Gliserokinaz 2160 U/L, Lipoprotein lipaz 2160 U/L, Tris buffer 96 mmol/L

3.4.2. KOLESTEROL ANALİZ YÖNTEMİ

Enzimatik ilkelere dayalı “Coulter Kolesterol” kiti kullanılarak, “Dacos” otoanalizöründe, serum kolesterol tayini yapıldı.

Prensip:



Kolesterol esterler, kolesterol esteraz enzimi ile kolesterol ve yağ asitlerine hidrolize olurlar. Oluşan serbest kolesterol, kolesterol oksidaz enzimi aracılığı ile kolestenon'a okside olurken, hidrojen peroksit meydana gelir. Hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi ile fenol ve 4-aminoantiprin ile birleşerek kırmızı renkli bir madde olan kinonimini oluşturur. Oluşan kinonimin, kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.(25)

Ayıracılar:

4-aminoantiprin 0.4 mmol/L, sodyum fenolat 24 mmol/L, sodyum kolat 2.6 mmol/L, kolesterol esteraz 460 U/L, kolesterol oksidaz 170 mmol/L, peroksidaz 370 U/L, tamponlar 226 mmol/L

3.4.3.HDL KOLESTEROL ANALİZ YÖNTEMİ

Bu yöntem diferansiyel presipitasyon esasına dayanmaktadır. Serumda HDL dışındaki diğer lipoproteinlerin çöktürülmesinden sonra, enzimatik ilkelere dayalı kolesterol ölçümü yapıldı.

Prensip:

Serumdaki şilomikronlar, VLDL, LDL, polietilenglikol ile çöktürülüp, santrifuj edildikten sonra, süpernatanda bulunan HDL kolesterol, CHOD-PAP yöntemine dayalı enzimatik “Biocon Kolesterol” kiti kullanılarak manuel olarak tayin edildi.(25,33)

Teknik:

100 µl serum üzerine 200 µl solüsyon A ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra, 15°C-25°C 'de 10 dakika bekletildi. Daha sonra, 5 dakika 5000g'de santrifüj edildi. Süpernatandaki HDL kolesterol, enzimatik olarak 30 dakika içerisinde tayin edildi.

Analiz uygulama çizelgesi:

	Kör	Standart	Örnek
Örnek	-	-	100 µl
Standart	-	100 µl	-
Kolesterol enzimatik çalışma solüsyonu	1000 µl	1000 µl	1000µl

karıştırıldıktan sonra, 5 dakika 37°C'de inkübe edildi. Daha sonra, 546nm'de kör'e karşı standart ve örneklerin absorbansı okunarak değerlendirildi.

$$\frac{\text{Optik dansite (örnek)}}{\text{Optik dansite (standart)}} \times \text{Standart konsantrasyon}$$

Formülü ile HDL kolesterol tayini yapıldı.

3.4.4.HDL₃ KOLESTEROL ANALİZ YÖNTEMİ

Serumdaki HDL₃ dışındaki diğer lipoproteinler çöktürüldükten sonra, enzimatik ilkelere dayalı kolesterol ölçümü yapıldı.

Prensip:

Serumdaki şilomikronlar, VLDL, LDL ve HDL₂ lipoproteinleri polietilenglikol ile çöktürülüp, santrifüj edildikten sonra, süpernatanda bulunan HDL₃ kolesterol, CHOD-PAP yöntemine dayalı enzimatik "Biocon Cholesterol" kiti kullanarak, manuel olarak tayin edildi.(25,33)

Teknik:

100 µl serum üzerine 200 µl solüsyon B ilave edildi.Karıştırıldıktan sonra 15°C-25°C 'de 10 dakika bekletildi. Daha sonra, 5 dakika 5000g'de santrifüj edildi. Süpernatandaki HDL₃ kolesterol, enzimatik olarak 30 dakika içerisinde tayin edildi.

Analiz uygulama çizelgesi:

	Kör	Standart	Örnek
Örnek	-	-	100 µl
Standart	-	100 µl	-
Kolesterol enzimatik çalışma solüsyonu	1000 µl	1000 µl	1000µl

karıştırıldıktan sonra, 5 dakika 37°C'de inkübe edildi. Daha sonra, 546nm'de kör'e karşı standart ve örneklerin absorbanansı okundu.

$$\frac{\text{Optik dansite (örnek)}}{\text{Optik dansite (standart)}} \times \text{Standart konsantrasyon}$$

Formülü ile HDL kolesterol tayini yapıldı.

3.4.5.HDL₂ KOLESTEROL TAYİNİ

HDL₂ kolesterol, total HDL kolesterolden, HDL₃ kolesterolün çıkartılması ile elde edildi.(4,13,33)

$$\text{Total HDL} - \text{HDL}_3 = \text{HDL}_2$$

3.4.6.LDL KOLESTEROL TAYİNİ

Serum LDL kolesterolü Friedewald formülüne göre hesap edildi.(25,34)

$$\text{LDL kolesterol} = \text{Total Kolesterol} - \left(\text{HDL kolesterol} + \frac{\text{Trigliserid}}{5} \right)$$

3.4.7.AOPROTEİN AI VE AOPROTEİN B ANALİZ YÖNTEMİ

“ Beckman Array Protein System ” analizöründe, “ Beckman ” apoprotein AI ve B kitleri kullanılarak serum apoprotein AI ve B analizi yapıldı.

Bu yöntem serum apoprotein A₁ ve B'nin immünonefelometrik esaslara dayalı ölçüm yöntemidir.

Yöntemin ilkesi: apoprotein AI ve B reaktiflerinde, serumda bulunan apoprotein AI ve B proteinlerine karşı geliştirilmiş spesifik antikorlar bulunur. Analizöre apoprotein AI ve B içeren reaktifler, örnek kabına ise serumlar (en az 150 µl) yerleştirilir. Analizör serumları apoprotein dilüenti ile 1:36 oranında dilüe eder ve

çalışır. Reaksiyon kvetlerinde apoprotein AI veya B antikorları ile serum apoprotein AI ve B apoproteinler ile karşılaştığında immünopresipitasyon reaksiyonu sonucu antijen-antikor kompleksi oluşur. Bu partiküller üzerinden geçen işığı saçarlar, analizör ise bu işık saılımındaki artışın Őiddetini kinetik olarak ler.(34)

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS istatistik programı kullanıldı.

Bu programla deney gruplarının herbiri için ortalama değer, standart sapma, standart hata, varyans, maksimum ve minimum değerleri hesaplandı. Deney grupları arasındaki farkın anlamlılık değerlerini (p değeri) bulmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Yanılma olasılığı olarak $\alpha=0.05$ seçilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.0.BULGULAR

Yaklaşık dokuz ay süren bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği tarafından anjiyografik olarak KKH tanısı konmuş 43 erkek ve 10 kadın 53 hasta ile anjiyografik olarak sağlıklı tanısı konmuş 9 erkek ve 11 kadın 20 sağlıklı birey üzerinde toplam 73 birey üzerinde gerçekleştirildi. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerde; açlık serum trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apoprotein AI, Apoprotein B düzeyleri ve Total kolesterol/HDL oranı, HDL₂/HDL₃ oranı, Apo AI/Apo B oranı, Apo B/Apo AI oranı saptandı. Elde edilen değerler ve istatistiksel bulgular tablolarda gösterilmektedir.

Tablo 4: KKH grubunda erkek olguların sırasıyla; Yaş, serum trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, Apo AI, Apo B düzeyleri ve TK/HDL, HDL₂/HDL₃, Apo AI/B, Apo B/AI oranları.

n=3	Yaş	TG.	T. Kol.	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
1.	71	162	231	34	17	17	165	108	152	6.8	1.0	0.71	1.41
2.	52	247	280	45	26	19	186	122	134	6.2	1.36	0.91	1.10
3.	56	107	229	30	14	16	177	68.30	103	7.6	0.87	0.66	1.51
4.	67	293	216	16	4	12	145	83.90	115	13.5	0.33	0.73	1.37
5.	60	103	230	38	14	24	171	122	138	9.4	0.58	0.88	1.13
6.	42	81	193	26	7	19	151	112	111	7.4	0.36	1.01	0.99
7.	57	227	241	25	8	17	171	94.20	132	9.6	0.47	0.71	1.40
8.	63	134	207	30	4	26	150	104	128	6.9	0.15	0.81	1.23
9.	69	200	188	18	4	14	130	88.40	117	10.4	0.28	0.76	1.32
10.	70	158	213	29	6	23	152	75.60	99.10	7.3	0.26	0.76	1.31
11.	65	146	266	37	19	18	200	102	146	7.2	1.05	0.70	1.43
12.	52	173	275	32	9	23	208	111	164	8.6	0.39	0.68	1.48
13.	67	218	246	30	11	19	172	94.50	122	8.2	0.57	0.77	1.29
14.	75	115	186	33	16	17	130	102	102	5.6	0.94	1.0	1.0
15.	61	245	541	32	5	27	460	155	216	16.9	0.18	0.72	1.39
16.	74	105	405	46	14	32	338	124	133	8.8	0.43	0.93	1.07
17.	54	119	346	47	21	26	278	120	114	7.4	0.80	1.05	0.95
18.	76	152	216	28	9	19	158	94	133	7.7	0.47	0.71	1.41
19.	63	105	186	44	15	29	121	112	102	4.2	0.51	1.10	0.91
20.	41	148	165	24	4	20	111	97	105	6.9	0.20	0.92	1.08
21.	51	170	264	41	15	26	189	109	144	6.4	0.57	0.76	1.32

22.	47	129	202	55	16	39	121	115	106	3.7	0.41	1.08	0.92
23.	80	95	161	43	21	22	99	115	97.60	3.7	0.95	1.18	0.85
24.	56	99	203	42	14	28	141	102	120	4.8	0.50	0.85	1.18
25.	74	120	168	40	17	23	104	124	99.60	4.2	0.73	1.24	0.80
26.	59	106	172	25	7	18	126	105	92.40	6.9	0.38	1.14	0.88
27.	43	275	298	24	7	17	219	102	215	12.4	0.41	0.47	2.11
28.	62	123	177	40	15	25	112	115	91.90	4.4	0.60	1.25	0.80
29.	36	135	180	29	9	20	124	97.70	129	6.2	0.45	0.75	1.32
30.	54	228	177	28	11	17	103	93.70	111	6.3	0.64	0.84	1.18
31.	67	133	291	42	21	21	222	100	168	6.9	1.0	0.59	1.68
32.	47	163	174	25	10	15	116	81.10	97	7.0	0.66	0.84	1.20
33.	67	119	271	35	22	13	212	108	158	7.7	1.69	0.68	1.46
34.	67	149	173	33	21	12	110	98.80	118	5.2	1.75	0.84	1.19
35.	52	238	251	35	22	13	168	91.60	176	7.2	1.69	0.52	1.92
36.	70	165	275	41	17	24	201	121	105	6.7	0.70	1.15	0.87
37.	58	504	234	31	10	21	167	114	165	7.5	0.47	0.69	1.45
38.	56	135	245	36	16	20	182	105	145	6.8	0.80	0.72	1.38
39.	54	264	238	44	9	35	141	136	139	5.4	0.25	0.98	1.02
40.	66	124	232	38	16	22	169	94.20	125	6.1	0.72	0.75	1.33
41.	53	75	192	43	5	38	134	79.20	117	4.5	0.13	0.68	1.48
42.	53	290	375	32	9	23	285	103	136	11.7	0.39	0.76	1.32
43.	70	189	205	28	5	23	139	87.30	103	7.3	0.21	0.85	1.18

• Tablo 4'ün devamı.

Tablo 5: KKH grubunda kadın olguların sırasıyla; Yaş, serum trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apo AI, Apo B düzeyleri ve TK/HDL, HDL₂/HDL₃, Apo AI/B, Apo B/AI oranları.

n=10	Yaş	TG,	T. KoL.	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
1.	50	97	274	29	9	20	226	88.30	104	6.0	0.45	0.84	1.17
2.	60	157	298	40	11	29	227	117	141	6.8	0.90	0.82	1.20
3.	60	109	267	32	8	24	213	140	98.60	8.3	0.33	1.41	0.70
4.	71	144	198	26	6	20	143	104	107	7.6	0.30	0.97	1.01
5.	50	145	252	23	8	15	200	82.30	137	11.0	0.53	0.60	1.66
6.	66	163	246	33	16	17	180	110	119	7.5	0.94	0.92	1.08
7.	71	130	272	42	19	23	204	103	99	6.5	0.82	1.04	0.96
8.	68	191	291	23	14	9	230	106	167	12.6	1.55	0.63	1.58
9.	50	219	267	28	12	16	195	90.40	183	9.5	0.75	0.49	2.02
10.	60	136	241	34	10	24	180	126	136	7.0	0.41	0.93	1.08

Tablo 6: Kontrol grubunda erkek olguların sırasıyla; Yaş, serum trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apo AI, Apo B düzeyleri ve TK/HDL, HDL₂/HDL₃, Apo AI/B, Apo B/AI oranları.

n ^o	Yaş	TG.	T. K.öl.	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
1.	75	60	208	72	43	29	124	105	99.60	2.9	1.48	1.05	0.95
2.	67	83	233	55	31	24	161	125	98.40	4.2	1.29	1.27	0.79
3.	46	257	250	30	7	23	169	113	153	8.3	0.30	0.74	1.35
4.	42	100	192	36	12	24	136	118	85.80	5.3	0.50	1.08	0.73
5.	56	123	168	32	15	17	111	86.20	88.90	5.3	0.88	0.97	1.03
6.	69	89	160	73	26	47	69	170	40.20	2.2	0.55	4.23	0.24
7.	43	232	184	45	30	15	93	101	143	4.1	2.0	0.71	1.42
8.	50	107	204	33	21	12	150	91.40	92.70	6.2	1.75	0.99	1.01
9.	70	68	172	43	11	32	115	113	90.30	4.0	0.34	1.25	0.80

Tablo 7: Kontrol grubunda kadın olguların sırasıyla; Yaş, serum trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, LDL kolesterol, Apo AI, Apo B düzeyleri ve TK/HDL, HDL₂/HDL₃, Apo AI/B, Apo AI/B, Apo B/AI oranları.

n=11	Yaş	TG.	T. Kol.	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
1.	51	192	172	22	8	14	112	85.60	94.90	7.8	0.57	0.90	1.11
2.	77	194	252	35	15	20	178	140	147	7.2	0.75	0.95	1.05
3.	47	199	233	28	9	19	165	108	146	7.5	0.37	0.74	1.35
4.	63	134	177	33	9	24	117	124	119	5.4	0.37	1.04	0.96
5.	58	154	242	49	15	34	162	107	117	4.9	0.44	0.91	1.09
6.	65	165	272	34	12	22	205	114	189	8.0	0.54	0.60	1.65
7.	54	84	186	36	21	15	133	59.70	93.80	5.2	1.40	0.63	1.57
8.	67	148	211	42	29	13	139	107	106	5.0	2.23	1.0	0.99
9.	34	116	205	54	38	16	128	128	73.30	3.8	2.37	1.74	0.57
10.	51	146	161	32	10	22	100	126	102	5.0	0.45	1.23	0.80
11.	51	134	300	42	10	32	231	121	123	7.1	0.31	0.98	1.01

Tablo 8: KKH grubunda erkek olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.

n=43	Yaş	TG.	T. Kol.	HDL	HDL ₂	HDLC ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
Ortalama	59.93	168.977	237.628	34.28	12.605	21.674	171.11	104.360	128.48	7.349	0.635	0.840	1.247
Standart sapma	10.38	78.655	72.699	8.302	6.016	6.376	67.838	16.366	29.375	2.612	0.405	0.188	0.280
Standart hata	1.58	11.995	11.086	1.266	0.917	0.972	10.345	2.496	4.480	0.398	0.062	0.029	0.043
Varyans	107.9	6186.595	5285.144	68.92	36.197	40.653	4601.9	267.835	862.88	6.822	0.164	0.035	0.078
Maksimum	80	504	541	55	26	39	460	155	216	16.90	1.750	1.250	2.110
Minimum	36	75	161	16	4	12	99	68.300	91.90	3.67	0.130	0.470	0.800

Tablo 9: KKH grubunda kadın olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.

n=10	Yaş	TG.	T. Kol.	HDL	HDL ₂	HDLC ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
Ortalama	60.60	149.100	260.600	31	11.300	19.700	199.80	106.700	129.16	8.270	0.698	0.865	1.246
Standart sapma	8.422	36.208	28.489	6.515	4.029	5.697	27.005	17.699	29.155	2.133	0.381	0.261	0.392
Standart hata	2.663	11.450	9.009	2.060	1.274	1.802	8.540	5.597	9.219	0.675	0.121	0.083	0.124
Varyans	70.93	1310.989	811.600	42.44	16.233	32.456	729.29	313.271	849.99	4.550	0.145	0.068	0.153
Maksimum	71	219	298	42	19	29	230	140	183	12.600	1.550	1.410	2.020
Minimum	50	97	198	23	6	9	143	82.300	98.60	6	0.300	0.490	0.700

Tablo 10: Kontrol grubunda erkek olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.

n=9	Yaş	TG.	T. Kol.	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
Ortalama	57.55	124.333	196.778	46.55	21.778	24.778	125.33	113.622	99.100	4.719	1.010	1.366	0.924
Standart sapma	12.87	71.025	30.215	16.63	11.713	10.533	32.469	24.514	32.980	1.829	0.639	1.091	0.351
Standart hata	4.292	23.675	10.072	5.546	3.904	3.511	10.823	8.171	10.993	0.610	0.213	0.364	0.117
Varyans	165.7	5044.500	912.944	276.7	137.19	110.94	1054.2	600.914	1087.7	3.346	0.409	1.191	0.123
Maksimum	75	257	250	73	43	47	169	170	153	8.330	2.0	4.230	1.420
Minimum	42	60	160	30	7	12	69	86	40	2.190	0.3	0.710	0.240

Tablo 11: Kontrol grubunda kadın olgularda parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hataları, varyansları, maksimum ve minimum değerleri.

n=11	Yaş	TG.	T. Kol.	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL	Apo AI	Apo B	TC/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/B	Apo B/AI
Ortalama	56.18	151.455	219.182	37.00	16.0	21.0	151.81	110.936	119.18	6.081	0.891	0.975	1.105
Standart sapma	11.57	35.161	44.575	9.187	9.644	6.928	40.779	22.250	31.930	1.452	0.759	0.313	0.316
Standart hata	3.490	10.601	13.440	2.770	2.908	2.089	12.295	6.709	9.627	0.438	0.229	0.094	0.095
Varyans	133.9	1236.273	1986.964	84.40	93.0	48.0	1662.9	495.081	1019.5	2.109	0.576	0.098	0.100
Maksimum	77	199	300	54	38	34	231	140	189	8.0	2.370	1.740	1.650
Minimum	34	84	161	22	8	13	100	59.7	73.3	3.790	0.310	0.600	0.570

Tablo 12: Erkek olgularda KKH ve kontrol gruplarında parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları ve gruplar arası farklılıkların anlamlılık değerleri.

	Yaş	Trigliserid	Total kolesterol	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL
KKH n=43	59.9±10.3	168.9±78.6	237.6±72.6	34.3±8.3	12.6±6.0	21.6±6.3	171.1±67.8
Kontrol n=9	57.5±12.8	124.3±71.0	196.7±30.2	46.5±16.6	21.7±11.7	24.7±10.5	125.3±32.4
P değeri		0.0277	0.0418	0.0277	0.0226	0.0431	0.0226

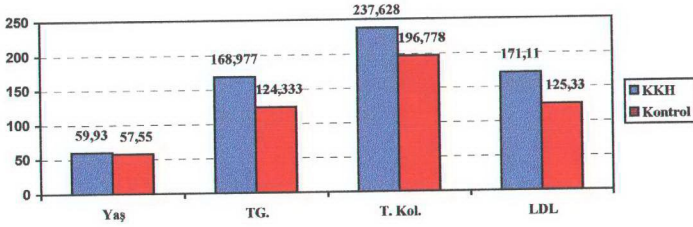
	Apo AI	Apo B	T K/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/Apo B	Apo B/Apo AI
KKH n=43	104.3±16.3	120.4±29.3	7.3±2.6	0.635±0.405	0.840±0.188	1.247±0.280
Kontrol n=9	113.6±24.5	99.1±32.9	4.7±1.8	1.01±0.639	1.366±1.091	0.924±0.351
P değeri	0.0339	0.0044	0.0021	0.0421	0.0171	0.0118

Tablo 13: Kadın olgularda KKH ve kontrol gruplarında parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları ve gruplar arası farklılıkların anlamlılık değerleri.

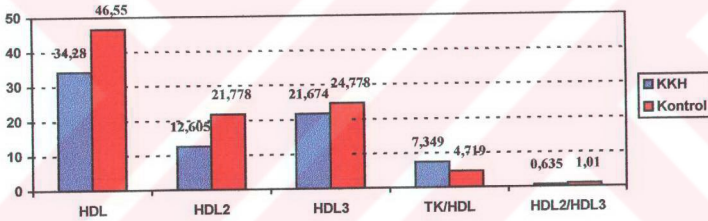
	Yaş	Trigliserid	Total Kolesterol	HDL	HDL ₂	HDL ₃	LDL
KKH n=10	60.6±8.4	149.1±36.2	260.6±28.4	31.0±6.5	11.3±4.0	19.7±5.6	199.8±27.0
Kontrol n=11	56.1±11.5	151.4±35.1	219.1±44.5	37.0±9.1	16.0±9.6	21.0±6.9	151.8±40.7
P değeri		0.7045	0.0357	0.0410	0.0340	1.000	0.0101

	Apo AI	Apo B	T K/HDL	HDL ₂ /HDL ₃	Apo AI/Apo B	Apo B/Apo AI
KKH n=10	106.7±17.6	129.1±29.1	8.2±2.1	0.698±0.381	0.865±0.261	1.246±0.392
Kontrol n=11	110.9±22.2	119.1±31.9	6.0±1.4	0.891±0.759	0.975±0.313	1.105±0.316
P değeri	0.0349	0.0467	0.0295	0.9725	0.0386	0.0387

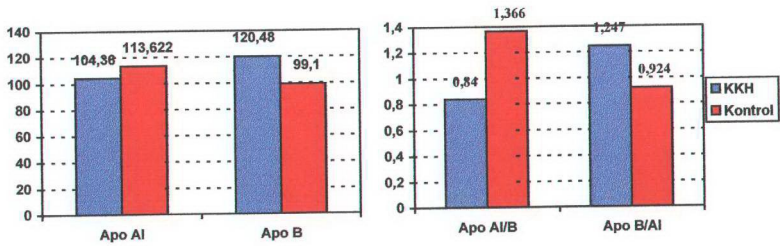
Grafik 1: KKH ve kontrol gruplarında erkek olgularda Yaş, Trigliserid, Total kolesterol ve LDL kolesterol değerlerinin ortalamaları.



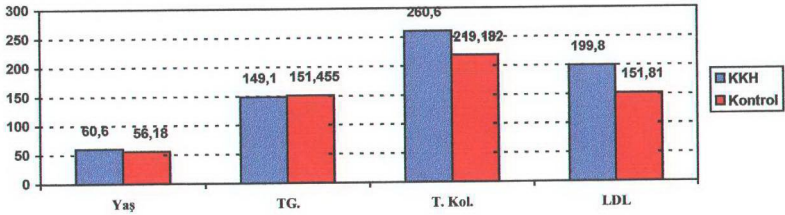
Grafik 2: KKH ve kontrol gruplarında erkek olgularda HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, HDL₂/HDL₃, Total kolesterol/HDL değerlerinin ortalamaları.



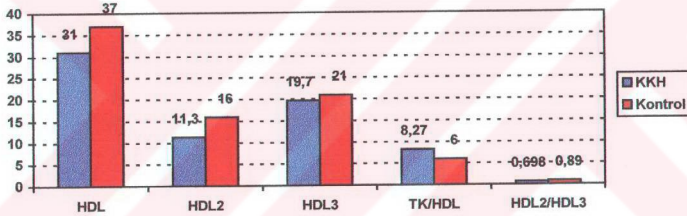
Grafik 3: KKH ve kontrol gruplarında erkek olguların Apo AI, Apo B, Apo AI/Apo B, Apo B/Apo AI değerlerinin ortalamaları.



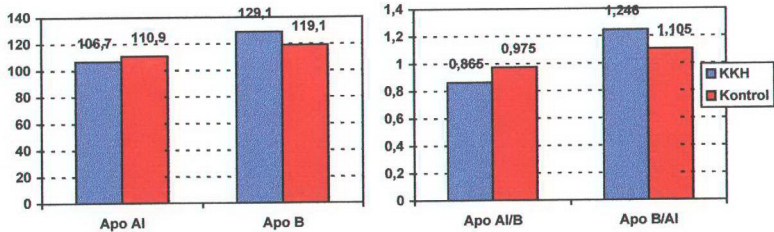
Grafik 4: KKH ve kontrol gruplarında kadın olgularda Yaş, Trigliserid, Total kolesterol ve LDL kolesterol Değerlerinin ortalamaları.



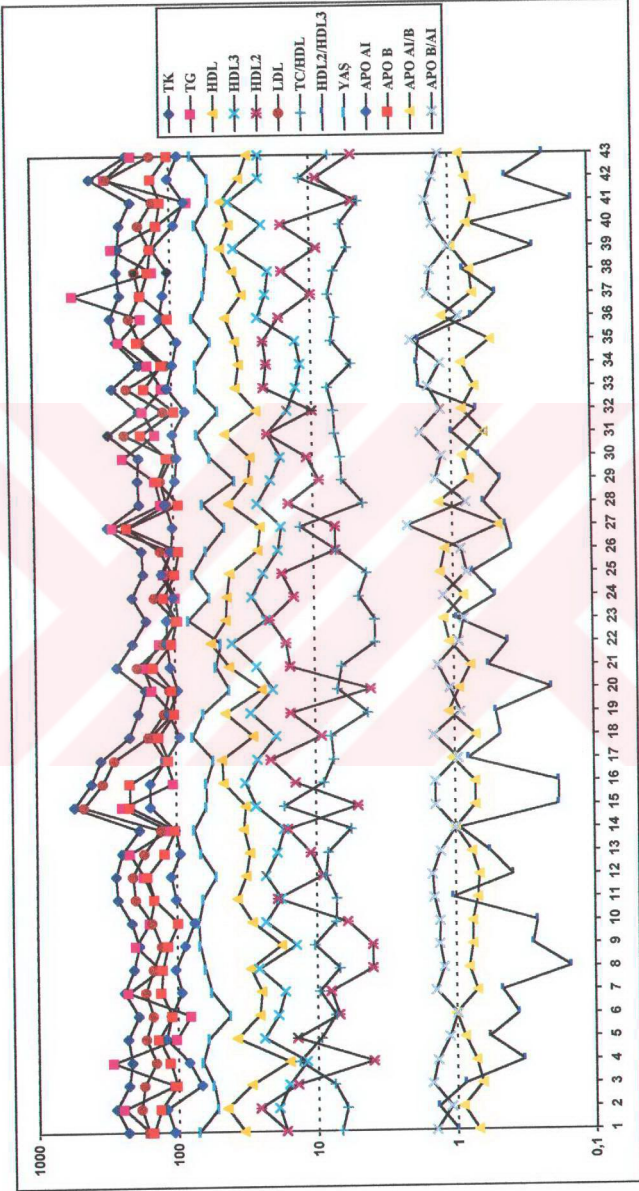
Grafik 5: KKH ve kontrol gruplarında kadın olgularda HDL kolesterol, HDL₂ kolesterol, HDL₃ kolesterol, HDL₂/HDL₃, Total kolesterol/HDL değerlerinin ortalamaları.



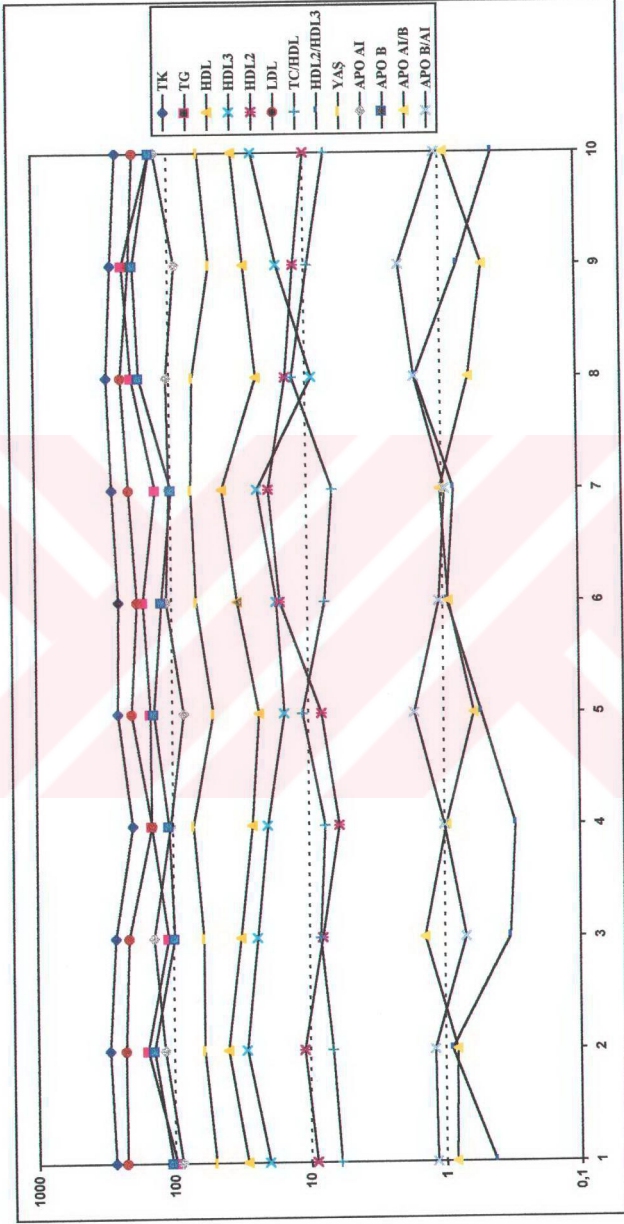
Grafik 6: KKH ve kontrol gruplarında kadın olgularda Apo AI, Apo B, Apo AI/Apo B, Apo B/Apo AI değerlerinin ortalamaları.



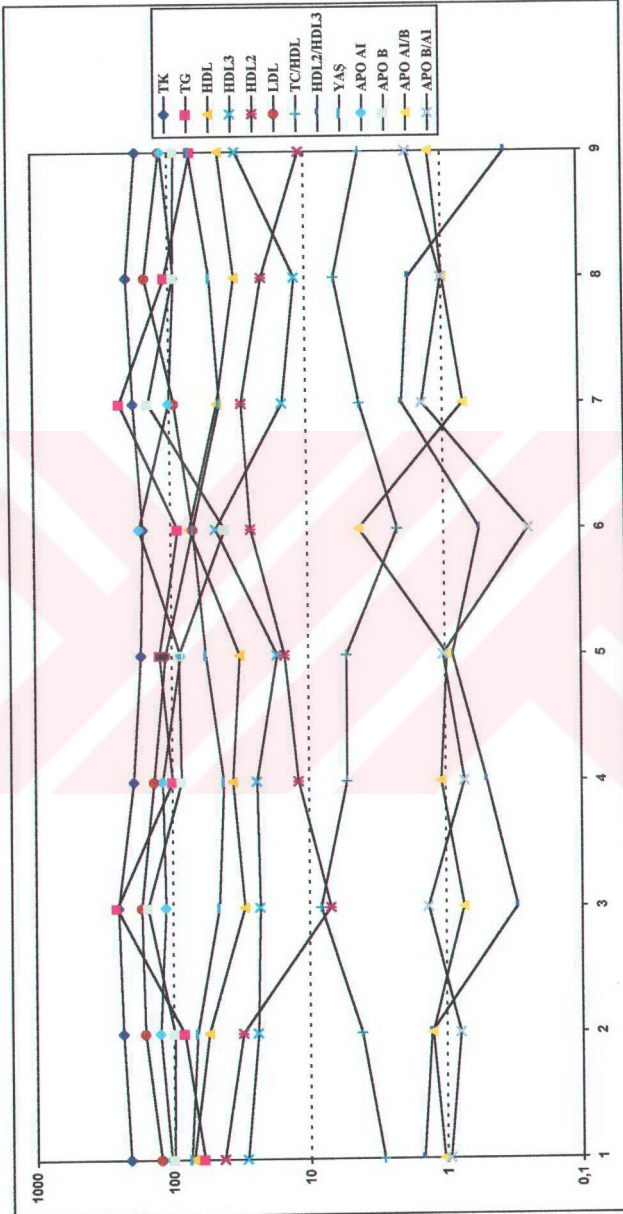
Grifik 7: KKH grubunda erkek olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkileri.



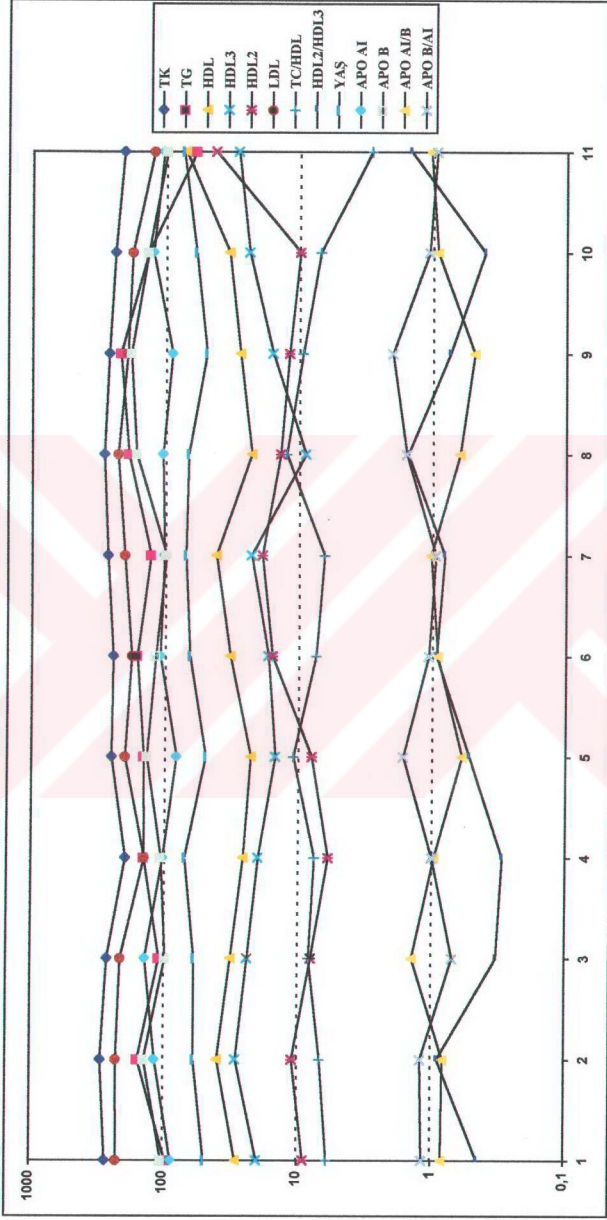
Grafik 8: KKH grubunda kadın olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkileri.



Grafik 9: Kontrol grubunda erkek olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkileri.



Grafik 10: Kontrol grubunda kadın olgularda parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisi.



Tablo.14 KHK grubunda erkek oğularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r=korelasyon katsayıları, p=ilişkinin anlamlılık değeri)

n=43	Apo A1	ApoA1/B	Apo B	ApoB/A1	HDL	HDL ₂	HDL ₂ /HDL ₃	HDL ₃	LDL	TK	TK/HDL	TG
ApoA1/B	r= 0.486 p= 0.001											
ApoB	r= 0.176 p= 0.257	-0.698 0.000										
ApoB/A1	r= -0.483 p= 0.001	-0.998 0.000	0.700 0.000									
HDL	r= 0.593 p= 0.000	0.307 0.045	0.083 0.597	-0.300 0.050								
HDL ₂	r= -0.343 p= 0.024	0.103 0.510	0.115 0.462	-0.111 0.477	0.666 0.000							
HDL ₂ /HDL ₃	r= 0.091 p= 0.561	-0.060 0.701	0.098 0.529	0.048 0.756	0.368 0.015	0.919 0.000						
HDL ₃	r= 0.522 p= 0.000	0.392 0.009	-0.049 0.751	-0.378 0.012	0.628 0.000	-0.081 0.605	-0.408 0.007					
LDL	r= 0.215 p= 0.165	-0.483 0.001	0.682 0.000	0.490 0.001	0.160 0.305	0.137 0.381	0.093 0.552	0.882 0.574				
TK	r= 0.266 p= 0.084	-0.457 0.002	0.735 0.000	0.464 0.002	0.246 0.112	0.182 0.243	0.958 0.541	0.137 0.381	0.963 0.000			
TK/HDL	r= -0.172 p= 0.269	-0.302 0.001	0.434 0.004	0.506 0.001	-0.537 0.000	-0.417 0.005	-0.265 0.085	-0.312 0.042	0.629 0.000	0.558 0.000		
TG	r= -0.139 p= 0.374	-0.363 0.017	0.422 0.005	0.365 0.016	-0.385 0.011	-0.230 0.138	-0.150 0.337	-0.284 0.065	0.232 0.134	0.377 0.012	0.417 0.005	
YAŞ	r= 0.021 p= 0.891	0.141 0.366	-0.184 0.235	-0.142 0.361	0.084 0.590	0.184 0.237	0.215 0.165	-0.068 0.662	-0.043 0.780	-0.066 0.672	0.008 0.996	-0.159 0.308

Tablo :15 Kontrol grubunda erkek olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r=korelasyon katsayıları, p=ilişkinin anlamlılık değeri)

n=9	Apo AI	Apo AI/B	Apo B	ApoB/AI	HDL	HDL ₂	HDL ₂ /HDL ₃	HDL ₃	LDL	TK	TK/HDL	TG
ApoAI/B	r = 0.761 p = 0.017											
ApoB	r = -0.292 p = 0.444	-0.633 0.067										
ApoB/AI	r = -0.769 p = 0.015	-0.950 0.001	0.733 0.025									
HDL	r = 0.518 p = 0.152	0.616 0.077	-0.200 0.606	-0.550 0.125								
HDL ₂	r = 0.025 p = 0.949	0.183 0.637	0.133 0.732	-0.116 0.765	0.750 0.020							
HDL ₂ /HDL ₃	r = -0.460 p = 0.213	-0.266 0.488	0.233 0.546	0.300 0.433	0.333 0.381	0.783 0.013						
HDL ₃	r = 0.731 p = 0.025	0.786 0.012	-0.418 0.262	-0.744 0.021	0.627 0.070	0.058 0.881	-0.493 0.177					
LDL	r = 0.075 p = 0.847	-0.100 0.798	0.466 0.205	0.100 0.798	-0.466 0.205	-0.233 0.546	-0.233 0.546	-0.267 0.486				
TK	r = 0.050 p = 0.898	-0.233 0.546	0.733 0.025	0.250 0.516	-0.233 0.546	0.066 0.865	0.000 1.000	-0.259 0.500	0.900 0.001			
TK/HDL	r = -0.318 p = 0.404	-0.516 0.154	0.283 0.460	0.416 0.265	-0.883 0.002	-0.550 0.125	-0.183 0.637	-0.702 0.035	0.716 0.030	0.516 0.154		
TG	r = -0.376 p = 0.318	-0.750 0.020	0.300 0.433	0.666 0.050	-0.683 0.042	-0.433 0.244	-0.016 0.966	-0.719 0.029	0.100 0.798	0.066 0.865	0.666 0.050	
YAŞ	r = 0.142 p = 0.715	0.533 0.139	-0.116 0.765	-0.333 0.381	0.550 0.125	0.366 0.332	-0.016 0.966	0.644 0.061	-0.216 0.576	-0.150 0.700	-0.700 0.036	-0.783 0.013

Tablo :16 KKH grubunda kadim olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r=korelasyon katsayıları, p=ilişkinin anlamlılık değeri)

n=10	Apo AI	ApoA/B	Apo B	ApoB/AI	HDL	HDL ₂	HDL ₂ /HDL ₃	HDL ₃	LDL	TK	TK/HDL	TG
ApoA/B	r= 0.527 p= 0.117											
ApoB	r= -0.175 p= 0.627	-0.878 0.001										
ApoB/AI	r= -0.516 p= 0.126	-0.997 0.000	0.887 0.001									
HDL	r= 0.462 p= 0.179	0.510 0.132	-0.370 0.291	-0.506 0.136								
HDL ₂	r= 0.036 p= 0.920	-0.127 0.725	0.224 0.532	0.103 0.776	0.442 0.201							
HDL ₂ /HDL ₃	r= -0.054 p= 0.881	-0.466 0.174	0.503 0.138	0.431 0.213	0.097 0.789	0.826 0.003						
HDL ₃	r= 0.615 p= 0.058	0.615 0.058	0.457 0.184	-0.590 0.072	0.795 0.006	-0.137 0.705	-0.359 0.455					
LDL	r= 0.018 p= 0.960	-0.218 0.544	0.109 0.763	0.219 0.542	-0.006 0.987	0.213 0.554	0.455 0.185	0.021 0.953				
TK	r= -0.60 p= 0.868	-0.291 0.413	0.194 0.590	0.286 0.422	0.146 0.687	0.387 0.269	0.565 0.089	0.064 0.860	0.945 0.000			
TK/HDL	r= -0.054 p= 0.881	-0.430 0.214	0.503 0.138	0.425 0.220	-0.766 0.010	-0.164 0.650	0.115 0.751	-0.664 0.036	0.012 0.973	-0.158 0.663		
TG	r= -0.066 p= 0.855	-0.697 0.025	0.866 0.001	0.674 0.032	-0.328 0.354	0.395 0.258	0.642 0.054	-0.542 0.105	0.054 0.881	0.054 0.881	0.600 0.067	
YAŞ	r= 0.336 p= 0.342	0.537 0.083	-0.293 0.411	-0.587 0.074	0.225 0.532	0.293 0.410	0.143 0.693	0.103 0.776	-0.150 0.679	-0.137 0.705	-0.068 0.851	0.006 0.986

Tablo :17 Kontrol grubunda kadim olgularda parametrelerin birbiri ile olan ilişkileri. (r=korelasyon katsayıları, p=ilişkinin anlamlılık değeri)

n=11	Apo AI	ApoAII/B	Apo B	ApoB/AI	HDL	HDL ₂	HDL ₂ /HDL ₃	HDL ₃	LDL	TK	TK/HDL	TG
ApoAII/B	r= 0.615											
	p= 0.044											
ApoB	r= 0.268	-0.381										
	p= 0.242	0.247										
ApoB/AI	r= -0.615	-1.000	0.381									
	p= 0.044	0.000	0.247									
HDL	r= 0.111	0.305	-0.223	-0.305								
	p= 0.743	0.361	0.509	0.361								
HDL ₂	r= 0.084	0.201	-0.311	-0.201	0.832							
	p= 0.804	0.533	0.352	0.533	0.001							
HDL ₂ /HDL ₃	r= -0.050	-0.109	-0.528	-0.109	0.333	0.720						
	p= 0.883	0.749	0.095	0.749	0.316	0.012						
HDL ₃	r= 0.351	0.086	0.469	-0.086	0.150	-0.245	-0.744					
	p= 0.289	0.800	0.145	0.800	0.658	0.467	0.009					
LDL	r= 0.068	-0.445	0.736	0.445	0.314	0.151	-0.268	0.323				
	p= 0.842	0.170	0.010	0.170	0.346	0.658	0.424	0.332				
TK	r= 0.136	-0.345	0.700	0.345	0.423	0.215	-0.236	0.387	0.981			
	p= 0.689	0.298	0.016	0.298	0.194	0.525	0.483	0.239	0.000			
TK/HDL	r= -0.104	-0.654	0.628	0.654	-0.710	-0.659	-0.341	-0.022	0.345	0.245		
	p= 0.759	0.029	0.043	0.029	0.014	0.027	0.304	0.947	0.298	0.467		
TG	r= -0.009	-0.419	0.605	0.419	-0.513	-0.422	-0.194	-0.045	0.291	0.264	0.596	
	p= 0.979	0.199	0.048	0.199	0.106	0.196	0.567	0.894	0.384	0.432	0.053	
YAŞ	r= 0.004	-0.192	0.477	0.192	0.082	0.212	0.147	0.059	0.293	0.293	0.146	0.211
	p= 0.989	0.570	0.138	0.570	0.809	0.531	0.666	0.861	0.381	0.381	0.667	0.532

ANALİTİK VARYASYONLAR

Trigliserid;

Deney içi (intra assay), varyasyon katsayısı (CV) %1.63, Ortalama; 97.4

Deneyler arası (inter assay), varyasyon katsayısı (CV) %2.04, Ortalama; 98.1

Kolesterol;

Deney içi (intra assay), varyasyon katsayısı (CV) %0.85, Ortalama; 173.4

Deneyler arası (inter assay), varyasyon katsayısı (CV) %0.91, Ortalama; 172.8

HDL Kolesterol;

Deney içi (intra assay), varyasyon katsayısı (CV) %3.2, Ortalama; 35.1

Deneyler arası (inter assay), varyasyon katsayısı (CV) %3.4, Ortalama; 35.0

HDL3 Kolesterol;

Deney içi (intra assay), varyasyon katsayısı (CV) %3.0, Ortalama; 25.7

Deneyler arası (inter assay), varyasyon katsayısı (CV) %3.9, Ortalama; 25.6

BEŞİNCİ BÖLÜM

5.0. TARTIŞMA VE SONUÇ

Enfeksiyon hastalıklarının kontrol altına alınması, hijyenik ve sosyo ekonomik şartların giderek gelişmesi ve düzelmesi, anestezi ve cerrahi tekniklerinin gelişmesi ve ilerlemesi nedeniyle yüzyılımız içerisinde daha çok insan ileri olgunluk yaşına ulaşabilmektedir. Bu toplumda daha çok yaşlı insan bulunmasına ve daha çok vasküler hastalıklarla karşılaşılmasına neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 1957 yılında yaptığı bir bildiride "Kardiyovasküler hastalıklar ve tek başına ateroskleroz, kanser dahil bütün diğer hastalıkların tümünden daha fazla ölüme neden olmaktadır" denilmektedir. Yine Dünya Sağlık Örgütü'nün on yıl sonra 1967'de yaptığı diğer bildiride "Kardiyovasküler hastalıklar üniversal bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir; aktif yaşam süresini uzatabilmek için aterosklerozun, ve özellikle kalp ve beyinde yaptığı komplikasyonlarının kontrolü ve önlenmesi gerekmektedir" denilmektedir.(1) Endüstrileşmenin daha yoğun olduğu batı toplumlarında, koroner kalp hastalığı ve bunun komplikasyonlarına bağlı ölümler daha sıklıkla görülmektedir.(2)

Aterosklerotik hastalıklarda, kan lipidlerinin önemli risk faktörü olduğu bir çok çalışmalarla gösterilmiştir.(1,2,3,6,8,11,17) Bilindiği gibi genetik faktörler yanında, başta serum total kolesterolü, hipertansiyon, diyet, diabet, obezite, cinsiyet, durağan yaşam biçimi, sigara içimi gibi diğer faktörlerin ateroskleroz oluşumunda önemli rolü vardır.(2,3,4,5,13,36)

Hipertrigliserideminin, ateroskleroz gelişiminde önemli payı olduğu ileri sürülmüştür. Bir görüşe göre; hipertrigliseridemi ateroskleroz için bağımsız bir risk faktördür.(8,10) Açıkta trigliseridler VLDL'lerle sirküle edilir ve birçok çalışmada gösterilmiştir ki VLDL partikülleri ve VLDL kalıntıları aterojeniktir(44) Buna ilaveten, yüksek trigliserid düzeyleri, düşük HDL kolesterol ve yüksek LDL kolesterol düzeyleri ile pozitif korrelasyon göstermektedir. Ayrıca hipertrigliseridemi hemostatik mekanizmaları modifiye ederek koroner trombozise öncülük eder.(8) Çok sayıda araştırmacı, koroner kalp hastalığı ve aterosklerozlu olgularda serum trigliserid düzeylerini kontrollere göre yüksek bulmuşlardır. (4,8,11,13,36,38,39) Biz de çalışmamızda, KKH grubunda erkek olgularda serum trigliserid düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0277$) yüksek saptadık. Ancak KKH grubunda kadın olgularda serum trigliserid düzeyleri açısından gruplar arasında

istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.7045$) farklılık saptanamadı.Çalışmamızda hasta gruplarında trigliserid düzeyleri ile HDL kolesterol ve HDL₃ kolesterol düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı bir korrelasyon, apo B ve total kolesterol düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı bir korrelasyon saptandı.

Bilindiği gibi, serum total kolesterol düzeyi diyet, yaş, genetik ve metabolik faktörler tarafından belirlenir.(2,8,20) Yapılan bir çok çalışmada, KKH ve ateroskleroz ile serum total kolesterol düzeyleri arasında güçlü ve pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir.(1,2,3,7,8,9,11,30,40,41) Çalışmamızda KKH grubunda erkek olgularda serum total kolesterol düzeylerini, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0418$) yüksek saptadık. Yine KKH grubunda kadın olgularda serum total kolesterol düzeylerini, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0357$) yüksek saptadık.KKH ve kontrol gruplarındaki tüm olgularda total kolesterol düzeyleri ile apo B ve LDL kolesterol düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı bir korrelasyon saptandı.Yüksek serum total kolesterolü aterosklerozun gelişiminden sorumlu olan risk faktörlerinin içerisinde en önemli olanıdır.

Deneyisel modellerde, kolesterolden zengin diyetle beslenen hayvanlarda, damar duvarlarında ateroskleroz geliştiği saptanmıştır.(9,40) Hayvan deneylerinde, aterojenik diyetle beslenen hayvanlardaki ateroskleroz gelişiminin hipertansiflerde, normotansif olanlara nazaran daha fazla olduğu bildirilmiştir.(3) Diabetli olgularda, aterosklerotik plaklar, nondiabetiklere nazaran daha sıklıkla görülmektedir. Sattire yağlarla beslenen kişilerde, bu yağlar kolesterole çevrilir ve buna bağlı olarak gelişen obezite bir ateroskleroz risk faktörü olarak rol oynamaktadır.(3) Stamler ve arkadaşları'nın 350.000'den fazla erkek üzerinde yaptığı çalışmalarda yüksek total kolesterol düzeylerinin, ateroskleroz için en büyük risk olduğunu göstermiştir.(3) Yüksek serum total kolesterol düzeyi orta yaş grubundaki erkekler için predispozandır ve serum total kolesterol düzeylerinin düşürülmesi KKH riskini önemli ölçüde düşürür.

Koroner aterosklerozun genellikle adölesan dönemde başladığı bildirilmiştir.(45) Yağlı iz lezyonu aortada 3 yaşından itibaren, koroner arterlerde 10 yaşından sonra görülebileceği bildirilmiştir.(1) NCEP'in (National Cholesterol Education Program) 1988'de yayınladığı bildiriye göre 20 yaş ve üzerindeki her insanın periyodik olarak total kolesterol düzeyini ölçtürmesi gerekmektedir. Bu bildiride yapılan sınıflandırmaya göre 200mg/dl nin altındaki

kolesterol arzu edilen düzeydir, 200-239 mg/dl arası şüpheli sınırdaki kolesterol düzeyidir, 240 mg/dl ve üzeri ise yüksek kolesterol düzeyi olarak bildirilmektedir.(41)

Bilindiği gibi KKH ile HDL kolesterol düzeyleri arasında ters ilişki vardır. Bir çok çalışmada aterosklerotik ve KKH olan kişilerde düşük HDL kolesterol düzeyleri saptanmıştır.(2,3,6,7,8,10,13,18,19,27,28,38,42,43) Çalışmamızda koroner kalp hastalığı grubunda erkek olgularda HDL kolesterol düzeyini kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0277$) azalmış saptadık. Yine KKH grubunda kadın olgularda HDL kolesterol düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0410$) azalmış saptadık. KKH grubundaki erkek olgularda HDL kolesterol düzeyleri ile apo AI düzeyleri ve apoAI/B oranları arasında anlamlı ve pozitif korrelasyon saptandı.

Geniş çaplı epidemiyolojik çalışmalarda; örneğin Framingham, Massachusetts çalışmaları düşük HDL kolesterol düzeylerinin ateroskleroz için önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.(3,46)

Bir görüşe göre serum HDL kolesterol düzeyleri bağımsız bir risk faktörüdür. Çünkü; eğer LDL kolesterol düzeyleri yüksek ise düşük HDL kolesterol düzeyleri ateroskleroz için ilave bir risk faktörüdür, eğer LDL kolesterol düzeyleri düşük ise düşük HDL kolesterol düzeyleri ilave risk faktörü olmamaktadır.(3) Bir başka görüş ise normal serum total kolesterol ve trigliserid düzeylerine rağmen HDL kolesterol düzeylerinin azalmış olmasını HDL'nin bağımsız bir risk faktörü olduğu şeklinde bildirmektedir.(37) Yüksek plazma HDL kolesteol düzeylerinin KKH'na karşı koruyucu olduğu ilk kez Barr ve arkadaşları tarafından 1950 yılında bildirilmiştir.(7)

“Reverse cholesterol transport” terimi ile ifade edilen, ekstra hepatik dokulardan karaciğere kolesterol taşınımını ilk kez Glomset ve arkadaşları 1968'de tanımlamıştır.(47) Ve tersine kolesterol taşınımı HDL ile stimüle edilmektedir.(42) HDL ile KKH arasında moleküler temellere dayanan bir ilişki olduğu bildirilmiştir.(7) Tersine kolesterol taşınımı mekanizmasında HDL'nin başlıca fonksiyonu; lipolizden ve köpük hücrelerinden türeyen fosfolipid ve kolesterol için bir havuz görevi yapmaktır. Bu lipidler normalde IIDL aracılığı ile karaciğere dönerler. Bu yollardan birincisinde, kolesterol direkt olarak HDL'ye transfer olur ve karaciğere gider. İkincisinde ise kolesterol esteri HDL'den VLDL'ye transfer olur ve VLDL yolu ile karaciğere gider yada VLDL LDL'ye dönüşür ve LDL yolu ile Karaciğere gider. Bu ikinci yolun kullanılması halinde serum LDL düzeyi yükselir ve aterojenik risk ortaya çıkar.(27) Tersine

kolesterol taşınımında anahtar basamak, intrasellüler kolesteril ester depolarından serbest kolesterol salınımı için nötral kolesteril ester hidrolaz aktivitesinin artmasıdır. HDL olasılıkla, bu enzimi hücre membranı ile etkileşime girerek regüle eder. Bir görüşe göre bu regülasyonun, diaçilgliserol üretimi sureti ile membran fosfolipaz aktivitesinin değişmesi ve kolesterol ester hidrolizinin belkide kalsiyum salınımı ve protein kinaz yolu ile olduğu bildirilmektedir.(43,48) Serbest kolesterol hücreden HDL tarafından alınır ve doku konsantrasyonu kapiller endotel üzerinde bulunan lipoprotein lipaz ile regüle edilir. Lipoprotein lipazın azalmış aktivitesi düşük HDL kolesterol düzeylerine neden olur ve bu da KKH riskini artırır.(43,48)

Kültür hücrelerinde yapılan çalışmalarda HDL'nin antiaterojenik etkisi şöyle tanımlanmıştır. HDL non-hepatik hücreler için bir kolesterol akseptördür.(7,49) HDL apoproteinleri ekstrahepatik dokularda hücre yüzeyinde bulunan yüksek afiniteli bağlanma bölgelerine reversibil olarak bağlanır ve hücrelerden kolesterol akışını stimüle eder.(7,50) Bir diğer hipotez de kolesterol transferinin hücreler ile HDL arasında aköz difüzyon modeli ile olduğu ve bu gerekçe ile kolesterol akışının yüksek afiniteli bağlanma bölgelerine bağımlı olmadığı bildirilmektedir.(7,51)

Geniş epidemiyolojik çalışmalar ve in vitro çalışmalar sonucunda HDL'nin ateroskleroza karşı koruyuculuğu şu mekanizmalarla açıklanmıştır.

1. Arter duvarındaki kolesterolü uzaklaştırır.
2. Antioksidan rolü ile lipid peroksid ürünlerini inhibe eder;LDL oksidasyonunu engeller ve böylelikle LDL'nin endotel üzerindeki sitotoksik etkisinden korur ve köpük hücre formasyonunu engeller.(52)
3. HDL, artmış prostasiklin üretimi ve azalmış trombosit agregabilitesi ile ilişkilidir.(53) HDL'nin major proteini olan Apoprotein AI serum prostasiklin stabilizasyonunu sağlar ve fibrinolizi teşfik eder.(54)
4. Yüksek HDL düzeyleri, LDL'nin endotelial hücreler tarafından uptake'ini azaltır, LDL'nin reseptörleri ile bağlanmasını kompetitif inhibisyonla engeller.
5. HDL veya Apoprotein AI LDL agregasyonunu engeller, LDL agregatları hızla makrofajlar tarafından alınır(55), böylece, kolesterolün hücre içerisinde kalp köpük hücre formasyonu kazanmasını engeller.
6. HDL, LDL'nin fosfatidilinozitol siklusu üzerinden trombosit aktivasyonunu indüklemesini inhibe eder.(56)

7. Zilversmith'in aterejonik kalıntı hipotezine göre; düşük HDL düzeyleri trigliseridden zengin lipoproteinlerin anormal metabolizması için olası sekonder belirteçtir.

Bir kısım araştırmacılar çalışmalarında lipid profili parametrelerinin yanında TK/HDL oranını kullanmışlardır. Ateroskleroz ve komplikasyonlarına bağlı olan iskemik kalp hastalığı, koroner kalp hastalığı, periferik, serebral ve koroner ateroskleroz hastalıklarının risk faktörleri arasında TK/HDL oranlarını kullanmışlardır.(5,11,13,30,42) Biz de çalışmamızda TK/HDL oranlarını saptadık. KKH grubunda erkek olgularda TK/HDL oranlarını kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0021$) yüksek saptadık.Yine KKH grubunda kadın olgularda TK/HDL oranlarını kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0295$) yüksek saptadık. KKH grubunda erkek olgularda TK/HDL oranı ile apo B/AI,HDL₂/HDL₃ oranları ve apo B,LDL kolesterol,total kolesterol düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı bir korrelasyon saptanırken,HDL,HDL₂,HDL₃ düzeyleri ve HDL₂/HDL₃ oranı arasında negatif yönde anlamlı korrelasyon saptandı. Felin R ve arkadaşları 1985'te yaptıkları bir çalışmada ekstra koroner aterosklerozlu 69 hasta ve sağlıklı 79 kontrolü karşılaştırdıklarında hasta gruplarında TK/HDL oranının anlamlı artmış olduğunu bildirmişlerdir.(13) Badimon ve arkadaşları, 1989'da kolesterolden zengin diyetle beslenen tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, TK/HDL oranını anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır ve TK/HDL oranını daha iyi bir aterojenik marker olabileceğini bildirmişlerdir.(42)

Çalışmamızın temelini oluşturan HDL kolesterol ve HDL subfraksiyonları uzun zamandır üzerinde çok sayıda çalışma yapılan ve önemini günümüzde de koruyan bir konudur. Bilindiği üzere HDL'nin, HDL₂ ve HDL₃ olmak üzere iki major subfraksiyonu vardır.(20,21,24,29) HDL₂ trigliseridden zengin lipoproteinlerin lipolizi esnasında meydana gelir. Hepatik orjinli trigliserid lipaz'ın HDL ve özellikle HDL₂ metabolizmasında önemli rolü olduğu bildirilmiştir.(33,58) Patch ve arkadaşları, VLDL'nin lipoprotein lipaz ile lipolizi esnasında HDL₃'ün HDL₂'ye dönüştüğünü bildirmişlerdir.(59)

HDL subfraksiyonları çeşitli yöntemlerle belirlenmektedir. Bunlar;

1. Preparatif ve analitik ultrasantrifugasyon
2. Rate-zonal ultrasantrifugasyon
3. Selektif presipitasyon
4. Gradient jel elektroforezi
5. Affinite ve adsorbsiyon kromatografisi yöntemleridir.(10)

Klinik laboratuvarların rutin ölçümleri için, hızlı sade ve otomatize edilebilir metodlar gerekmektedir.(33) Yukarıda belirtilen metodlardan bir çoğu çok sayıda örneği çalışabilmek için gerekli olan hızlı, ucuz ve kolay olma özelliklerine sahip değildir. Bu nedenle tek basamaklı presipitasyon ve analize dayanan yöntemler klinik laboratuvar kullanımına en uygun yöntemlerdir. Bizim çalışmamızda kullandığımız GM Kostner'in geliştirdiği ve differansiyal presipitasyon esasına dayanan yöntem klinik laboratuvarlar için uygun özelliklere sahip bir yöntemdir.(33) GM Kostner ve arkadaşları, geliştirdikleri bu yöntemin güvenilirliğini araştırmak için yaptıkları çalışmalarda; differansiyal presipitasyon esasına dayanan yöntemlerde kullanılan üç maddeyi (Polietilenglikol (PEG), Fosfotungstik asit (PTA) ve Dextran sülfat (DS)) karşılaştırmışlar ve. PEG ile PTA arasında benzer sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. DS'in ise %1.8-2.2 yüksek sonuç verdiğini saptamışlardır. İkinci aşamada HDL₂ ve HDL₃ ölçümü için ultrasentrifugasyon, PEG ve Heparin Mn²⁺ yöntemleri karşılaştırdıklarında. PEG ile ultrasentrifugasyon yöntemleri sonuçları arasında çok iyi korelasyon (r=0.921) saptadıklarını bildirmişlerdir. Heparin-Mn²⁺ ile ultrasentrifugasyon yöntemi sonuçları arasındaki korelasyonu ise (r=0.880) olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak HDL₂, HDL₃ ölçümünün, polietilenglikol ile çöktürme yönteminin güvenilir, hızlı, kolay ve ucuz olması özellikleri ve diğer yöntemlerde ihtiyaç duyulan pahalı özel alet ve ekipmanlara ihtiyaç duyulmamasının bir avantaj olması açısından .klinik laboratuvarlarda rutin hizmetlere uygulanabilir olduğunu bildirmişlerdir..

HDL subfraksiyonlarının herbiri HDL metabolizmasında farklı rol oynamaktadır.(10) Yapılan bir çok çalışmada düşük HDL kolesterol düzeylerinin gerçekte HDL₂ subfraksiyonundaki düşmeden kaynaklandığı ve aterosklerozdan korunmada major rolü HDL₂ subfraksiyonunun oynadığı bildirilmiştir.(4,6,10,13,14) Diğer bazı araştırmacılar ise KKH'nda hem HDL₂ hemde HDL₃ fraksiyonlarında azalma olduğunu savunmaktadırlar.(15,16,17) Bazı araştırmacılar raporlarında HDL subfraksiyonlarının birbirine oranını bir ateroskleroz risk belirteci olarak kullanmışlardır. HDL₂/HDL₃ oranını diğer ölçümle belirtilen parametrelerle birlikte kullanmışlar ve karşılaştırmalı bulgular ortaya koymuşlardır.(13,43) Bu yönde ilk rapor Gofman ve arkadaşları tarafından 1966 yılında bildirilmiştir.(13) Bu rapora göre iskemik kalp hastalığının gelişiminde HDL₂ major rol oynamaktadır.

Felin R ve arkadaşları 1985'te yaptığı bir çalışmada ekstrakoronar aterosklerozlu kadın ve erkek hastalarda, HDL₂ ve HDL₃ deki azalmayı karşılaştırdıklarında ise HDL₂ deki

azalmanın daha fazla ve anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.(13) Düşük HDL₂ düzeyleri; durağan yaşam biçimi, obezite, hipertrigliseridemi, karbohidrattan zengin diyet ve erkek cinsiyeti olmak üzere çeşitli faktörlerle birleşmiştir.(13)

Biz de çalışmamızda KKH grubunda erkek olgularda HDL₂ düzeylerini (p=0.0226), HDL₃ düzeylerini (p=0.0431) ve HDL₂/HDL₃ oranını (p=0.0421) kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı azalmış saptadık. Çalışmamızda KKH grubunda kadın olgularda HDL₂ düzeylerini (p=0.0340), kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı azalmış saptadık. HDL₃ düzeylerinde ise KKH grubu ile kontroller arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark (p=1.000) saptanmadı. Yine HDL₂/HDL₃ oranında istatistiksel açıdan incelendiğinde KKH ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark (p=0.9725) saptanmadı. KKH ve kontrol grubunda tüm olgularda HDL kolesterol düzeyleri ile HDL₂ kolesterol düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı korrelasyon saptandı.KKH grubunda erkek ve kadın olgularda,kontrol grubunda erkek olgularda HDL₃ kolesterol düzeyleri ile apo AI ve HDL kolesterol düzeyleri ve apoAI/B oranları arasında pozitif yönde anlamlı korrelasyon saptandı.Tüm olgularda HDL₂/HDL₃ oranları ile HDL₂ kolesterol düzeyleri arasında pozitif ve güçlü bir korrelasyon saptandı.

Premenopozal kadınlar ve yaşlıları erkeklerde yapılan çalışmalarda, kadınların daha yüksek HDL₂ düzeylerine sahip oldukları, HDL₃ düzeylerinde ise kadınlar ve erkekler arasında fark olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmaların sonucunda HDL₂ nin major antiaterojenik komponent olduğu savunulmaktadır. (57)

Avaogaro ve arkadaşları 1979'da rate-zonal ultrasantrifigasyon metodunu kullanarak yaptıkları bir çalışmada MI geçirmiş 30 erkek ile sağlıklı 30 erkek karşılaştırdıklarında, MI hastalarında HDL₂, HDL₃ düzeyleri ve HDL₂/HDL₃ oranının anlamlı azalmış olduğunu bildirmişlerdir.(43)

Ballantyne ve arkadaşları 1982'de benzer teknik kullanılarak yaptıkları bir çalışmada, 31 erkek MI hastası ile 23 sağlıklı kontrol karşılaştırıldığında, MI hastalarında HDL₂ düzeylerinin azalmış olduğu, ancak total HDL ve HDL₃ düzeylerinin gruplar arasında fark göstermediği bildirilmiştir.(13)

Wallentin ve Sundin'in 1985'de kombine presipitasyon ve ultrasantrifügasyon teknikleri kullanarak yaptıkları bir araştırmada, KKH ve ateroskleroz ile HDL₂ kolesterol düzeyi arasında kuvvetli bir ilişki bulunurken, HDL ve HDL₃ düzeyleri ile ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir.(13)

Tüm bu çalışmaların sonucu şu şekilde özetlenmiştir;

1. Düşük HDL kolesterol düzeyleri, HDL₂ ve HDL₃ teki azalmaları ilişkilidir.
2. HDL₂'deki azalma HDL₃'deki azalmadan daha fazladır.

Bir çok çalışmanın sonucunda KKH tanısında ve Ateroskleroz risk profilinin belirlenmesinde HDL subfraksiyon düzeylerinin belirlenmesinin, lipoprotein kolesterollerin düzeylerinin belirlenmesinden çok daha hassas bir kriter olduğu bildirilmiştir.(4,6,13,18)

Anderson ve arkadaşlarına göre ise HDL₂ kolesterol düzeylerinin belirlenmesi, koroner risk profillerinin belirlenmesinde, HDL kolesterole göre %50 daha fazla güvenilir bulunmuştur.(13)

Rutin kullanım için uygun hale getirildiği takdirde, HDL subfraksiyonlarının identifikasyonu risk faktörlerinin tanımlanmasında klinik kullanım için total HDL den daha güçlü bir kriter olacağı bildirilmiştir.(10)

Ateroskleroz gelişiminde yüksek LDL kolesterol düzeylerinin önemli rolü olduğu bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. KKH ve aterosklerozlu hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda LDL kolesterol düzeylerinin kontrollere göre arttığı bildirilmiştir.(2,6,8,9,27,43,60)

LDL kolesterol düzeyinin 130 mg/dl'nin üzerinde olması ateroskleroz risk faktörü olarak kabul edilmektedir.(3)

Araştırmamızda, KKH grubunda erkek olgularda LDL kolesterol düzeylerini kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı (p=0.0226) artmış saptadık. KKH grubunda kadın olgularda LDL kolesterol düzeylerini kontrollere göre istatistiksel açıdan (p=0.0101) anlamlı artmış saptadık.KKH grubunda erkek olgularda LDL kolesterol düzeyleri ile apo B düzeyleri ve apo B/AI oranları arasında pozitif yönde, apo AI/B oranları arasında negatif yönde anlamlı bir korrelasyon saptandı.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, okside olmuş LDL kolesterolün ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. KKH ve aterosklerozlu olgularda LDL kolesterol düzeylerinin yüksek olmasının nedenleri arasında okside LDL'nin normal LDL resptörleri tarafından alınımının engellenmesidir. Bu olayın, aterojenitede önemli rolü olduğu ileri sürülmüştür.(6,7,26,61)

Erkekler ve kadınlar arasındaki ateroskleroz gelişim oranı karşılaştırıldığında, erkekler aleyhinde 2:1 oranı bulunmuştur.(3) Premenapozal dönemdeki kadınlar aynı yaş grubu

erkeklerle karşılaştırıldığında KKH'na karşı daha az risk taşıdığı bildirilmiştir. Bunun nedeni ise erkeklere oranla kadınların daha düşük LDL kolesterol düzeyine sahip olması ile açıklanmıştır.(3,8,62) Kadınlarda menapoz sonrası dönemde LDL kolesterol düzeylerinin artması, östrojen ile stimüle olan LDL reseptör aktivitesinin kaybı olarak tanımlanmıştır.(8) Bizim çalışmamızdaki KKH grubunda olan 10 kadın olgu postmenapozal dönemdedir, 1 kadın olgunun bilgisine ulaşamamıştır. Kontrol grubunda olan 6 kadın olgu postmenapozal dönemde, 3 kadın olgu ise premenapozal dönemdedir.

Bilindiği gibi Apo AI, HDL kolesterolün major apoproteinidir. Apoprotein AI, HDL metabolizmasında önemli rol oynamaktadır ve özellikle HDL₃'ün HDL₂'ye dönüşmesinde, HDL₃ içeriğinde bulunan serbest kolesterolün esterleşmesinde rolü olan LCAT enzimi için aktivatör olarak etki etmektedir. HDL subfraksiyonlarının apoprotein içeriği farklıdır ve HDL₂ fraksiyonunda esas olarak Apo AI bulunurken HDL₃ fraksiyonunda Apo AI ve Apo AII birlikte bulunur.

Doku kültürü çalışmalarında; Apo AI'in doku kültür ortamına verilmesinin hücrelerden kolesterol akışına sebep olduğu, ancak Apo AI+Apo AII'nin birlikte verilmesinin bu sonuca ulaşmadığı bildirilmiştir.(6)

KKH ve aterosklerozlu kişiler üzerinde yapılan çalışmalarda Apo AI düzeylerinin azalmış olduğu bildirilmiştir(6,10,13,28)

Brady ve arkadaşları 1978'de yaptıkları bir çalışmada, HDL₂'nin asıl apoproteinini olan Apo AI'in periferal aterosklerozda anlamlı azaldığını saptamışlardır.(13)

Salonen ve arkadaşları 1985'de yaptıkları bir çalışmada düşük Apo AI düzeylerinin, kontrollere göre karşılaştırıldığında 2.5 kat daha fazla koroner ölüm riski taşıdığını bildirmiştir.(10)

Miller'in 1987'de yaptığı çalışmada, MI hasatları ile kontroller arasında Apo AI düzeylerini karşılaştırıldığında MI hastalarının Apo AI düzeylerinin anlamlı azalmış olduğunu ve Apo AI düzeyleri ile iskemik kalp hastalığı arasında kuvvetli bir ilişki olduğu bildirilmiştir.(10)

Bir çalışmada, anjiyografik olarak KKH tanısı konmuş normolipidemik hastalarda, kontrollere göre Apo AI düzeylerinin azalmış olduğu, Apo AI+Apo AII düzeylerinin ise farksız olduğu bildirilmiştir.(6)

Çalışmamızda KKH grubunda erkek olgularda Apo AI düzeylerini kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0339$) azalmış saptadık. KKH grubunda kadın olgularda Apo AI düzeylerini istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0349$) azalmış saptadık.

Maciejko ve arkadaşları 1983'te 83 erkek KKH ve 25 sağlıklı kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada, ateroskleroz riskinin belirlenmesinde Apo AI düzeylerinin HDL kolesterolden daha iyi bir belirleyici olduğunu bildirmişlerdir.(39) Son 10 yılda ise lipoproteinlerin major apoprotein komponentlerinin ölçülmesinin, lipoprotein kolesterollerin ölçülmesinden daha değerli olduğu bildirilmiştir.(11)

LDL kolesterolün major apoproteini olan Apo B, ateroskleroz ve KKH ile ilişkilidir ve yükselmiş LDL kolesterolü ile Apo B düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardır.(6,11) Apo B'nin yükselmiş konsantrasyonları (LDL'nin) diffüz koroner ateromatözün genç yaşta oluşması üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir.(12)

Schmidt ve arkadaşları 1985'te yaptıkları çalışmada, Apo B düzeylerini, kontrollere göre artmış olduğunu bildirmişlerdir.(11)

Tasaki ve arkadaşları 1989'da varyant anjina, KKH ve kontrol grupları üzerinde yaptıkları çalışmalarda Apo B düzeylerinin kontrol grubuna göre farklı olduğunu bildirmişlerdir.(39)

Çalışmamızda, KKH grubunda erkek olgularda Apo B düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı ($p=0.0044$) artmış, kadın olgularda kontrol grubuna göre yine anlamlı ($p=0.0467$) artmış saptadık.

Bir çok araştırmacı yaptıkları çalışmada, KKH tanısında Apoproteinlerin yerinin lipidlerden ve lipoprotein kolesterolden daha önemli olduğunu vurgulamıştır.(11,12)

Bazı araştırmacılar ateroskleroz risk faktörlerini tanımlamak amacı ile lipid, lipoprotein, apoprotein gibi ölçülebilir parametrelerden başka bu parametrelerin birbirlerine oranlarını da risk faktörleri olarak tanımlamışlardır. Bunlar arasında major apoproteinlerin birbirlerine oranları da bulunmaktadır. HDL'nin major apoproteini olan Apo AI ve LDL'nin major apoproteini olan Apo B'nin birbirine oranı sık olarak kullanılırken bunların dışında Apo AI/Apo AII oranı, Apo E_{II}/E_{III} oranı da bazı araştırmacılar tarafından kullanılabilir.(11,39)

Bizim çalışmamızda, bu yönde Apo AI/Apo B ve Apo B/Apo AI oranları seçilmiştir. Çalışmamızda, KKH grubunda erkek olgularda Apo AI/Apo B oranı kontrollere göre anlamlı

($p=0.0171$) azalmış saptanırken, Apo B/Apo AI oranı kontrollere göre anlamlı ($p=0.0118$) artmış saptanmıştır. KKH grubunda kadın olgularda Apo AI/Apo B oranı kontrollere göre anlamlı ($p=0.0386$) azalmış saptanırken, Apo B/ Apo AI oranı kontrollere göre anlamlı ($p=0.0387$) artmış saptanmıştır.

Schmidt ve arkadaşlarının 1985'te KKH erkekler üzerinde yaptıkları çalışmada, Apo AI/Apo B oranını kontrollere göre anlamlı azalmış olduğunu bildirmişlerdir.(11)

Tasaki ve arkadaşlarının 1989'da, KKH, varyant anjina ve kontrol grupları üzerinde yaptıkları çalışmada, Apo AI/Apo B oranının her üç grup arasında farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.(39)

Bu çalışmamızda anjiyografik olarak KKH tanısı almış bireylerde bu güne kadar rutin olarak kullanılan Biyokimyasal parametrelerden Total kolesterol, Trigliserid, HDL, LDL testlerine, HDL'nin major subfraksiyonları olan HDL₂ ve HDL₃'ün analiz yöntemlerinin de ilave edilebilmesi ve tartışılması amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak planladığımız bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular literatürlerdeki bulgularla uyumludur. Kullandığımız yöntemin oldukça kolay ve ucuz olması, çalışılabilmesi için uzun zamana ve özel ekipmana gerek duyulmaması elde edilecek sonuçların güvenilebilir olması nedenleri ile rutinde uygulanabilir özellikte olduğunu düşünmekteyiz. Literatürlerde bildirildiği gibi rutin olarak kullanıldığı taktirde HDL subfraksiyonlarının identifikasyonunun risk faktörlerinin tanımlanmasında klinik kullanım için total HDL'den daha güçlü bir kriter olabileceği görüşüne biz de katılmaktayız. İleriki çalışmalarda deneysel modellerin oluşturulmasının, geniş popülasyonlarda epidemiyolojik araştırmaların ve ileri ayırıcı çalışmaların yapılmasının daha aydınlatıcı ve fikir verici olacağı inancındayız.

KAYNAKÇA

1. Kayahan Ş; Kalpve damar Hastalıkları. İstanbul üniversitesi tıp fak. Yayınları 1977
2. Braunwald E; Heart disease, A text book of cardiovascular medicine, WB Saunders Company, Philadelphia, 1980 p.1106-20
3. Roberts WC; Atheroslerotic risk factors are there ten or is there only one? The American Journal of Cardiology. sep. 1989 Vol.64 p.552-4
4. Walton C, Lees B, Crook D; Body fat distribution, rather than overall adiposity, influences serum lipids and lipoproteins in healty men independently of age. The American Journal of Medicine Nov. 1995 Vol.99 p.459-64
5. Raz I, Rosenblit H, Kark JD; Effect of moderate exercise on serum lipids in young men with low high density lipoprotein cholesterol. Arteriosclerosis May/Jun. 1988 Vol.8 p.245-51
6. Roheim PS, Asztalos BF; Clinical significance of lipoprotein size and risk for coronary atherosclerosis. Clinical Chemistry 1995 Vol.41 No:1 p.147-52
7. Badimon JJ, Fuster V, Badimon L; Role of high density lipoproteins in the regression of atherosclerosis. Circulation (supplement III) Dec.1992 Vol.86 No:6 p.86-94
8. Grundy SM; Cholesterol and coronary heart disease. JAMA Dec.1990 Vol.264 No:23 p.3053-9
9. Hoff FH, Heideman CL, Jackson RL; Localization patterns of plasma apolipoproteins in human atherosclerotic lesions. Circulatin Research Jul.1975 Vol.37 p.72-9
10. Miller NE; Asociations of high-density lipoprotein subclasses and apolipoproteins with ischeic heart disease and coronary atherosclerosis. American Heart Journal Feb. 1987
11. Schumdt SB, Wasserman AG, Muesing RA; Lipoprotein and apoprotein levels in angiographically defined coronary atherosclerosis. The American Journal of Cardiology Jun.1985 Vol.55 p.1459-62
12. Valerio G; Profiles of apolipoprotein metabolizm in coranary CAD. Clinical Chemistry 1988 Vol.34 p.13-27
13. Fellin R, Baroni L, Baiocchi MR; Selective determination of cholesterol in high density lipoprotein subfractions (HDL₂ and HDL₃) in patients with cerebral and

- peripheral arteriosclerosis. *Clinical Chimica Acta* Apr. 1985 Vol.30 p.233-40
14. Ballantyne FC, Clark RS, Simpson HS; High density and low density lipoprotein subfractions in survivors of myocardial infarction and in control subjects. *Metabolizm* 1982 Vol.31 p.433-7
 15. Avagaro P, Cazzolato G, Bittolo BG; Levels and composition of HDL2, HDL3 and other major lipoprotein classes in survivors of myocardial infarction. *Artery*. 1979 vol.31 p.433
 16. Gidez LI, Miller GJ, Burstein M; Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure. *Journal of Lipid Research* 1982 Vol.23 p.1206-23
 17. Hamsten A, Wallidus G, Dahlen G; Serum lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarctions. *Atherosclerosis* 1986 Vol.59 p.223
 18. Gurewich V, Lipinska I, Lipinski B; High density lipoproteins and atherosclerosis. *New England Journal of Medicine* Nov. 1982 Vol.307 No:20 p.1274-5
 19. Warnick GR, Banderson JM, Albers JJ; Quantitation of high-density-lipoprotein subclasses after separation by dextran sulfate and Mg^{2+} precipitation. *Clinical Chemistry* 1982 Vol.28 No:7 p.1574
 20. Thomson GR; Hiperlipidemi el kitabı. Uycan yayımları A.Ş. İstanbul 1990 (Çeviri Enis Tamuğur)
 21. Murray KR, Mayes PA, Grammer DK, Rodwell VW; Harper'm Biyokimyası. Barış kitabevi 1993 (Çeviri: Prof. Dr. Gülriz Menteş, Prof. Dr. Biltan Ersöz)
 22. Henry JB; Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Saunders company 1996 Nineteenth edition
 23. Tamuğur E; Korener arter hastalarında ve kontrol grubunda serum trigliserid, total kolesterol, HDL ve LDL kolesterol değeri üzerine çalışmalar. Uzmanlık tezi İzmir 1989
 24. Kaplan AL, Pesce AJ; *Clinical Chemistry Philadelphia* 1989
 25. Tietz WN; *Textbook of clinical chemistry*. WB Saunders company Philadelphia 1994
 26. Mehmet H.Köseoğlu; Anjiografi ile koroner kalp hastalığı tanısı konmuş kişiler ile tip 2 diabetik kişilerde , serum lipid, lipoprotein, yağ asitleri ve malondialdehit değerleri üzerinde çalışmalar. Dokuz Eylül Üni. SBE Doktora tezi 1996

27. Allan RT; plazma high density lipoproteins. *Journal of Clinical Investigation* Aug. Vol.86 No:2 p.379-84
28. Bard JM, Fruchart JC; HDL particle measurements: Impact for diagnosis and therapy. *Clinical Biochemistry* Apr. 1993 Vol.26 p.65-8
29. Yenson M; *İnsan Biyokimyası*. 1981
30. Elspeth BS; Molecular interactions in human atherosclerotic plaques. *American Journal of pathology* Mar. 1977 Vol.86 no:3 665-74
31. Kuo PT; Dislipidemia and coronary artery disease. *Clinical Cardiology* 1994 Vol.17 p.519-27
32. Robbins SL, Kumar V; *Basic Pathology*. Saunders company 1987
33. Kostner GM, Molinary E, Pichler P; Evaluation of new HDL2/HDL3 quantitation method based on precipitation with polyethylene glycol. *Clinical Chimica Acta* 1985 Vol.148 p.139-47
34. Mc Namara JR, Jeffrey SC; Calculated values for low density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. 1990 *Clinical Chemistry* Vol.36 No:1 p.36-42
35. Steinberg KK, Cooper GR, Graiser SR; Some considerations of methodology and standardization of Apolipoprotein AI immunoassay. *Clinical Chemistry* 1983 Vol.29 p.422-33
36. Robinson D, Gordon AA, Bevan EA; High density lipoprotein subfractions and coronary risk factors in normal men. *Arteriosclerosis* 1987 Vol.7 No:4 p. 341-46
37. Rössner S, Kjellin KG, Siden A; Normal serum- cholesterol, but low HDL-cholesterol concentration in young patients with ischemic cerebrovascular diseases. *Lancet* Mar. 1978 Vol.18 p.577-9
38. Steenkamp HJ, Joost PL, Langenhoven ML; Relationship between high density lipoprotein subfractions and coronary risk factors in a rural white population. *Arteriosclerosis* 1990 Vol.10 No:6 p.1026-31
39. Tasaki H, Nakasima Y, Nandate H; Comparison of serum lipid values in variant angina pectoris and fixed coronary artery disease with normal subjects. *American Journal of Cardiology* Jun. 1989 Vol.63 p.1441-5
40. Malinow MR; Atherosclerosis: progresion, regresion, and resolution. *American Heart Journal* Dec. 1984 Vol.108 No:6 p.1523-37

41. The expert panel; Report of the national cholesterol education program expert on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Archives Internal Medicine Jan. 1987 Vol. 148 p. 3669
42. Badimon JJ, Badimon L, Galvez R; High density lipoprotein plasma fractions inhibit aortic fatty streaks in cholesterol-fed rabbits. Laboratory Investigation 1989 Vol. 60 No. 3 p. 455-61
43. Durrington PN; How HDL Protects against atheroma The Lancet Nov. 1993 Vol. 342 p. 1315-6
44. Guianterco SH, Bradley WA; Lipoprotein mediated cellular mechanisms for atherogenesis in hypertriglyceridemia. Semin. Thromb. Hemost. 1988 Vol. 14 p. 165-9
45. Mc Gill HC; Fatty streaks in the coronary arteries and aorta. Journal of Laboratory Investigation 1968 Vol. 18 p. 560-4
46. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF; Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: the Framingham study. JAMA 1986 Vol. 256 p. 2835-8
47. Glomset JA; The plasma lecithin:cholesterol acyltransferase reaction. Journal of Lipid Research 1968 Vol. 9 p. 155-67
48. Neary R, Bhatnagar D, Durrington PN; An investigation of the role of lecithin:cholesterol acyltransferase and Triglyceride-rich lipoproteins in the metabolism of pre-beta high density lipoproteins. Atherosclerosis 1991 Vol. 89 p. 35-48
49. Slotte JP, Oram JF, Bierman EL; Binding of high density lipoproteins to cell receptors promotes translocation of cholesterol from intracellular membranes to the cell surface. J. Biol. Chem. 1982 Vol. 262 p. 12904-7
50. Graham DL, Oram JF; Identification and characterization of high density lipoprotein-binding protein in cell membranes by ligand blotting. J. Biol. Chem. 1982 Vol. 262 p. 7439-42
51. Karlin JB, Johnson WJ, Benedict CR; Cholesterol efflux between cells and HDL: Lack of relationship to specific binding of the lipoprotein to the cell surface. J. Biol. Chem. 1987 Vol. 262 p. 12557-64
52. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D; Interactions of plasma lipoproteins with

- endothelial cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1982 Vol.401 p.102-16
53. Betteridge D; High density lipoprotein and coronary heart disease. *Br. Med. J.* 1989 Vol.298 p.348-58
54. Yoi Y, Ayoyama T, Morishita H; Serum prostacyclin stabilizing factor is identical to apoprotein AI: A novel function of Apo AI. *J. Clinical Investigation* 1988 Vol.82 p.803-7
55. Khoo JC, Miller E, McLoughlin P; Prevention of low density lipoprotein aggregation by high density lipoprotein aggregation by high density lipoprotein or Apo AI. *J. Lipid Res.* 1990 Vol.31 p.645-52
56. Knorr M, Locher R, Vogt E; Rapid activation of human platelets by low concentration of low density lipoprotein via phosphatidylinositol cycle. *Eur. J. Biochem.* 1988 Vol.172 p.753-9
57. De Lalla OF, Elliott HA, Gofman JW; Ultracentrifugal studies of high density serum lipoproteins in clinically healthy adults. *Am. J. Physiol.* 1954 Vol.179 p.333-9
58. Bowden DA, Haffner SM, Wahl PW; Postheparin plasma triglyceride lipases. *Arteriosclerosis* 1985 Vol.5 No:3 p.273-82
59. Ballantyne FC, Clark RS, Simpson HS; High density and low density lipoprotein subfractions in survivors of myocardial infarctions and in control subjects. *Metabolism* 1982 Vol.31 p.433-7
60. Sparks D, Frohlich JJ, Pritchard PH; Lipid transfer proteins, hypertriglyceridemia, and reduced high-density lipoprotein cholesterol. *Am. Heart Journal* Aug. 1991 Vol.122 No:2 p.601-7
61. Yoshikawa M, Sakuma N, Hibino T; HDL₃ exerts more powerful anti-oxidative, protective effects against copper catalyzed LDL oxidation than HDL₂. *Clinical Biochemistry* 1997 Vol.30 No: 3 p.221-225
62. O'Brien T, Nguyen Tu T; Lipids and lipoproteins in women. *Mayo Clin. Proc.* 1997 Vol.72 p.235-244.