

30248

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**İSKEMİK KALP HASTALARINDA SERUM LİPOPROTEİN DÜZEYLERİNİN VE  
SERUM PROTEİNLERİ GENETİK POLİMORFİZMİNİN POLİAKRİLAMİD JEL  
DİSK ELEKTROFOREZİ YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sibel OĞUZKAN**

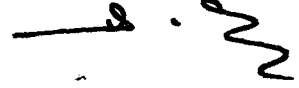
**DANIŞMAN**  
**Yrd. Doç. Dr. M. Emin ERDAL**

**GAZIANTEP - 1993**

30248

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

Prof. Dr. Sabri GÜNGÖR



**Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD Başkanı**

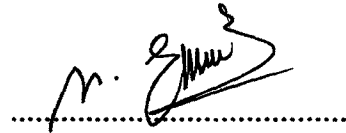


Yrd.Doç.Dr.M.Emin ERDAL

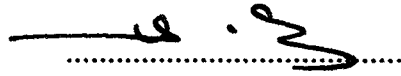
**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**Tez Jürisi Üyeleri**

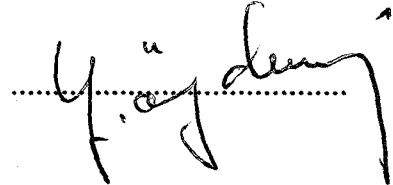
Yrd. Doç. Dr. M. Emin ERDAL (Başkan)



Prof. Dr. Sabri GÜNGÖR



Doç. Dr. Yüksel ÖZDEMİR



## **TEŐEKKÜR**

Büyük bir özveride bulunarak yüksek lisans yöneticiliğimi üstlenen, tez çalışmalarım süresince bilgi, görüş ve tenkitleriyle her zaman bana yol gösteren Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Sayın Yrd.Doç.Dr.M.Emin ERDAL'a

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Yrd. Doç.Dr. Nurten ERDAL'a

Gerek hasta takibinde gerekse konu ile ilgili bilgi ve görüşleriyle yardımlarını gördüğüm Gaziantep S.S.K. Hastanesi doktorlarından, İç Hastalıkları Uzmanı değerli büyüğüm Sayın Dr. M. Hüsnü TÜRKÖZ'e

Materyal alımında gerekli ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, Gaziantep S.S.K. Hastanesi 4. Dahiliye Kliniği ve Gaziantep Devlet Hastanesi Kalp ve Koroner Yoğun Bakım Servisi çalışanları'na

Yüksek lisans eğitimim süresince yakın ilgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili ailem'e

Tezimin yazım işlerini üstlenen Sayın Servet CANBOLAT'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek Lisans Öğrencisi  
Sibel OĞUZKAN

## ***KISALTMALAR***

**HDL : Yüksek dansiteli lipoproteinler**

**LDL : Düşük dansiteli lipoproteinler**

**VLDL:Çok Düşük dansiteli lipoproteinler**

**Hp : Haptoglobin**

**Gc : Grup spesifik komponent**

**Tf : Transferrin**

**Cp : Seroloplazmin**



T.C  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

İSKEMİK KALP HASTALARINDA SERUM LİPOPROTEİN DÜZEYLERİNİN VE  
SERUM PROTEİNLERİ GENETİK POLİMORFİZMİNİN POLİAKRİLAMİD JEL  
DİSK ELEKTROFOREZİ YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sibel OGUZKAN

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. M. Emin ERDAL

GAZİANTEP-1993

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Araştırmamıza Konu Olan İskemik Kalp Hastalığı Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.2. Poliakrilamid Jel Disk Elektforezi Hakkında Genel Bilgiler.....	5
2.3. Serum Lipoproteinleri Hakkında Genel Bilgiler.....	7
2.4. Serum Proteinleri Hakkında Genel Bilgiler.....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Gereç.....	16
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	16
3.1.2. Kullanılan Solüsyonlar.....	17
3.1.2.1. Stok Solüsyonlar.....	17
3.1.2.2. Çalışma Solüsyonları.....	19
3.1.2.2.1. Serum Lipoproteinleri Çalışma Solüsyonları .....	19
3.1.2.2.2. Serum Proteinleri Çalışma Solüsyonları .....	19
3.1.2.3. Tampon Solüsyon (Buffer Solüsyon).....	20
3.1.2.4. Hemolize Edici Solüsyon.....	20
3.1.2.5. Boya Solüsyonları.....	20
3.1.2.5.1. Lipoprotein Bantları Boyama-Tespit Solüsyonu.....	20
3.1.2.5.2. Haptoglobin Bantları Boyama Solüsyonu.....	21
3.1.2.5.3. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Bantları Boyama Tespit Solüsyonu.....	21
3.1.2.5.4. Seruloplazmin Bantı Boyama-Tespit Solüsyonu.....	21

	Sayfa
3.1.2.6. Jel Yıkama-Jel Saklama Solüsyonu.....	21
3.1.3. Kullanılan Araçlar.....	21
3.2. YÖNTEM.....	22
3.2.1. Serum Total Kolesterol, Trigliserit, HDL-Kolesterol, LDL- Kolesterol ve VLDL-Kolesterol Konsantrasyonlarının Saptanması .....	22
3.2.1.1. Serum Total Kolesterol Konsantrasyonunun Saptanması.....	22
3.2.1.2. Serum Trigliserit Konsantrasyonunun Saptanması.....	23
3.2.1.3. Serum HDL-Kolesterol Konsantrasyonunun Saptanması	24
3.2.1.4. Serum LDL-Kolesterol ve VLDL-Kolesterol Konsantrasyonlarının Saptanması.....	25
3.2.2 Poliakrilamid Jel Disk Elektroferez Uygulaması.....	25
3.2.2.1. Jel Tüplerinin Temizlenmesi.....	26
3.2.2.2. Jel Tüplerinde Jellerin Hazırlanması.....	26
3.2.2.3. Jellerin Üzerine Serum Örneklerinin Uygulanması.....	28
3.2.2.3.1. Serum Lipoproteinleri İçin Örnek Uygulanması	28
3.2.2.3.2. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Bantlarının Tespit Edilmesi İçin Örnek Uygulanması.....	28
3.2.2.3.3. Seruloplazmin ve Haptoglobin Tiplendirmesi İçin Örnek Uygulanması.....	29
3.2.2.4. Elektroferez İşlemi.....	29
3.2.2.5. Serum Lipoprotein Bantlarının Boyanması.....	29
3.2.2.6. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Bantlarının Boyanması.....	30
3.2.2.7. Haptoglobin Tiplerinin Belirlenmesi.....	30
3.2.2.8. Seruloplazmin Bantının Boyanması.....	30
3.2.3. Değerlendirmeler.....	30
3.2.3.1. Kalitatif Değerlendirme.....	30

	Sayfa
3.2.3.2. Kantitatif Değerlendirme.....	30
3.2.3.3. İstatistiksel Değerlendirme .....	31
4. BULGULAR.....	32
4.1. Serum Lipoproteinlerinin Elektroforetik Bulguları.....	32
4.2. Serum Total Kolesterol, Trigliserit ve Lipoproteinlerin Spektrofotometrik Bulguları.....	34
4.3. Haptoglobın Tipleri.....	35
4.4. Grup Spesifik Komponent Tipleri.....	36
4.5. Transferrin Tipleri.....	36
4.6. Seruloplazmin Tipleri.....	37
4.7. Bulgulara Ait Tablo ve Şekiller.....	39
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇ.....	63
7. ÖZET.....	65
8. SUMMARY.....	66
9. KAYNAKLAR.....	67

## **TABLULAR**

Sayfa

Tablo I. İskemik Kalp Hastalarından Elde Edilen Elektroforetik Bulguların Dağılımı.....	41
Tablo II. Kontrol Grubunu Oluşturan Sağlıklı Bireylerden Elde Edilen Elektroforetik Bulguların Dağılımı.....	43
Tablo III. İskemik Kalp Hastalarından Elde Edilen Spektrofotometrik Bulguların Dağılımı.....	45
Tablo IV. Kontrol Grubunu Oluşturan Sağlıklı Bireylerden Elde Edilen Spektrofotometrik Bulguların Dağılımı.....	47
Tablo V. Hasta ve Kontrol Gruplarının Karşılaştırılmasıyla Elde Edilen İstatistiksel Bulgular ( Elektroforetik Bulgular).....	49
Tablo VI. Hasta ve Kontrol Gruplarının Karşılaştırılmasıyla Elde Edilen İstatistiksel Bulgular (Spektrofotometrik Bulgular).....	49
Tablo VII. Hasta ve Kontrol Gruplarını Oluşturan Bireylerde Haptogloblin Fenotiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansları Sıklığı.....	50
Tablo VIII. Hasta ve Kontrol Gruplarını Oluşturan Bireylerde Grup Spesifik Komponent Fenotiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansları Sıklığı	50
Tablo IX. Hasta ve Kontrol Gruplarını Oluşturan Bireylerde Transferrin Fenotiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansları Sıklığı.....	51
Tablo X. Hasta ve Kontrol Gruplarını Oluşturan Bireylerde Seruloplazmin Fenotiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansları Sıklığı.....	51

## **ŞEKİLLER**

Sayfa

Şekil 1. Normal Bir Bireye Ait Serum Lipoprotein Elektroforez Örneği ve Dansitometrik Çizimi.....	9
Şekil 2. Bir İskemik Kalp Hastasına Ait Serum Lipoprotein Elektroforez Örneği ve Dansitometrik Çizimi.....	40
Şekil 3. Haptoglobin Fenotipleri.....	52
Şekil 4. Seruloplazmin Bantı.....	53
Şekil 5. Grup Spesifik Komponent Fenotipleri ve Transferrin Bantı.....	54

## 1. GİRİŞ

Günümüzde erişkinlerde, Dünya'da en yüksek ölüm oranını (yaklaşık %50) kardiovasküler hastalıklar oluşturmaktadır (73,48). Bunun da % 50-75'i iskemik kalp hastalıklarına ait olup etiolojisinde ön sırayı %92-95 nedenle koroner ateroskleroz oluşturmaktadır. Kliniği, komplikasyonları ve prognozu bakımından önemli olan koroner ateroskleroz bireyleri en verimli çağında yakalayarak toplum için büyük kayıplara neden olmaktadır (73,4).

Önceleri şehir yaşamının orta ve ileri yaş grubu hastalığı olarak düşünülen koroner ateroskleroz bugün, değişik oranlarda olsa da her toplumun ve her yaş grubunun hastalığı olarak düşünülmektedir. I. Dünya savaşından önce, ateroskleroz çok önemli bir problem olmadığı halde, 1920-1930 yılları arasında önemli bir artış göstermiştir. 1940-1950 yılları arasında hastalığın pik yapması üzerine bilim adamları, çevre bilimcileri ve epidemiyolojistlerin konuya eğilerek çok sayıda çalışma yaptıklarını görüyoruz. Bu çalışmalar aterosklerozun artışının tesadüfi olmadığı, coğrafi, çevresel ve bireysel bir çok faktörün hastalıkla ilgili olduğunu göstermiştir. Sigara, hipertansiyon, yaş (12) diabetes mellitus (54), düzenli egzersiz eksikliği, diyet, genetik faktörler (10), obezite, kanda ürik asit artışı (79), hipotiroidizm ve hiperlipidemi (10,79,4) hastalıkla ilgili faktörlerdir.

Aterosklerotik kalp hastalıklarının oluşumunda hiperlipideminin önemli olduğu bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (1,4,10,32,62,65,68). Yine ateroskleroz ve özellikle bunun yaygın klinik formu olan koroner kalp hastalığının çok faktörlü etiolojisinde lipid bozuklukları majör risk faktörlerinden biri olarak yer almaktadır. Serum kolesterolünün bu riske katkısı, çeşitli lipoprotein fraksiyonlarına dağılımına göre değişmektedir. Lipoproteinler serumda; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) olmak üzere dört fraksiyon halinde bulunur (29,51). Şilomikron, LDL ve VLDL düzeyleri iskemik kalp hastalıkları ile doğru orantılı olup, HDL düzeyi hastalıkla ters orantılıdır (31,46,49,70).

Bu çalışmamızda amacımız, iskemik kalp hastalarında total kolesterol, trigliserit ve lipoprotein düzeylerini tespit ederek, bunların hastalığın gelişiminde etkili olduğunu, sağlıklı bireylerle karşılaştırarak gözlemektir.

Ayrıca iskemik kalp hastalıklarında genetik faktörlerin etkili olduğu (10) bilgisinden yola çıkarak, bu hastalarda bazı serum proteinleri (Hp ,Tf, Cp, Gc) genetik polimorfizmi ile iskemik kalp hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmayı amaçladık.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Arastırmamıza Konu Olan İskemik Kalp Hastalığı Hakkında Genel Bilgiler

Tek başına en çok ölüme neden olan ve kroner kan akımı yetmezliğinden meydana gelen iskemik kalp hastalığı (30), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından şu şekilde tanımlanmıştır: "Kroner sirkülasyondaki değişim sonucunda, kroner kan akımındaki dengesizliğe ve miyokardiyal ihtiyaca bağlı olarak, miyokardiyal zarar ya da bozulmadır (69).

İskemik kalp hastalığı terimi miyokardiyal iskemiden ileri gelen kardiyak hastalıkları tanımlamakta kullanılır ( 34, 65). Fakat miyokardiyal iskemi, aortik stenosis gibi çeşitli durumlarda da vuku bulduğu için, iskemik kalp hastalığı terimi genelde, yalnızca aterosklerotik orijinli vakalarda kullanılır (32). Kroner arter hastalığı, kroner ateroskleroz ve aterosklerotik kalp hastalığı terimleri çoğunlukla iskemik kalp hastalığı ile anlamdaş olarak kullanılmasına rağmen, iskemik kalp hastalığının majör sebebinin kroner arter hastalığı olduğu, ancak bunun, patofizyolojik olarak iskeminin tek nedeni olamayacağı bilinmektedir (34,65).

**İskemik Kalp Hastalığı Nedeni Olarak Ateroskleroz:** İskemik kalp hastalığının baş nedeni olan kroner ateroskleroz, histolojik olarak arterial duvarda bağ doku reaksiyonu olan bir bölgede kolesterolün hakim olduğu bir lipid birikimi ile karakterize edilir (59,63).

Ateroskleroz genel olarak şu şekilde tanımlanır; arterlerin subintima tabakasında, lipidlerin, kompleks karbonhidratların, bazı kan türevi maddelerin, fibröz dokunun ve kalsiyumun lokal birikimlerinin oluşturduğu değişikliklerle, bunlara eşlik eden media değişikliklerinin birlikte oluşturduğu patolojik bir durumdur (65,32).

Ateroskleroza genetik yatkınlığı olanlarda ya da fazla miktarda kolesterol ve diğer lipidleri alan kişilerde, lipidler arterlerin bir çok yerlerinde intima tabakası altına yavaş yavaş depolanır. Daha sonra depolanma bölgeleri fibröz doku tarafından istila edilir ve sık olarak kalsifiye olur. Bunun sonucu; aterosklerotik plakların oluşması ve arter duvarının sertleşmesidir. Bu durumda damar daralıp genişleme özelliğini kaybeder ve

arterin iç açıklığı da azalır ve sonuçta kan akımı düşer (30,59).

Aterosklerozun patogenezi için iki ana teori vardır. Bunlar; lipid infiltrasyon teorisi ve trombojenik teoridir (34,59, 65, 68).

Lipid infiltrasyon teorisinin ileri sürdüğü şudur; aterosklerozun gelişiminde en önemli faktör plazma bileşenlerinin ve lipidlerin arterial duvar içindeki birikimidir. Bu teori aterom gelişimi ile serum kolesterolü arasındaki güçlü ilişkiden dolayı desteklenmektedir.

Trombojenik teori ise şunu ifade eder; aterosklerozda ilk önce arterlerin endotel yüzeyinde mikrotrombüsler oluşur. Bu mikrotrombüsler, fibrin, trombosit ve eritrositlerin serum lipidleri ile birlikte endotel yüzeyde birikmeleri şeklinde olur. Bu ikinci teori aterom oluşumu ile ilişkili olmasa bile, damar duvarındaki pıhtı oluşumu ve arterial duvar içinde bunların birleşmesi aterosklerozun devam etmesinde önemli bir faktör olma ihtimalini mümkün kılar (34).

**İskemik Kalp Hastalığının Klinik Şekilleri :** İskeminin klinik belirtilerine neden olan koroner arter hastalıkları; anjina pectoris, stabil olmayan anjina, kronik miyokardiyal iskemi, miyokart infarktüsü, konjestif kalp yetmezliği, ventriküler aritmiler ve ani kardiyak ölüm'dür (34, 39, 63,65, 69 ).

İskeminin akıbetini genellikle, birbirleriyle etkileşim içinde olan şu üç faktör belirler; 1- türü, ilerleme hızı ve koroner arterial tıkanma, 2- iskemiye miyokardiyal tepki, 3- koroner kollateral kan akımının miktarı (63).

**İskemik Kalp Hastalığında Etiyolojik Faktörler:** İskemik kalp hastalığını hazırlayan etiyolojik faktörler çoğunlukla biraradadır. Bu faktörleri kısaca özetlemeye çalışalım (34).

1- Lipid Metabolizması Hastalıkları; iskemik kalp hastalığının baş nedeni olan koroner ateroskleroz, çoğunlukla bir lipid metabolizması bozukluğu sonucunda gelişmektedir (30).

Plazma lipid düzeyi yükselmiş kişilerde iskemik kalp hastalığı insidansı yüksektir, özellikle de familiyal hiperlipoproteinemia ile birarada bulunursa daha da artar. Hiperlipoproteinemia çeşitli tiplere ayrılmıştır, fakat temelde serumda trigliserit, kolesterol ve şilomikronları arttırır. Bunun yanında tip II, III ve tip IV, kronik aterosklerozla biraradadır.

Lipid metabolizmasını bozan diğer hastalık tipleri de koroner hastalığın yüksek insidans göstermesine neden olur (32).

2- Diabetes Mellitus; diabetli kişilerde iskemik kalp hastalığı daha sıklıkla görülür (34,54).

3- Hipertansiyon; ister diyastolik ister sistolik olsun, yüksek kan basıncı iskemik kalp hastalığının gelişiminde bir risk faktörüdür (12).

4- Sigara; yoğun sigara tüketimi yüksek insidanslı miyokart infarktüsü ile biraraya geldiğinde "ani ölüm" meydana gelir. Sigara alışkanlığının bırakılması bu olayların riskini azaltır (4,34).

5- Besleme; kolesterol ve diğer yağlarca zengin bir beslenme, hastalığın oluşumuna büyük ölçüde katkıda bulunur ( 4, 79).

6- Fiziksel Aktivite; fiziksel egzersiz, iskemik kalp hastalığından korunmada oldukça etkilidir (34).

7- Obezite; iskemik kalp hastalarının çoğunda olmasına rağmen arasıra çalışan bir faktördür (79,4).

8- Mental stress; mental stresin koroner arter hastalığına geniş ölçüde yardım ettiğine inanılmaktadır. Böyle olma ihtimali olsada bu konuda ikna edici bir delil henüz mevcut değildir. Bunun nedeni de çalışma alanının çok güç olmasıdır (34).

9- Aile hikayesi; koroner arter hastalığı aynı ailenin üyelerinin bir kaçında sıklıkla görülür, fakat bu hem genetik hem de çevresel faktörleri içine alır. Ailede görülme sıklığı genellikle kalıtılan hiperlipoproteinemia ve hipertansiyondan dolayıdır (10,32).

10- Haemostatik faktörler; son zamanlarda yapılan çalışmalar, fibrinojen ve yüksek düzeyde aktif faktör VII taşıyan kişilerde koroner olayların riskinin yükseldiğini göstermektedir (34).

## **2.2. Poliakrilamid Jel Disk Elektroforezi Hakkında Genel Bilgiler**

Hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılan yöntemlerden biri olan elektroforez yöntemi, çok önemli bir analitik tekniktir (5).

Serum lipoprotein elektroforezi; lipoprotein hastalıklarının tiplendirilmesinde sıklıkla başvurulan bir yöntemdir (17). Serum protein elektroforezi de yine kişinin sağlık durumunun ve serum proteinleri genetik polimorfizmi bakımından yapısının öğrenilmesine yardımcı olması açısından önemlidir (16).

Sulu bir çözelti içerisinde çözülmüş küçük elektrik yüklü parçacıkların uygulanan bir elektrik alanının etkisiyle göç etmesi sürecine "elektroforez" (elektrikle göç) denir (17,80). Bu küçük parçacıklar, bakteriler, virüsler, protein molekülleri (enzim, hormon, v.s) olabilirler (16). Doğal olarak bu parçacıkların çoğu elektrik yükü taşırlar. Elektrikle yüklü koloidal parçacıkların etrafında kurulan elektrik alanı, su moleküllerinin dipol yönelimine ve bazı su moleküllerinin koloidal parçacığa dipol bağlarla bağlanmasına neden olabilir. Bu yolla parçacığın pozitif yük kazanması, bir miktar su molekülünün negatif yüklerle yüklenmesine neden olur. Böyle bir çözelti sistemine elektrik alanı uygulandığı zaman, elektroforez olayı sonucu, sistemin elektrikle yüklü elemanları birbirinden ayrılır (80).

Özellikle yakın zamanlarda geliştirilen poliakrilamid jel disk elektroforezinin bu konuda çığır açtığı söylenebilir (80). Poliakrilamid jel disk elektroforezinde kullanılan jel; akrilamid monomerleri ve metilen-bis-akrilamid ile birçok kimyasal maddelerin karışımı ve bu karışımın fotopolimerizasyonu ile elde edilir (9,13,16,17,42,52,72). Kullanılan maddeler çapraz bağlanmalar sonucu, üç boyutlu bir ağ benzeri sistemin oluşmasını sağlarlar. Bu jel hazırlanırken kullanılan kimyasal maddelerin miktarları değiştirilerek, çeşitli por büyüklüğünde jeller elde edilebilir (61). Bu jellerin elektrik yükleri bakımından aynı olmaları, uygulanan maddelerin molekül ağırlıklarının gerçeğe yakın bir şekilde saptanmasına yardımcı olur. Böylece poliakrilamid jel disk elektroforezinde ayrımı yapılan maddelerin molekül büyüklükleri, moleküllerin elektrikselle yükleri ve molekül ağırlıkları saptanabilir (16,61). Lipoproteinlerin ve proteinlerin de moleküler özelliklerinin öğrenilmesinde poliakrilamid jel disk elektroforezi kullanılabilir (15, 16, 22, 42, 50, 58).

Serum lipoproteinleri fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanarak sınıflandırılmaktadır. Serum lipoproteinleri, elektrikselle yüklerine, molekül büyüklüğü ve molekül şekline bağlı olarak, poliakrilamid jel disk elektroforezi ile 4 majör fraksiyona ayrılır (22, 31, 34, 36) Farklı elektrik yüküne sahip olan lipoproteinler elektroforez

ortamında farklı mesafelere göçerek birbirlerinden ayrılırlar. Birbirlerinden ayrılmış olan bantlar halindeki lipoprotein fraksiyonları göçme hızlarına ve buldukları yere göre isimlendirilirler. Bu bantlar ölçümlenerek yüzde (%) olarak değerlendirilir ve yorumlanırlar (3). Poliakrilamid jel disk elektroforezinde lipoprotein bantları, lipoproteinleri ayırıştırıcı diğer elektroforetik metotlara nazaran daha belirgindir ve elektroforez işlemi daha kısa sürelidir (22). Normal bir bireye ait serum lipoprotein elektroforezi örneği ve dansitometrik çizimi şekil (1)'de görülmektedir.

İnsan serumu, farklı moleküler elektriksel özelliğe sahip çok sayıda protein molekülü içerir. İnsan serumunun, poliakrilamid jel disk elektroforezi ile ayrımı yapıldığında, yaklaşık olarak 10-30 farklı protein fraksiyonuna ayrıldığı görülür (9, 13, 16, 17, 56, 61). Bu protein fraksiyonlarının sayısı, o kişinin grup spesifik komponent ve haptoglobulin tipine bağlı olarak artar veya azalır (16,42).

### 2.3. Serum Lipoproteinleri Hakkında Genel Bilgiler

Lipidler suda çözünmediklerinden, kanda (sulu bir ortamda) taşınmaları, ancak proteine bağlanmakla yani lipoprotein formunda mümkündür (36). Kan serumunda bulunan lipidler; kolesterol, trigliserit, kolesterol esterleri, fosfolipid ve yağ asitleri olmak üzere beş ana sınıfa ayrılır. Yağ asitleri serum albumini ile transfer edilirken, diğer kan lipidleri serum lipoproteinleri ile taşınırlar (5, 57).

Lipoproteinler; belirli yapıya sahip bileşikler olmayıp, lipidlerin apolipoprotein denilen belirli proteinlerle bağlanmaları sonucu oluşan bileşiklerdir (36). Lipoproteinlerin protein kısmını oluşturan apolipoproteinler, özgül lipid bağlama bölgeleri içerirler. Apolipoproteinler bir seri enzimlerle ve doku reseptörleriyle ilişki içinde olup, partiküllerin anabolizma ve katabolizmasından sorumludurlar. Apo- A, B, C, D ve Apo - E olmak üzere beş temel apolipoprotein tipi ve bunların alt tipleri mevcuttur (31, 36, 67). Apolipoproteinler hakkındaki bilgilerin hızlı bir değişim göstermesinden ve bunların fonksiyonlarıyla lipoprotein çeşitleri arasındaki ilişkiden dolayı lipoproteinleri kesin bir sınıflandırmaya tabi tutmak zordur. Bununla birlikte, lipoproteinlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanarak bir sınıflandırma yapılmaktadır. Bu da lipoprotein tiplerinin

ultrasantrifügal ve elektroforetik mobiliteleri ile olmaktadır (67). Bu duruma göre serum lipoproteinlerini; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) olmak üzere dört majör sınıfa ayırarak ele almak mümkündür (1, 5, 27, 31). Bu dört temel sınıfa ek olarak orta-düzye dansiteli lipoproteinler (IDL)'in varlığından da bahsedilmektedir (67). IDL, VLDL'in karaciğerde LDL'e katabolize olduğu basamakta oluşup, kısa süre içinde LDL'e dönüştüğünden iskemik kalp hastalarında yalnızca LDL'i incelemeyi uygun gördük.

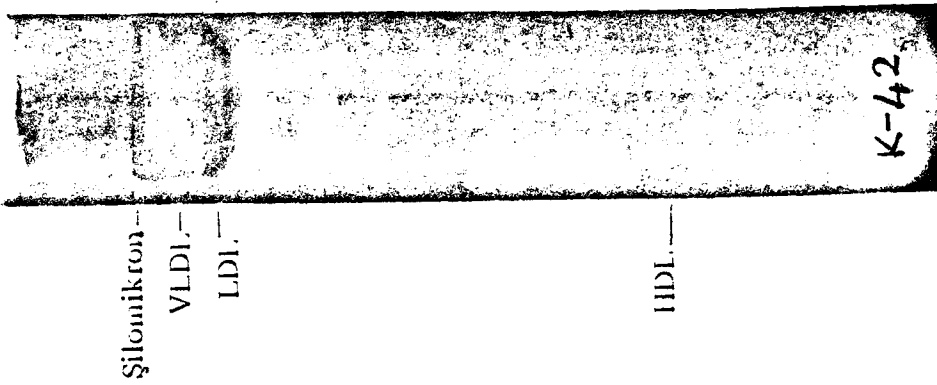
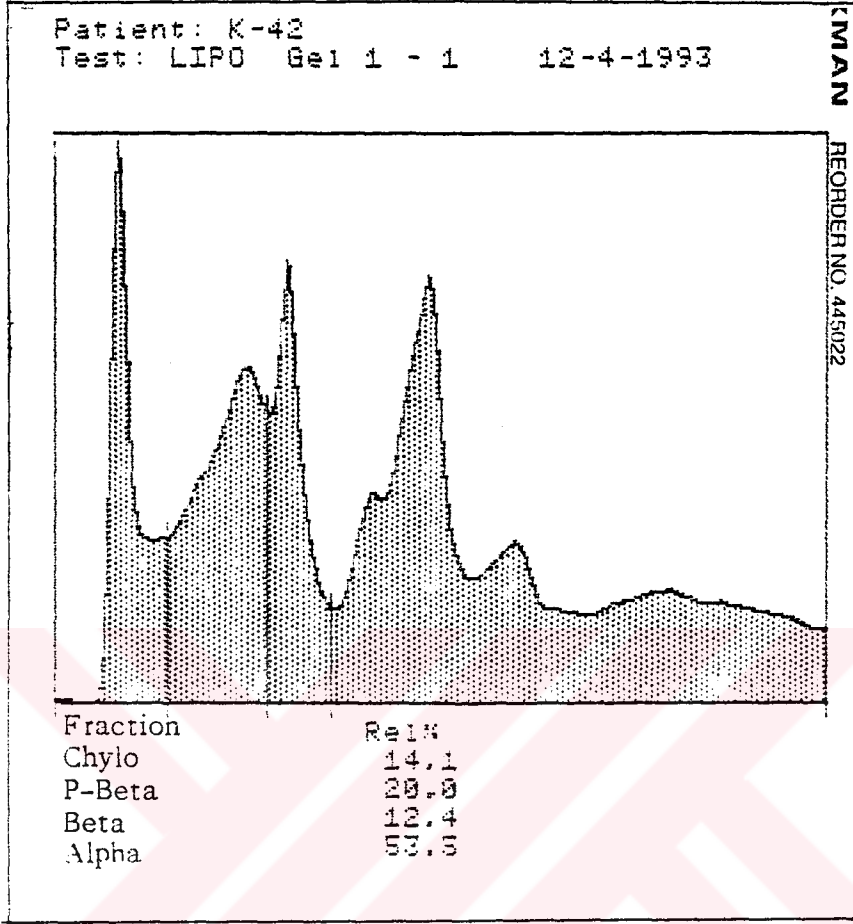
Lipoproteinlerin fizyolojik fonksiyonu ve yıkımı yalnızca suda çözünmeyen lipidlerin transportuna bağlanamaz; lipoproteinler kolesterol ve trigliserit metabolizmasında da önemli rol oynamaktadır (67,26). Bu nedenle lipoprotein tipleri ile birlikte kolesterol ve trigliseritlere de değinmek yerinde olacağından bunları tek tek inceleyelim.

**Şilomikronlar:** molekül ağırlığı  $3 \times 10^{18}$  kilo-dalton, yoğunluğu 0.93 g/ml ve elektroforetik mobilitesi orijindir. Şilomikronların %80'inden fazlasını trigliseritler oluştururken %7 fosfolipid, %7 kolesterol ve kolesterol esterleri ve % 1-2'sini proteinler oluşturur. En çok bulunan apolipoproteinler; B-48, AI, AII, AIV, ve CIII'tür (5, 57, 67).

Şilomikronlar, barsak mukozası hücreleri tarafından resorbe edilen lipidlerin transportu için oluşturulur ve lenf yoluyla taşınırlar (36,67).

Şilomikronların büyük bir kısmı yağ dokusu kapillerinden geçerken tutulurlar. Yağ hücrelerinin zarlarında bulunan lipoprotein lipaz enzimi, trigliseritlerin yağ asitleri ve gliserine hidrolizini sağlar. Hücre içersine difüze olan yağ asitleri, çeşitli metabolik yollardan gelen gliserin ile birleşerek tekrar trigliserit sentezler. Lipaz aynı zamanda fosfolipidlerin de hidrolizine yol açarak yine yağ asitlerinin açığa çıkmasını ve aynı şekilde yağ hücrelerinde depolanmasını sağlar. Böylece tüm şilomikronlar dolaşımdan tamamen ayrılarak yağ dokusunda depolanmış olurlar (30).

Normalde insan serumundaki şilomikron yüzdesi çok düşüktür. Ama özellikle yağlı bir diyetten hemen sonra kanda şilomikronların konsantrasyonu %2'ye kadar yükselebilir (29,30).



Şekil. 1. Normal bir bireye ait serum lipoprotein elektroforezi örneği ve dansitometrik çizimi.

**Cok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)**; molekül ağırlığı  $5 \times 10^6$  kilo -dalton, yoğunluğu 0.95-1.01 g/ml, elektroforetik mobilitesi pre-beta'dır ve poliakrilamid jelde şilomikronlardan daha hızlı yürür. VLDL'in %60'ı trigliserit, %15'i kolesterol ve kolesterol esterleri, %15'i fosfolipid ve %10'u da proteinlerden ibarettir (5,67). İçerdiği önemli apolipoproteinler; Apo-B100, Apo- AII ve Apo-AIII'tür (67).

Karaciğer tarafından sentezlenerek kan dolaşımına verilen VLDL, endogonik olarak adlandırılan yani karaciğer tarafından sentezlenen yağın transportunda görevlidirler (36, 67).

**Orta-Düzyey Dansiteli Lipoproteinler (IDL)**; molekül ağırlığı  $3.9 \times 10^6$  kilo-dalton, yoğunluğu 1.003 g/ml'dir ve poliakrilamid jelde VLDL'den daha hızlı yürür (5,67). IDL, %85 oranında lipid içerir ve içerdiği kolesterol ve trigliserit miktarları eşit oradadır (31). İçerdiği majör apolipoproteinler; Apo-B ve Apo-E'dir (67).

VLDL'in lipoprotein lipaz ile hidrolizinden sonra IDL oluşur. IDL'in sentezi damar içindedir. Kısa bir süre sonra IDL, yine lipoprotein lipaz enzimi aracılığıyla kolesterolce zengin LDL'e dönüşür (67).

**Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)**; molekül ağırlığı  $2 \times 10^6$  kilo-dalton, yoğunluğu 1.01-1.06 g/ml olup elektroforetik mobilitesi beta'dır Poliakrilamid jel'de pre-beta'dan daha hızlı yürür. LDL'nin %10'u kolesterol, %40'ı kolesterol esterleri, % 20'si fosfolipid, % 10'u trigliserit ve % 20'si de proteinlerden ibarettir (5,67). Total proteinin %90' ından fazlasını Apo-B teşkil eder (31).

Görüldüğü gibi LDL'de kolesterol ve kolesterol esterleri, diğer lipoprotein tiplerine nazaran daha yüksek düzeydedir. Buna karşın fosfolipid ve trigliserit düzeyleri düşüktür (36). Majör apolipoproteinleri Apo-B'dir (67).

VLDL'in karaciğerde katabolize olması sonucunda oluşan LDL, doku hücrelerine kolesterol taşımakla görevlidirler. Ökaryotik hücre membranının sentezlenmesi için kolesterole ihtiyaç vardır. Kolesterol doku hücrelerinin membran yüzeyinde bulunan özgün LDL reseptörlerine bağlanarak, endositozis yoluyla hücre içine alınır. Hücre içinde lizozim enzimleri tarafından hidroliz olan kolesterol esterleri, hücrenin ihtiyacı olan yeni sentezlenmelerde kullanılmak üzere serbest kolesterole dönüşür (51).

LDL'in konsantrasyonunun dolayısıyla kan serumundaki serbest kolesterol konsantrasyonunun yükselmesi, kan damarı çeperindeki hücrelerde kolesterol esterlerinin birikmesine neden olur. Bu durum da önce aterom oluşumuna daha sonra da aterosklerotik lezyonlara sebep olur (36,67,81)

**Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL);** ; molekül ağırlığı  $2 \times 10^5$  kilo-dalton, yoğunluğu 1.06-1.21 g/ml ve elektroforetik mobilitesi alfa'dır. HDL' in % 45-55'ini proteinler, % 30' unu fosfolipidler, % 20-25' ini kolesterol ve kolesterol esterleri oluşturur (5).

Görüldüğü gibi protein oranı en yüksek olan lipoprotein tipidir. HDL, dokular tarafından alınarak metabolize edilen LDL' den oluşurlar. Görevi fosfolipidleri ve kolesterolü dokulardan karaciğere taşımaktır (51).

HDL'in içerdiği total proteinin % 90' ını teşkil eden Apo-AI ve Apo A-II, karaciğer ve barsakta sentezlenir. Apo- AI' in aktive ettiği lesitin kolesterol asetiltransferaz enziminin etkisiyle yeni sentezlenmiş olan HDL formu plazmaya salınır. Serbest kolesterol, kolesterol esterlerine dönüşür ve HDL partikülünün dış kısmında tutunur. Bu esterler katabolizma için HDL'den VLDL'e oradan da karaciğere transfer edilir. Böylece hücre yüzeyinden ve diğer lipoproteinlerden kolesterolün geri dönüşümü kolaylaşır (6,51,67)

**Kolesterol;** yağ asidi ihtiva etmeyen, yağ asidi moleküllerinin parçalanma ürünlerinden sentezlenen ve böylece diğer lipidlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine sahip olan lipiddir (30). Serum kolesterolünün % 70'ini kolesterol esterleri teşkil eder (30,76)

Sindirim yoluyla alınan ve ekzojen kolesterol denilen kolesterolün yanısıra, endojen kolesterol adı verilen serum lipoproteinlerine bağlı olan kolesterolün hemen hepsi karaciğerde sentezlenir (30). Kolesterol biyosentezi kısaca şu şekilde olur (36,51);

Asetil - CoA → 3-hidroksi-3 metil glutaril CoA → mevalonik asit → squalene → kolesterol,

Vücuttaki tüm hücre zarlarının ve iç organel zarlarının yapısında kolesterol bulunur (30). Yapısal fonksiyonunun yanında bazı özel kullanımları da vardır. Kolesterolün vücutta en çok kullanıldığı yer karaciğerde kolik asit sentezidir. (51,67). Küçük miktarda kolesterol ise şu amaçlarla kullanılır: (a) Böbrek üstü bezlerinde adrenokortikal hormonların sentezi

için, (b) overler tarafından progesteron ve östrojen sentezi için ve (c) testisler tarafından testosteron sentezi için (30,51). Ayrıca, kolesterol diğer lipidlerle birlikte, tüm organizmada çeşitli intrasellüler fonksiyonlar için de kullanılır (30).

Serum kolesterol konsantrasyonunu etkileyen bir çok faktör vardır. Bunlar, vücut kolesterolünün retrokontrol (fidbek) mekanizmasıyla ilgilidir (30).

**Trigliserit (Triasilgliserin):** Yağ asitlerinin alkol bileşeni olan gliserin üç değerli bir alkol olduğundan mono -, di - ve triester oluşturabilir. Trigliseritler çoğunlukla iki veya üç farklı asit içerirler (36). İnsan vücudunda en sık rastlanan yağ asitleri; stearik asit, oleik asit ve palmitik asittir. Trigliseritlerin esas lipid kısmını bu yağ asitleri teşkil eder (30,67).

Trigliseritler, değişik metabolik olaylar için enerji sağlamak amacı ile kullanılırlar ve bu görevi hemen hemen karbonhidratlarla eşit şekilde paylaşırlar. Derhal enerji için kullanılacak veya glikojen şeklinde depo edilebilecek miktarlardan daha fazla karbonhidrat vücuda girecek olursa, fazlası trigliseritlere çevrilir ve bu şekilde yağ dokusunda depolanır. Karaciğerde meydana gelen trigliseritler, özellikle lipoproteinler şeklinde yağ dokuya nakledilir. Normal fizyolojik koşullarda karaciğerdeki total trigliserit miktarını, enerji için yağların kullanılma hızı tayin etmektedir (30,74).

#### **2.4.Serum Proteinleri Hakkında Genel Bilgiler**

Serum proteinleri normal bireylerde, gerek kantitatif gerekse kalitatif olarak; yaş, ısı, hamilelik gibi fizyolojik durumlar ile beslenme, cinsiyet, çevresel etkenler ve serum proteinleri genetik polimorfizmi gibi durumlarda değişim gösterir (16). Fakat bu etkenler dışında bazı hastalık durumlarında da kantitatif yönden değişimler olabilir. Bu değişim organizmada görev bozuklukları sonucu ortaya çıkabilir. Bu bozukluğun nedenini saptamak için serumdaki protein moleküllerinin durumunu incelemek gerekir (2,53 ).

Serum proteinlerinden bazılarının moleküler özellikleri şöyledir;

**Haptoglobin (Hp):** molekül ağırlığı 80.000-200.000 dalton olan % 19.3 karbonhidrat içeren ve yapısında lipid bulunmayan bir glikoproteindir (16, 23,36). Toplam olarak 734 aminoasitten oluşur (16).

Haptoglobin miktarı, bireyin yaşamı süresince bazı değişimlere uğrar. Fötal yaşamın 14-23. haftalarında dahi sentezlenmediği, doğum sonrasında ise bebeklerin ancak % 10' unda çok az miktarda bulunduğu sanılmaktadır. Normal düzeyi çocuklarda 103 (18-590) mg/100 ml, yetişkinlerde ise 147 (58-373) mg/100' dir (16).

Haptoglobinler  $\alpha$  - 2 globin yapısındadır ve hemoglobin bağlama özellikleri vardır (5, 7, 23, 36, 66). Bir çift ağır ve bir çift hafif zincirleri olup, ağır zincire Hp  $\beta$  , onaltıncı kromozoma yerleşmiş olan bir genin oluşturduğu hafif zincire ise Hp  $\alpha$  denir (7). Hafif zinciri oluşturan Hp  $\alpha$  geninin, Hp  $\alpha^1$  ve Hp  $\alpha^2$  olmak üzere iki aleli vardır (7, 16, 23, 56). Bu iki alel gen üç esas genotip oluşturur; homozigot Hp  $\alpha^1$  - Hp  $\alpha^2$  genotipi Hp 1-1 fenotipini, homozigot Hp  $\alpha^2$  - Hp  $\alpha^2$  genotipi Hp 2-2 fenotipini ve heterozigot Hp  $\alpha^2$  - Hp  $\alpha^1$  genotipi ise Hp 2-1 fenotipini oluşturur (7,16, 23, 56, 66) Nişasta jel, poliakrilamid jel ve diğer bazı ortamlardaki elektroforezle karakteristik formlar oluşturan haptoglobinlerin bilinen bu üç tipine ek olarak bazı varyantları tanımlanmıştır (7, 23).

Haptoglobin genlerinin sıklığı toplumlara göre farklılık göstermektedir. Örneğin; Avrupa'da Hp<sup>1</sup> geni sıklığı %37, Hp<sup>2</sup> geni sıklığı ise % 63, Ortadoğu'da Hp<sup>1</sup> % 28, Hp<sup>2</sup> % 72 iken Türkiye'de Hp<sup>1</sup> % 27, Hp<sup>2</sup> ise % 73 dolaylarında bulunmuştur (7,66).

**Grup Spesifik Komponent (Gc):** molekül ağırlığı 50.800-56.000 dalton olup, % 4.2 karbonhidrat içeren, yapısında lipid bulunmayan bir glikoproteindir (16). 434 aminoasitten oluşan bir polipeptit zincirinden ibarettir (16, 35).

Grup spesifik komponentin sentezi karaciğerde yapılmakta olup (16, 23, 35), bu proteinin sentezinden sorumlu olan genler dört numaralı kromozom üzerinde bulunmaktadır (16). Sentezi fötal yaşamın 10. haftasında başlar (16, 23), miktarındaki artış doğumdan altı ay sonrasına kadar devam eder ve sonra normal düzeye erişir. (16). Normal düzeyi çocuklarda 25 (15-35) mg/100 ml, yetişkinlerde ise 27 (17-38) mg/100 ml'dir (16). Karaciğer hastalıklarında ise grup spesifik komponent miktarı azalmaktadır (23).

Grup spesifik komponentin , Gc 1-1, Gc 2-1 ve Gc2-2 olmak üzere üç fenotipi tanımlanmıştır. Bu fenotipler Gc<sup>1</sup> ve Gc<sup>2</sup> olmak üzere iki otozomal kodominant alel ile saptanır (23, 25, 28, 33, 35, 56, 66) Tüm toplumlarda Gc<sup>1</sup> geni frekansı Gc<sup>2</sup> geni frekansından yüksektir (66). Grup spesifik komponentin sıklıkla ortaya çıkan Gc<sup>1</sup> ve Gc<sup>2</sup>

alellerine ek olarak çok sayıda ama nadiren görülen varyantları da bulunur (33, 35).

Grup spesifik komponentin fenotipleri, immüno-fiksasyon elektroforezi (33), nişasta jel, poliakrilamid jel ve agaroz jel elektroforezi (35) ile analiz edilebilir.

Bu proteinin D vitamini bağlama ve taşıma görevi olduğu bilinmektedir (16,35).

**Transferrin (Tf):** molekül ağırlığı 80.000 dalton (7,36) elektroforetik mobilitesi 3.1 (16) olan  $\beta$  globin karakterinde bir serum proteinidir (11, 23, 36). Yapısında lipid bulunmaz, % 5.87 karbonhidrat içerir ve toplam olarak 827 aminoasitten oluşur (16, 23, 36).

Fötal yaşamın 8. haftasında sentezlenmeye başlayan transferrin, doğumda normal erişkin düzeye ulaşır. Sentezi çoğunlukla karaciğerde olmasına rağmen eser miktarda dalak, lenf düğümleri ve kemik iliğinde de yapılmaktadır (16). Transferrin sentezinden sorumlu genler üç numaralı kromozom üzerinde bulunur (7,16). Transferrinin serumdaki normal konsantrasyonu 200-400 mg/100 ml'dir (7, 36).

Smithies ve Hiller'in 1959'da yaptıkları çalışmaların sonucunda transferrinlerin aynı loküste bulunan  $Tf^B$ ,  $Tf^C$ ,  $Tf^D$ , olarak adlandırılan 3 tane otozomal ve ortaklaşa dominantlık gösteren alel genler tarafından üretilen B, C ve D olmak üzere 3 transferrin molekülünün olduğunu ileri sürmüşlerdir (7,23). Bu araştırmacılar tarafından transferrinle ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu üç transferrin tipinin birçok varyantı bulunmuştur. Son zamanlarda yapılan polimorfik çalışmalar, tek bir otozomal loküste bulunan 18 alel gen tarafından, teorik olarak oluşması mümkün olan 171 tane transferrin fenotipinin olduğunu göstermektedir (11, 23). Bunlardan yalnızca 21'i heterozigot ve 7'si homozigot olmak üzere 28 fenotip elektroforezle gösterilmiştir (23). Sıklıkla görülen  $Tf^{CC}$  fenotipidir. Avrupa popülasyonunda  $Tf^{CC}$  fenotipi % 99'dan fazla, diğer popülasyonlarda ise % 90'ın üzerindedir (11).

Biyolojik fonksiyonu demir iyonlarını bağlamak ve reseptör hücrelere taşımaktır (7, 11, 16, 23, 36). Bunun yanı sıra bakır ve çinko iyonlarının da reseptör hücrelere taşınmasında rol oynar (16).

**Seruloplazmin (Cp):** Serumdaki bakırın % 90'ından daha fazlasını içeren bir globindir, ilk defa Holmberg ve Laurell tarafından 1948'de tanımlanmıştır (23, 43, 66).

Molekül ağırlığı 160.000 dalton, elektroforetik mobilitesi 4.6 olan seruloplazmin, yapısında lipid içermez ve % 8'i karbonhidrattır (16, 36). Her seruloplazmin molekülü 8 tane bakır atomu içerir. Toplam olarak 1301 amino asitten oluşmuştur (16, 23).

Seruloplazmin miktarı, bireyin yaşamı süresince bazı değişimlere uğrar. Çoğu durumlarda döllenenin yaklaşık 4-5. haftalarında yalnızca karaciğerde sentezlenmeye başlar. Fötal serumda 17. haftada bellibelsiz ortaya çıkar. fakat 24. haftada açıkça gözlenir. Dölleneden sonra 27 haftalık dönem süresince seruloplazmin düzeyi 4.6 - 15.5 mg/100 ml arasında değişir. Yeni doğmuşlarda, doğum sonrasında ilk altı ayda bir azalış olur. Bu dönemde düzeyi normal erişkin düzeyin 1/3'ü seviyesindedir. Anne serumu ile oranlandığında düzeyinin 1/5'i - 1/10'u seviyesinde olduğu görülür. Bir yaşına doğru normal düzeyine ulaşır (16) . Normal düzeyi çocuklarda 27 (10 - 70) mg/100 ml, yetişkinlerde ise 21 (9 - 51) mg/100 ml'dir (16).

Shreffler ve Shokeir 1967'de yaptıkları araştırmada, nişasta jel elektroforezi ile 7 tane seruloplazmin fenotipi (CpA , CpAB , CpAC, CpB , CpBC , CpB-NH , CpA-NH ) tanımlamışlardır. Daha sonra bu elektroforetik formlar poliakrilamid jel disk elektroforezi ile elde edildi. Bu 7 fenotip aynı loküste bulunan 4 alel gen ( Cp<sup>A</sup>, Cp<sup>B</sup>, Cp<sup>C</sup>, Cp<sup>NH</sup>) ile kontrol edilir (23, 43, 66). Çeşitli toplumlarda yapılan araştırmalara göre; Cp<sup>B</sup> geni frekansı tüm toplumlarda çok yüksek olup, frekansı en düşük olan gen ise Cp<sup>C</sup> genidir. Örneğin; Avrupa' da Cp<sup>B</sup> geni frekansı 0.9856, Cp<sup>A</sup> geni frekansı 0,0136 ve Cp<sup>C</sup> geni frekansı ise 0.0008'dir. Orta Doğu, Afrika ve Amerika'da da Avrupa popülasyonuna yakın sonuçlar tespit edilmiştir (66).

Seruloplazmin karaciğerde sentezlenip, bakır metabolizmasında rol almaktadır ve oksidaz aktivitesine sahiptir (16, 23, 25, 36, 43,64).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

Gaziantep S.S.K. Hastanesi Dahiliye Kliniği, S.B. Gaziantep Devlet Hastanesi Kalp ve Koroner Yoğun Bakım Merkezi ve aynı hastanenin 3. Dahiliye Polikliniği'nde yatmakta olan, klinik tanıları konmuş ve tedavilerine başlanmış olan yaşları 40-67 arasında değişen 24'ü erkek, 26'sı kadın olmak üzere toplam 50 iskemik kalp hastası incelendi. Hastalardan; boy, kilo, meslek, diyabet, hipertansiyon, ailede iskemik kalp hastalığı görülen birey sayısı, teşhis edilmiş başka bir hastalık ile sigara, alkol ve egzersiz yapma alışkanlıklarına ilişkin bilgiler alındı.

Kontrol grubu olarak; sigara içmeyen, sürekli ilaç ve alkol kullanmayan, sağlıklı, yaşları 40-65 arasında değişen 28 kadın, 22 erkek olmak üzere toplam 50 gönüllü birey incelendi.

12 saat aç kalmış bireylerin her birinden 5 ml venöz kan alındı. Alınan kanlar pıhtılaşması için 1 saat bekletildikten sonra santrifüj edilerek serumları elde edildi (22,62). Serumlar + 4 °C'de korunarak 48 saat içinde tüm çalışmalar yapıldı ( 3, 47, 62).

#### **3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

- a. Acrylamide ( Sigma A-3553 )
- b. N-N'- Methylenebisacrylamide ( Sigma M- 7256 )
- c. Tris- [Hydroxymethyl] aminomethane (Sigma T- 1503)
- d. TEMED (N-N-N'-N'- Tetramethylethylenediamine) (Merck)
- e. Ammonium Persulfate ( Sigma A-3678)
- f. Glycine ( Sigma G-8898 )
- g. Riboflavin ( Sigma R-4500 )
- h. Sucrose (Merck )
- ı. Sodium Chloride (Merck )

- i. Acetone (Merck )
- j. Na<sub>2</sub> EDTA ( Sigma)
- k. 2- Mercaptoethanol ( Merck )
- l. Hydrochloric Acid ( Merck )
- m. Cholesterol Enzymatic/250 ( Cromatest-B279 )
- n. HDL Cholesterol (Cromatest - B281)
- o. Triglycerides Enzymatic- FAP/250 ( Cromatest-B228 )
- ö. Cholesterol - Triglycerides Standard (Cromatest - B227)
- p. Ethanol ( Merck )
- r. Glassial Acetic Acid ( Merck )
- s. Hydrogen Peroxide Solution % 35 ( Merck )
- ş. Bromphenol Blue ( Merck )
- t. Lipid Crimson ( Sigma L- 6396)
- u. O-Dianisidine ( Sigma D-9143 )
- ü. Amidoschwarz 10B ( Merck )
- v. Parafilm "M" ( Sigma P-7668 )
- y. Filtre Kağıdı (Toyo Roshi Co., Ltd. )

### **3.1.2. Kullanılan Solüsyonlar**

Çalışmada kullanılan solüsyonların hepsi distile su ile hazırlandıktan sonra kahverengi cam şişelerde + 4 °C' de bir kaç hafta süreyle saklandı ( 13, 22).

#### **3.1.2.1. Stok Solüsyonlar**

Serum proteinleri için aşağıda belirtilen 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 numaralı solüsyonlar hazırlandı. Serum lipoproteinleri için farklı olarak A,B ve C solüsyonları hazırlandı.

#### **1 Nolu Solüsyon**

48 ml .....1N HCL

36.6 gr .....Tris

0.23 ml .....TEMED

Distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

**2 Nolu Solüsyon**

28.8 gr ..... Acrylamide

0.735 gr.....Bisacrylamide

Distile su ile 100 ml 'ye tamamlandı.

**3 Nolu Solüsyon**

0.14 gr ..... Ammonium Persulphate

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**4 Nolu Solüsyon**

48 ml .....1N HCL

5.98 gr .....Tris

0.46 ml .....TEMED

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**5 Nolu Solüsyon**

10 gr ..... Acrylamide

2.5 gr .....Bisacrylamide

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**6 Nolu Solüsyon**

4 mg .....Riboflavin

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**7 Nolu Solüsyon**

40 gr ..... Sucrose

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**A Solüsyonu**

24 ml ..... 1N HCL

18.8 gr .....Tris

0.12 ml .....TEMED

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **B Solüsyonu**

15 gr .....Acrylamide  
0.40 gr .....Bisacrylamide  
Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **C Solüsyonu**

8 mg ..... Riboflavin  
Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **3.1.2.2. Çalışma Solüsyonları**

Çalışma solüsyonları serum lipoproteinleri ve serum proteinleri için ayrı ayrı olmak üzere kullanılmadan hemen önce hazırlandı.

#### **3.1.2.2.1. Serum Lipoproteinleri Çalışma Solüsyonları**

##### **1. Ayırıcı Jel Solüsyonu**

1 Hacım..... A Solüsyonu  
1 Hacım .....B Solüsyonu  
2 Hacım.....3 Nolu Solüsyon

##### **2. Ara Jel Solüsyonu**

1 Hacım.....4 Nolu Solüsyon  
2 Hacım..... 5 Nolu Solüsyon  
1 Hacım.....C Solüsyonu  
4 Hacım .....7 Nolu Solüsyon

#### **3.1.2.2.2. Serum Proteinleri Çalışma Solüsyonları**

##### **1. Ayırıcı Jel Solüsyonu**

1 Hacım.....1 Nolu Solüsyon  
2 Hacım .....2 Nolu Solüsyon  
1 Hacım.....Distile su  
4 Hacım ..... 3 Nolu Solüsyon

## **2. Ara Jel Solüsyonu**

1 Hacım .....	4 Nolu Solüsyon
2 Hacım.....	5 Nolu Solüsyon
1 Hacım .....	6 Nolu Solüsyon
4 Hacım .....	7 Nolu Solüsyon

### **3.1.2.3. Tampon Solüsyon ( Buffer Solüsyon )**

6 gr .....	Tris
28.8 gr.....	Glycine

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

### **3.1.2.4. Hemolize Edici Solüsyon**

10 ml .....	Na <sub>2</sub> EDTA ( 0.27 mol/L )
0.05 ml.....	2- Mercaptoethanol

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

### **3.1.2.5. Boya Solüsyonları**

Serum lipoprotein bantlarını ve serum proteinleri bantlarını tespit eden boya solüsyonları ayrı ayrı hazırlandı.

#### **3.1.2.5.1. Lipoprotein Bantları Boyama-Tespit Solüsyonu**

3 gr .....	Lipid Crimson
600 ml .....	% 95'lik Ethanol
400 ml .....	Distile su

Solüsyon hazırlandıktan sonra bir hafta süre ile ışık görmeyen bir ortamda bekletildi ve bir hafta sonunda filtre edilerek, kullanılmak üzere kahverengi cam şişede saklandı (42)

**3.1.2.5.2. Haptoglobin Bantları Boyama-Tespit Solüsyonu**

- 0.9 ml..... Hydrogen Peroxide Solüsyonu (% 35)  
150 ml ..... Oxidase Boyası  
10 ml ..... Distile su

Boya solüsyonu kullanılmadan hemen önce hazırlandı.

**3.1.2.5.3. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Bantları Boyama-Tespit Solüsyonu**

- 1 gr..... Amidoschwarz  
100 ml ..... Acetic Acid ( % 7)

**3.1.2.5.4. Seruloplazmin Bantı Boyama-Tespit Solüsyonu (Oxidase Boyası )**

- 2 gr .....o- Dianisidine  
5 ml .....Glassial Acetic Acid

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Hazırlanan boya solüsyonu (oxidase boyası ) filtre edilerek kahverengi cam şişede, 2-8°C'de saklandı.

**3.1.2.6. Jel Yıkama - Jel Saklama Solüsyonu**

- 70 ml ..... Glassial Acetic Acid  
100 ml ..... Distile su

**3.1.3. Kullanılan Araçlar**

- Elektroforez aygıtı, jel tüpleri (80 x 4.5 mm ). lastik tıkaçlar, jel hazırlama aparatı ve flouresans lambalı ışık kaynağı (Hoefer Scientific Instruments)
- Güç kaynağı (Hoefer Scientific Instruments ).
- Dansitometre (Beckman, Appraise Densitometer)
- Etüv (Nüve ES 500)
- Santrifüj (Hermle Z 320)

- f. Spektrofotometre (Pharmacia LKB-Ultraspec II)
- g. Elektronik tartım cihazı ( Shimadzu, LIBROR AEU-210)
- h. pH metre (NEL)
- ı. Manyetik karıştırıcı (Nüve MK 318)
- i. Distile su cihazı (Nüve NS 245)
- j. Mikropipet (Lafopette)
- k. Mikroenjektör (Hoefer Scientific Instruments-SY5ORN)

### **3.2. YÖNTEM**

#### **3.2.1 Serum Total Kolesterol,Trigliserit ve HDL-Kolesterol Konsantrasyonlarının Saptanması**

Normal ve iskemik kalp hastası bireylere ait serumların total kolesterol, trigliserit ve HDL-kolesterol miktarlarının saptanmasında spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

Spektrofotometrik yöntem; kimyasal maddelerin ışık vasıtasıyla analizinin yapıldığı bir laboratuvar metodudur. Kimyasal maddeler ışığın bir kısmını absorbe eder, bir kısmını geçirir. Herhangi bir maddenin absorbe edeceği ışığın dalga uzunluğu, o maddenin kimyasal yapısına bağlıdır.Bundan yararlanılarak bir maddenin absorbe edeceği ışığın dalga uzunluğundan o maddenin cinsi saptanabilmektedir. Kimyasal maddelerin absorbe edeceği ışığın miktarı ise, ışığı absorbe eden madde miktarı ile doğru orantılıdır. Bu "Beer" kanunu ile ifade edilir. Bu kanun kantitatif analizler için spektrofotometrik metotların esasını oluşturur (45).

##### **3.2.1.1. Serum Total Kolesterol Konsantrasyonunun Saptanması**

Serum total kolesterol konsantrasyonunun saptanmasında, enzimatik-kolorimetrik (Allain) metoda uygun olarak Cromatest (Knickerbocker lab., S.A.E.) tarafından imal edilmiş kolesterol enzimatik/250 (kod. B279) kitinin prosedürüne göre hazırladığımız çalışma ayıraçları kullanıldı. Serum total kolesterol miktarının saptanmasında aşağıdaki yol izlendi:

1- Hazırlanan çalışma ayıracından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu ve 500 nm dalga boyunda absorbands ayarı yapıldı.

2- Hazırlanan çalışma ayıracından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu ve üzerine 20 mikro-litre standart solüsyon (Cromatest, B227, 200 mg/100 ml kolesterol-trigliserit standardı) bırakıldı. Standart solüsyonun ayıraç içinde homojen dağılımı sağlandıktan sonra 37° C'de 5 dakika bekletildi. Bu süre sonunda 500 nm dalga boyunda standart deney absorbands değeri okundu.

3- Hazırlanan çalışma ayıracından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu ve üzerine 20 mikro-litre total kolesterol miktarı saptanacak serumdan bırakıldı. Serum örneğinin ayıraç içinde homojen dağılımı sağlandıktan sonra 37° C de' 5 dakika bekletildi. Süre sonunda 500 nm dalga boyunda deney absorbands değeri okundu. Elde edilen değerler aşağıdaki formüle uygulanarak total kolesterol miktarı (mg/100 ml) saptandı (Cromatest kit prosedürüne uygun olarak).

$$\text{Total kolesterol miktarı (mg/100 ml)} = \frac{\text{Deney absorbands değeri}}{\text{Standart deney absorbands değeri}} \times 200$$

### 3.2.1.2. Serum Trigliserit Konsantrasyonunun Saptanması

Serum trigliserit miktarının saptanmasında, enzimatik-kolorimetrik (GPO/PAP) metoda uygun olarak Cromatest (Knickerbocker lab., S.A.E.) tarafından imal edilmiş trigliserit- enzimatik -FAP/250 (kod.B228) kit prosedürüne göre hazırladığımız çalışma ayıracı kullanıldı. Serum trigliserit miktarının saptanmasında aşağıdaki yol izlendi:

1- Hazırlanan çalışma ayıracından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu ve 500 nm dalga boyunda absorbands ayarı yapıldı.

2- Hazırlanan çalışma ayıracından 2.0 ml spektrofotometre test küpüne kondu ve üzerine 20 mikro - litre standart solüsyon (Cromatest B227,200 mg/100 ml kolesterol trigliserit standardı) bırakıldı. Standart solüsyonun ayıraç içinde homojen dağılımı sağladıktan sonra 37° C de 5 dakika bekletildi. Bu süre sonunda 500 nm dalga boyunda standart deney absorbands değeri okundu

3- Hazırlanan çalışma ayırıcından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu ve üzerine 20 mikro - litre trigliserit miktarı saptanacak serumdan bırakıldı. Serum örneğinin ayıraç içinde homojen dağılımı sağlandıktan sonra 37<sup>0</sup> C'de 5 dakika bekletildi. Süre sonunda 500 nm dalga boyunda deney absorbans değeri okundu

Elde edilen değerler aşağıdaki formüle uygulanarak serum trigliserit miktarı (mg/100 ml) saptandı (Cromatest kit prosedürüne uygun olarak).

$$\text{Trigliserit miktarı (mg/100 ml)} = \frac{\text{Deney absorbans değeri}}{\text{Standart deney absorbans değeri}} \times 200$$

### 3.2.1.3.Serum HDL-Kolesterol Konsantrasyonunun Saptanması

Serum HDL-kolesterol konsantrasyonunun saptanmasında, enzimatik-kolorimetrik (Burnstein) metoda uygun olarak Cromatest (Knickerbocker lab.,S.A.E.)tarafından imal edilmiş kolesterol enzimatik/250 (kod.B279) kit prosedürüne göre hazırladığımız çalışma ayıraçları kullanıldı. HDL-kolesterol miktarının saptanmasında aşağıdaki yol izlendi:

1- Standart hazırlanışı : 2.0 ml distile su üzerine 0.5 ml kolesterol standardı (200 mg/100 ml) eklendi ve karıştırıldı.2-10<sup>0</sup> C'de saklanmak suretiyle 1 ay süre ile kullanıldı.

2- Süpernatant hazırlanışı : Oda sıcaklığına (18-25<sup>0</sup> C) getirilmiş olan serum örneğinden 0.5 ml bir santrifüj tüpüne kondu ve üzerine 0.5 ml "precipitating reagent" eklendi. Bu ayıraç serum örneği üzerine yavaş yavaş ve tüp sallanarak bırakıldı. Karışım 4000 xg'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

3- Hazırlanan çalışma ayırıcından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu ve üzerine 100 mikro-litre distile su eklenerek 500 nm dalga boyunda absorbans ayarı yapıldı.

4- Hazırlanan çalışma ayırıcından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu, üzerine 100 mikro-litre süpernatant eklenerek homojen dağılım sağlandı. 37 °C'de 5 dakika bekletildikten sonra deney absorbans değeri okundu.

5- Hazırlanan çalışma ayırıcından 2.0 ml spektrofotometre test tüpüne kondu, 100 mikro-litre standart (40 mg/100 ml) eklenerek homojen bir dağılım sağlandı 37<sup>0</sup> C'de 5

dakika bekletildikten sonra 500 nm'de standart deney absorbands değeri okundu.

Elde edilen değerler aşağıdaki formüle uygulanarak serum HDL-kolesterol miktarı (mg/100 ml) saptandı (Cromatest kit prosedürüne uygun olarak).

$$\text{HDL - kolesterol miktarı (mg/100 ml)} = \frac{\text{Deney absorbands değeri}}{\text{Standart deney absorbands değeri}} \times 80$$

#### **3.2.1.4. Serum LDL-Kolesterol ve VLDL- Kolesterol Değerlerinin Saptanması**

Serum LDL ve VLDL-kolesterol değerleri Friedewald formülünden aşağıdaki gibi hesaplanmıştır. (15, 40, 41, 47, 54, 62, 76, 79).

$$\text{VLDL - kolesterol (mg/100 ml)} = \frac{\text{Trigliserit miktarı}}{5}$$

$$\text{LDL-Kolesterol} = \text{Total - kolesterol} - (\text{HDL-kolesterol} + \text{Trigliserit}/5)$$

#### **3.2.2. Poliakrilamid jel Disk Elektroforezi Uygulaması**

Normal ve iskemik kalp hastası bireylere ait serum örneklerinde haptoglobin, grup spesifik komponent, transferrin ve seruloplazmin tiplerinin tesbiti için; ilk defa Davis (13) ve Ornstein (52) tarafından kullanılan ve daha sonra bir çok araştırmacının (9, 16, 20, 25, 28, 42, 43, 56, 61, ) kullanmış olduğu "poliakrilamid jel disk elektroforezi" yöntemi kullanıldı.

Serum lipoproteinlerinin belirlenmesinde de yine aynı yöntem kullanıldı. Serum lipoproteinlerinin poliakrilamid jel disk elektroforezi ile ayrımı ilk defa Narayan (50) tarafından yapılmış olup, daha sonra birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (15, 17, 22, 42, 58).

### **3.2.2.1. Jel Tüplerinin Temizlenmesi**

Boyutları 80 x 5 mm olan jel tüpleri, ucuna bir miktar pamuk sarılmış tel yardımıyla bol deterjanlı su ile yıkandı. Bu şekilde yıkanmış olan jel tüpleri, içerisinde kimyasal temizleyicilerin bulunduğu bir behere alınarak bekletildi. Daha sonra jel tüpleri bir çok kere distile su ile yıkandı ve etüvde kurutuldu.

### **3.2.2.2. Jel Tüplerinde Jellerin Hazırlanması**

Temizlenmiş ve etüvde kurutulmuş jel tüpleri alt kısımlarına parafilm sarılarak jel hazırlama aparatına yerleştirildi. Önceden hazırlanmış olan stok solüsyonlar, lipoproteinler ve serum proteinleri için ayrı ayrı olarak üzere, aşağıdaki oranlarda karıştırılarak "Ayırıcı jel Solüsyonu" hazırlandı.

Serum Lipoproteinleri için ;

- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| 1 Hacım.....  | A Solüsyonu     |
| 1 Hacım ..... | B Solüsyonu     |
| 2 Hacım ..... | 7 Nolu Solüsyon |

Serum Proteinleri için;

- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| 1 Hacım ..... | 1 Nolu Solüsyon |
| 2 Hacım ..... | 2 Nolu Solüsyon |
| 1 Hacım ..... | Distile su      |
| 4 Hacım ..... | 3 Nolu Solüsyon |

İki farklı ayırıcı jel solüsyonu hazırlandıktan sonra, serum örneklerinin uygulama basamağına kadar her iki solüsyon için aynı işlem uygulandı.

Ayırıcı jel solüsyonu, bir enjektör yardımıyla jel tüplerine doldurulup boşaltıldı. Bu işlem sayesinde jel tüplerinin iç yüzeylerinin yıkanması sağlandı. Daha sonra her bir tüpe 6 cm yüklendiğinde ayırıcı jel solüsyonu dolduruldu, tüplerin solüsyon seviyelerinin aynı

olması sağlandı. Bu işlem tamamlanınca ince uçlu bir Pasteur pipeti yardımı ile solüsyon üzerine damla damla distile su akıtılarak, solüsyonun hava ile temasını önlemek amacıyla jel solüsyonu üzerinde yaklaşık 1 cm'lik bir su tabakası oluşturuldu. Jel tüpleri flouresans lambalı ışık kaynağı karşısında fotopolimerizasyon için 60 dakika bekletildi. Süre sonunda jelleşmenin tam olabilmesi için tüpler 5 dakika buzdolabında bekletildi. Jel oluşumu tamamlandığında önceki su- jel sınırının 1 - 2 mm altında yeni bir sınırın oluştuğu gözlemlendi. Daha sonra jel tüpleri üzerine bırakılan su bir enjektör ve adsorban kağıt yardımıyla alındı. Suyu alınan jel üzerine " ara jel " solüsyonu bırakıldı. Ara jelin por genişliği ayırıcı jele nazaran daha fazladır. Bu jel solüsyonunun hazırlanmasında kullanılan stok solüsyonların karıştırılma oranları serum lipoproteinleri ve serum proteinleri için ayrı ayrı olmak üzere şu şekildedir;

Serum Lipoproteinleri için;

1 Hacım .....	4 Nolu Solüsyon
2 Hacım .....	5 Nolu solüsyon
1 Hacım .....	C Solüsyonu
4 Hacım .....	7 Nolu solüsyon

Serum Proteinleri İçin;

1 Hacım .....	4 Nolu Solüsyon
2 Hacım .....	5 Nolu Solüsyon
1 Hacım .....	6 Nolu Solüsyon
4 Hacım .....	7 Nolu Solüsyon

Yine iki farklı solüsyon için aynı işlem uygulandı. Hazırlanan ara jel solüsyonu önce ayırıcı jel üzerine bir miktar bırakılarak, tekrar alındı ve bu kısmın ara jel solüsyonu ile yıkanması sağlandı. Daha sonra her jel tüplerine 1 cm yüksekliğinde ara jel solüsyonu bırakılarak daha önceki jelde olduğu gibi üzerine distile su bırakılarak 40 dak. süreyle flouresans lambalı ışık kaynağı karşısında fotopolimerizasyona bırakıldı. Süre sonunda jel

tüpleri 5 dak. süreyle buzdolabında bekletildi. Sonuçta yine belirgin bir su - jel sınırı gözlemlendi. Su tabakası daha önce anlatıldığı şekilde alınarak , örneklerin uygulanması için gerekli olan jel hazırlanmış oldu.

### **3.2.2.3. Jellerin Üzerine Serum Örneklerinin Uygulanması**

Steril bir enjektörle alınan venöz kan santrifüj tüpüne boşaltıldı ve pıhtılaşması için bir süre bekletildikten sonra 2000 xg'de 15 dak. santrifüj edildi. Bu işlem sonunda elde edilen serumlar bir mikropipet yardımıyla 5 ml'lik kapaklı tüplere alınarak elektroforez işlemi için hazırlanmış oldu. Jel üzerine serum örneklerinin uygulanması, serum lipoproteinleri, grup spesifik komponent ile transferrin ve haptoglobin ile seruloplazmin bantlarının tespiti için farklı şekilde aşağıdaki gibi yapıldı.

#### **3.2.2.3.1. Serum Lipoproteinleri İçin Örnek Uygulanması**

Serum lipoproteinleri için hazırlanmış olan geniş porlu jel üzerine bir mikroenjektör yardımıyla 20 mikro - litre serum ve 30 mikro litre sukroz solüsyonu (7 nolu solüsyon) sırasıyla bırakıldı. Serum jel üzerine bırakılırken mikroenjektörün ucu jelden 1 - 2 mm uzaklıkta ve jelin tam merkezine gelecek şekilde tutulmasına özen gösterildi. Aksi takdirde bantların düzgün olmadığı gözlemlendi. Daha sonra bir Pasteur pipeti ile tüpler doluncaya kadar buffer solüsyon (tampon solüsyon) eklendi. Bu solüsyon damla damla bırakıldı. Böylece jel tüpleri elektroforez işlemi için hazırlanmış oldu.

#### **3.2.2.3.2. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Bantlarının Tespit Edilmesi İçin Örnek Uygulanması**

Serum proteinleri için hazırlanmış olan jel üzerine yine mikroenjektör ile sırasıyla 10 mikro - litre serum örneği, indikatör olarak 5 mikro - litre bromphenol blue boyası (% 1'lik ) ve 30 mikro - litre sukroz solüsyonu (7 nolu solüsyon) bırakıldı. Son olarak yukarıda anlatıldığı gibi buffer solüsyon (tampon solüsyonu) eklendi.

### **3.2.2.3.3. Seruloplazmin ve Haptoglobin Tiplendirmesi için Örnek Uygulanması**

3.2.2.3.2.'de anlatılan işlemlerin aynısı uygulandı. Farklı olarak, serum örnekleri eklendikten sonra daha önceden hazırlanmış olan hemolizat (19) örneğinden 20 mikro - litre eklendi.

### **3.2.2.4. Elektroforez İşlemi**

Serum lipoproteinleri ve proteinleri için farklı akım uygulanacağından farklı zamanlarda elektroforez işlemine tabi tutuldu. Bunun dışında yapılan işlemlerin tümü aynı şekilde uygulandı.

Elektroforez için hazırlanmış olan jel tüpleri jel hazırlama aparatından alınarak, altındaki parafilm çıkarıldı ve tüpler elektroforez aygıtına yerleştirildi. Önceden hazırlanarak buzdolabında korunan tampon solüsyondan (buffer solüsyon) 2.5 lt. cihazın alt bölümüne, 1 lt. üst bölümüne kondu. Tampon solüsyonun, tüplerin alt ve üst yüzeyi ile ve de akım geçecek elektrotlarla teması sağlandı. Bu sırada tüplerin alt ve üst yüzeylerinde hava kabarcıklarının olmamasına dikkat edildi.

Serum proteinleri için her bir tüpe 3 mA'lık akım uygulandı. Elektroforez işlemi sırasında bromphenol blue boyasının ilerleyişi zaman zaman kontrol edildi. Boya jel tüpünün alt kısmına 2 - 3 mm yaklaşınca akım kesildi.

Serum lipoproteinleri için her bir tüpe 2 mA'lık akım uygulandı. Elektroforez işlemi devam ederken, gözlenen sarı bir bantın ilerleyişi zaman zaman kontrol edildi. Sarı bant jel tüpünün alt kısmına 2 - 3 mm yaklaşınca akım kesildi.

Akım kesildikten sonra jel tüpleri elektroforez aygıtından çıkarıldı. 10 ml'lik bir enjektör yardımıyla jel ile tüp arasına su sıkılarak aynı zamanda jel tüpü sağa - sola çevrilerek jellerin tüplerden çıkarılma işlemi tamamlandı.

### **3.2.2.5. Serum Lipoprotein Bantlarının Boyanması**

Önceden hazırlanmış olan lipoprotein boyama solüsyonu (Lipid Crimson Boyası) içersine bırakılan jeller 16-17 saat (1 gece) ışık almayan bir ortamda bekletildi. Bu sürenin sonunda boyanmış olan lipoprotein bantları gözlendi. Boya içinden alınan jeller jel yıkama-

saklama solüsyonu (%7'lik asetik asit) içine bırakılarak değerlendirilmek üzere buzdolabında saklandı (13,42).

### **3.2.2.6. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Bantlarının Boyanması**

Daha önceden hazırlanmış olan % 1'lik amidoschwarz boyası içersine bırakılan jeller 10 dak. bekletildi. Bu süre sonunda jeller tamamen boyandığından grup spesifik komponent ve transferrin bantlarının gözlenebilmesi için fazla boyanın çıkarılması gerekti. Bunun için jeller jel yıkama-saklama solüsyonu (% 7'lik asetik asit) içersinde 1-2 gün bekletildi. Bu süre boyunca solüsyon bir kaç kez değiştirildi. Bu işlem tamamlandığında bantlar gözle görülebilir duruma geldi ve değerlendirilmek üzere aynı solüsyon içersine konularak buzdolabında saklandı (13).

### **3.2.2.7. Haptoglobin Tiplerinin Belirlenmesi**

Haptoglobin tiplerinin belirlenmesi için gerekli olan boya solüsyonu (Peroxidase boyası) daha önce anlatıldığı gibi kullanılmadan hemen önce hazırlandı. Jeller peroxidase boyası içersinde 10 dak. bekletildikten sonra haptoglobin tipleri gözlenerek belirlendi. Bu jeller distile su içersine alınarak buzdolabında saklandı (43).

### **3.2.2.8. Seruloplazmin Bantının Boyanması**

Daha önce anlatıldığı gibi, önceden hazırlanan oxidase boyası seruloplazmin bantının boyanmasında kullanıldı. Oxidase boyası içersine bırakılan jeller 16-17 saat (1gece) 37 °C 'lik etüvde bekletildi. Bu süre sonunda seruloplazmin bantı belirgin şekilde gözlendi. Distile su içersine alınan jeller değerlendirilmek üzere buzdolabında saklandı (43).

### **3.2.3. Değerlendirmeler**

#### **3.2.3.1. Kalitatif Değerlendirme**

Çalışmamızda incelemiş olduğumuz serum proteinlerinin (haptoglobin, grup spesifik komponent, transferrin ve seruloplazmin) fenotipleri, jel üzerindeki bantların literatür bilgilerine göre değerlendirilmesiyle tespit edildi (8, 11, 16, 20, 23, 24, 25, 28, 33, 35, 37,

43, 44, 53, 56, 61, 66).

### **3.2.3.2. Kantitatif Değerlendirme**

Jeldeki lipoprotein bantlarının değerlendirilmesi 540 nm dalga boyundaki ışık şiddetinden yararlanarak (17) dansitometre ile herbir lipoprotein fraksiyonunun miktarı yüzde ( % ) değeri olarak saptandı. Bu şekilde şilomikron, pre-beta lipoprotein, beta lipoprotein ve alfa lipoprotein düzeyleri yüzde ( % ) değeri olarak saptandı.

### **3.2.3.3. İstatistiksel Değerlendirme**

Hasta grubu ile kontrol gruplarının lipoprotein yüzleri ile total kolesterol, trigliserit, VLDL- kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol miktarları bakımından farklı olup olmadıkları, bağımsız iki ortalamayı test eden "Student's t Testi" istatistiksel yöntemiyle kontrol edildi (55).

Hasta ve kontrol gruplarının, haptogloblin, grup spesifik komponent, transferrin ve seruloplazmin fenotipleri açısından farklı olup olmadıkları, her serum proteininin herbir fenotipi için ikişerli olarak ayrı ayrı "Khi-kare Analizi" ile kontrol edildi (18).

#### 4. BULGULAR

Klinik tanıları konmuş ve tedavilerine başlanmış olan, yaşları 40-76 arasında değişen 24'ü erkek, 26'sı kadın olmak üzere 50 iskemik kalp hastasında serum lipoproteinlerinin kantitatif analizleri "Poliakrilamid Jel Disk Elektroforezi Yöntemi" ve "Spektrofotometrik Yöntem" ile ayrı ayrı yapıldı. Elde edilen bulgular, sağlık yönünden hiçbir sorunu olmayan yaşları 40-65 arasında değişen 28 kadın ve 22 erkek olmak üzere toplam 50 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında serum proteinlerinin (haptogloblin, grup spesifik komponent, transferrin ve seruloplazmin) kalitatif analizleri "Poliakrilamid Jel Disk Elektroforezi Yöntemi" ile yapıldı.

##### 4.1. Serum Lipoproteinlerinin Elektforetik Bulguları

Değerlendirmenin daha sağlıklı olması için 50 kişilik hasta grubunun yaş ortalamasına uygun olan 50 kişilik kontrol grubu oluşturuldu.

Ortalama yaş dağılımı iskemik kalp hastası grubunda  $50.960 \pm 7.008$  (40-67) buna uygun olarak oluşturulmaya çalışılan kontrol grubunda ise,  $49.860 \pm 8.433$  (40-65) olarak bulundu.

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde farklılığın önemli olmadığı saptandı ( $t=0.709$ ,  $P > 0.05$ ).

Bir iskemik kalp hastasına ait serum lipoprotein' elektforezi örneği ve dansitometrik çizimi şekil (2)'de, hasta ve kontrol gruplarından elde edilen serum lipoprotein fraksiyonlarına ait yüzde (%) değerleri ise, tablo (I ve II)' de gösterilmiştir.

Tablolardan izleneceği gibi:

1- Hasta ve kontrol grupları şikomikron yüzdelерinin ortalamaları açısından değerlendirildiğinde; şilomikron yüzdelерinin ortalamaları hasta grubunda  $20.054 \pm 9.041$ , kontrol grubunda ise  $18.076 \pm 10.583$  olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir farkın olmadığı görülmektedir.

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde farklılığın önemli olmadığı saptanmıştır (  $t = 1.005$ ,  $P > 0.05$ ).

2 - Pre-beta lipoprotein yüzde değerlerinin ortalamaları değerlendirildiğinde; hasta grubunda pre-beta lipoprotein ortalamasının kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmış olduğu görülmektedir. Pre-beta yüzde değerleri ortalaması hasta grubunda  $22.764 \pm 5.384$ , kontrol grubunda ise  $18.428 \pm 8.100$  olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda farklılığın çok önemli olduğu saptanmıştır ( $t= 3.153$ ,  $P < 0.01$ ).

3-Hasta ve kontrol gruplarında beta lipoprotein yüzdelerinin ortalamalarına bakıldığında; hasta grubunda kontrol grubuna göre oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Beta lipoprotein yüzdelerinin ortalaması hasta grubunda  $40.312 \pm 9.082$ , kontrol grubunda ise  $22.276 \pm 11.090$  olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirme yapıldığında iki grup arasındaki farklılığın ileri düzeyde önemli olduğu saptanmıştır (  $t = 8.902$ ,  $P < 0.001$  )

4 - İki grup arasında alfa lipoprotein yüzdesi ortalamaları karşılaştırıldığında; hasta grubunun ortalamasının kontrol grubuna göre oldukça düşük olduğu görülmektedir. Ortalama alfa lipoprotein yüzdesi hasta grubunda  $16.082 \pm 7.881$ , kontrol grubunda ise  $40.972 \pm 15.841$  olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda farklılığın ileri düzeyde önemli olduğu saptanmıştır ( $t=9.952$ ,  $P < 0.001$ ).

Sonuçta, elektroforetik yöntem ile elde edilen bulgular, bağımsız iki ortalamayı test eden "Student's t testi" ile kontrol edildiğinde; şilomikron yüzdeleri hasta ve kontrol gruplarında birbirinden farksız bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Beta lipoprotein, alfa lipoprotein ( $P < 0.001$ ) ve pre-beta lipoprotein ( $P < 0.01$ ) ortalamalarının ise hasta ve kontrol grubunda birbirinden önemli düzeyde farklı olduğu saptanmıştır (Tablo V).

#### 4.2.Serum Total Kolesterol, Trigliserit ve Serum Lipoproteinlerinin

##### Spektrofotometrik Bulguları

Serum total kolesterol, trigliserit, LDL -, VLDL - ve HDL-kolesterol'ün spektrofotometrik yöntem ile saptanan hasta ve kontrol gruplarına ait değerleri ise tablo (III ve IV)'te görülmektedir.

Tablolardan izleneceği gibi:

1 - İskemik kalp hastası ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden elde edilen ortalama total kolesterol miktarları karşılaştırıldığında; total kolesterol miktarının hasta grubunda, kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmektedir. Ortalama kolesterol miktarı mg/100 ml olarak hasta grubunda  $200.173 \pm 66.888$ , kontrol grubunda ise  $173.296 \pm 41.839$  olarak saptanmıştır.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir ( $t=2.408$ ,  $P<0.05$ ).

2 - Hasta ve kontrol gruplarında saptanan ortalama trigliserit değerlerine bakıldığında ; hasta grubunda ortalama trigliserit miktarında, kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmektedir. Hasta grubunda ortalama trigliserit miktarı mg/100 ml olarak  $172.988 \pm 98.912$ , kontrol grubunda ise  $112.608 \pm 60.000$  olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirme yapıldığında iki grup arasındaki farklılığın ileri düzeyde önemli olduğu saptanmıştır ( $t=3.690$ ,  $P<0.001$ ) .

3 - Ortalama LDL - kolesterol miktarı değerlendirildiğinde; hasta grubunda LDL - kolesterol ortalamasının kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmüştür. Ortalama LDL-kolesterol miktarı mg/100 ml olarak hasta grubunda  $129.001 \pm 57.488$ , kontrol grubunda ise  $102.730 \pm 36.113$  olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda hasta ve kontrol grupları arasındaki farkın çok önemli olduğu saptanmıştır ( $t= 2.736$ ,  $P<0.01$ ).

4 - Ortalama VLDL-kolesterol miktarı iki grup arasında karşılaştırıldığında; hasta grubunda VLDL- kolesterol miktarının, kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmektedir. Ortalama VLDL - kolesterol miktarı mg/100 ml olarak hasta grubunda  $34.593 \pm 19.780$ , kontrol grubunda ise  $22.518 \pm 12.000$  olarak bulunmuştur.

Ortalama VLDL - kolesterol miktarları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde iki grup arasındaki farklılığın ileri düzeyde önemli olduğu saptanmıştır (  $t = 3.690$ ,  $P < 0.001$ ).

5-HDL-kolesterol miktarının iki gruptaki ortalamalarının karşılaştırılması sonucunda; hasta grubunda HDL - kolesterol ortalamasının kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlenmiştir.

Ortalama HDL - kolesterol miktarı mg/100 ml olarak hasta grubunda  $36.576 \pm 11.145$ , kontrol grubunda ise  $48.049 \pm 14.639$  olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda iki grup arasındaki farklılığın ileri düzeyde önemli olduğu saptanmıştır (  $t = 4.410$ ,  $P < 0.001$ ).

Sonuçta, spektrofotometrik yöntem ile elde edilen bulgular bağımsız iki ortalamayı test eden "Student's t testi" ile kontrol edildiğinde; ortalama total kolesterol miktarı hasta ve kontrol gruplarında birbirlerinden önemli düzeyde farklı bulunmuştur (  $P < 0.05$ ),. Yine iki grup arasında, LDL - kolesterol miktarı ortalamaları çok önemli düzeyde farklı bulunmuş olup (  $P < 0.01$ ), trigliserit, VLDL - kolesterol ve HDL - kolesterol miktarı ortalamalarında ise ileri düzeyde önemli fark saptanmıştır (  $P < 0.001$ ).

#### 4.3 Haptogloblin Tipleri (Hp)

İskemik kalp hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan bireylerde haptogloblin tiplerinin sıklığı saptandı. Her iki grupta saptanmış olan haptogloblin tipleri ve gen frekansları tablo ( VII )'de görülmektedir.

Tablo ( VII )'den izleneceği gibi :

1 - Toplam 50 iskemik kalp hastasından 3 tanesinin ( % 6 ) Hp 1-1, 21 tanesinin ( % 42 ) Hp 2-1 ve 26 tanesinin ( % 52 ) Hp 2-2 fenotipinde olduğu tesbit edildi. Hasta grubunda Hp<sup>1</sup> geni frekansı 0.2700, Hp<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.7300 oranında bulundu.

2 - Kontrol grubundaki toplam 50 bireyden 5 tanesinin ( % 10 ) Hp 1-1, 18 tanesinin ( % 36 ) Hp 2-1 ve 27 tanesinin ( % 54 ) Hp 2-2 fenotipinde olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda Hp<sup>1</sup> geni frekansı 0.2800, Hp<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.7200 olarak bulundu.

Sonuçta; kontrol ve hasta gruplarının Hp 1-1, Hp 2-1, ve Hp 2-2 fenotiplerinin dağılımına göre farklı olup olmadıkları "iki grup arasındaki farkın önem kontrolü (Khi-kare

Analizi)" testi ile kontrol edildi. İstatistiksel değerlendirme sonucunda iki grup arasındaki farkın önemsiz olduğu saptandı.

Hp 1-1 fenotipi için;  $X^2 = 0.679$   $P > 0.05$

Hp 2-1 " " ;  $X^2 = 0.378$   $P > 0,05$

Hp 2-2 " " ;  $X^2 = 0.040$   $P > 0,05$

#### 4.4. Grup Spesifik Komponent Tipleri (Gc)

İskemik kalp hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan bireylerde grup spesifik komponent tiplerinin sıklığı saptandı. Her iki grupta saptanmış olan Gc tipleri ve gen frekansları tablo ( VIII ) 'de görülmektedir.

Tablo (VIII) 'den gözleneceği gibi:

1- Toplam 50 iskemik kalp hastasından 18 tanesinin (% 36) Gc 1-1, 31 tanesinin (% 62) Gc 2 - 1 ve 1 tanesinin (% 2) Gc 2 - 2 fenotipinde olduğu tespit edildi. Hasta grubunda Gc<sup>1</sup> geni frekansı 0.6700, Gc<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.3000 olarak bulundu.

2- Kontrol grubundaki toplam 50 bireyden 18 tanesinin (% 36) Gc 1-1, 30 tanesinin (% 60) Gc 2-1 ve 2 tanesinin (% 4) Gc 2-2 olduğu tesbit edildi. Kontrol grubunda Gc<sup>1</sup> geni frekansı 0.6600 ve Gc<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.3400 olarak bulundu.

Sonuç olarak; hasta ve kontrol gruplarının Gc 1-1, Gc 2-1 ve Gc 2-2 fenotiplerinin dağılışıma göre farklı olup olmadıkları " iki grup arasındaki farkın önem kontrolü (Khi-kare Analizi)" testi ile kontrol edildi.İstatistiksel değerlendirme sonucunda iki grup arasındaki farkın önemsiz olduğu saptandı.

Gc 1 - 1 fenotipi için ;  $X^2 = 0.000$   $P > 0.05$

Gc 2 - 1 fenotipi için ;  $X^2 = 0.041$   $P > 0.05$

Gc 2 - 2 fenotipi için ;  $X^2 = 0.343$   $P > 0.05$

#### 4.5. Transferrin Tipleri ( Tf )

İskemik kalp hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan bireylerde transferrin tiplerinin sıklığı saptandı. Her iki grupta ayrı ayrı tespit edilmiş olan transferrin tipleri ve gen frekansları tablo (IX)'da görülmektedir.

Tablo ( IX )'dan izleneceği gibi;

1 - Toplam olarak 50 kişiden oluşan hasta grubunun hepsinin Tf CC fenotipinde olduğu saptandı. Dolayısıyla hasta grubunda Tf<sup>C</sup> geni frekansı 1, Tf<sup>D</sup> geni frekansı da 0 olarak bulundu.

2 - Kontrol grubunu oluşturan 50 bireyden 48'inin (% 96) TfCC fenotipinde, 2'sinin (%4) ise Tf D fenotipinde olduğu tespit edildi.Kontrol grubunda Tf<sup>C</sup> geninin frekansı 0.9600 Tf<sup>D</sup> geninin frekansı ise 0.0400 olarak saptandı. Gerek kontrol gerekse hasta grubunda TfCD fenotipi gözlenmedi.

Sonuç olarak; hasta ve kontrol gruplarının Tf CC ve Tf D fenotiplerinin dağılışıma göre farklı olup olmadıkları "iki grup arasındaki farkın önem kontrolü (Khi - kare Analizi)" testi ile kontrol edildi. İstatistiksel değerlendirme sonucunda iki grup arasında fark olmadığı saptandı.

Tf CC fenotipi için;	$X^2 = 2.551$	$P > 0.05$
Tf D fenotipi için;	$X^2 = 2.551$	$P > 0.05$

#### 4.6.Seruloplazmin Tipleri (Cp) :

İskemik kalp hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan bireylerde seruloplazmin tiplerinin sıklığı saptandı. Her iki grupta tespit edilmiş olan seruloplazmin tipleri ve gen frekansları tablo (X)'da görülmektedir.

Tablo ( X )'dan izleneceği gibi :

1 - İskemik kalp hastalarının oluşturduğu 50 kişilik grubun hepsinde CpB fenotipi saptandı. Dolayısıyla bu grupta Cp<sup>B</sup> geni frekansı 1, Cp<sup>A</sup> geni frekansı ise 0 olarak bulundu.

2 - Kontrol grubunu oluşturan 50 kişiden 48 tanesinin (% 96) CpB fenotipinde, 2 tanesinin (% 4) ise CpA fenotipinde olduğu saptandı. Bu grupta Cp<sup>A</sup> geni frekansı 0.0400, Cp<sup>B</sup> geni frekansı ise 0.9600 olarak hesaplandı.

Tablo (X)' da görüldüğü gibi gerek hasta grubunda ve gerekse kontrol grubunda Cp<sup>AC</sup>, Cp<sup>BC</sup> ve Cp<sup>AB</sup> fenotiplerine rastlanmadı.

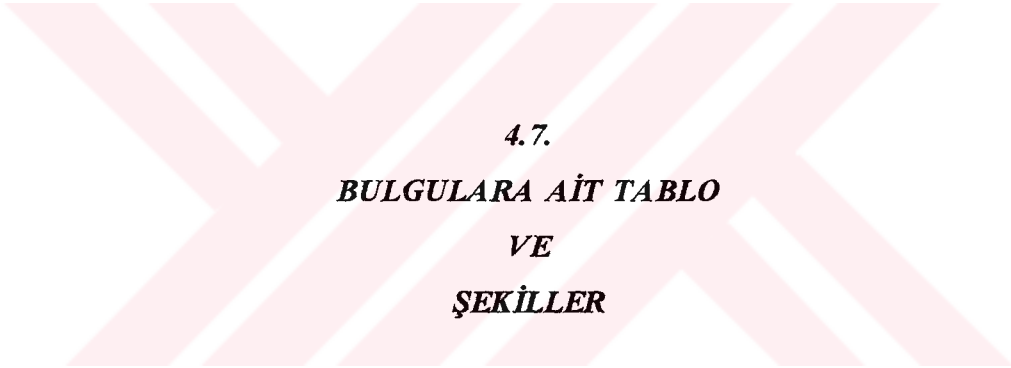
Sonuç olarak ; hasta ve kontrol gruplarının, Cp<sup>B</sup> ve Cp<sup>A</sup> fenotiplerinin dağılışıma göre farklı olup olmadıkları "iki grup arasındaki farkın önem kontrolü "Khi - kare Analizi"

testi ile kontrol edildi. İstatistiksel değerlendirme sonucunda iki grup arasında fark olmadığı tesbit edildi.

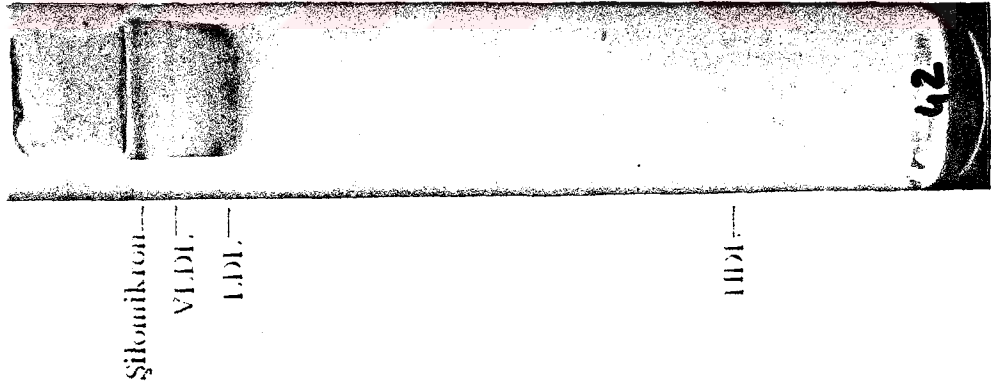
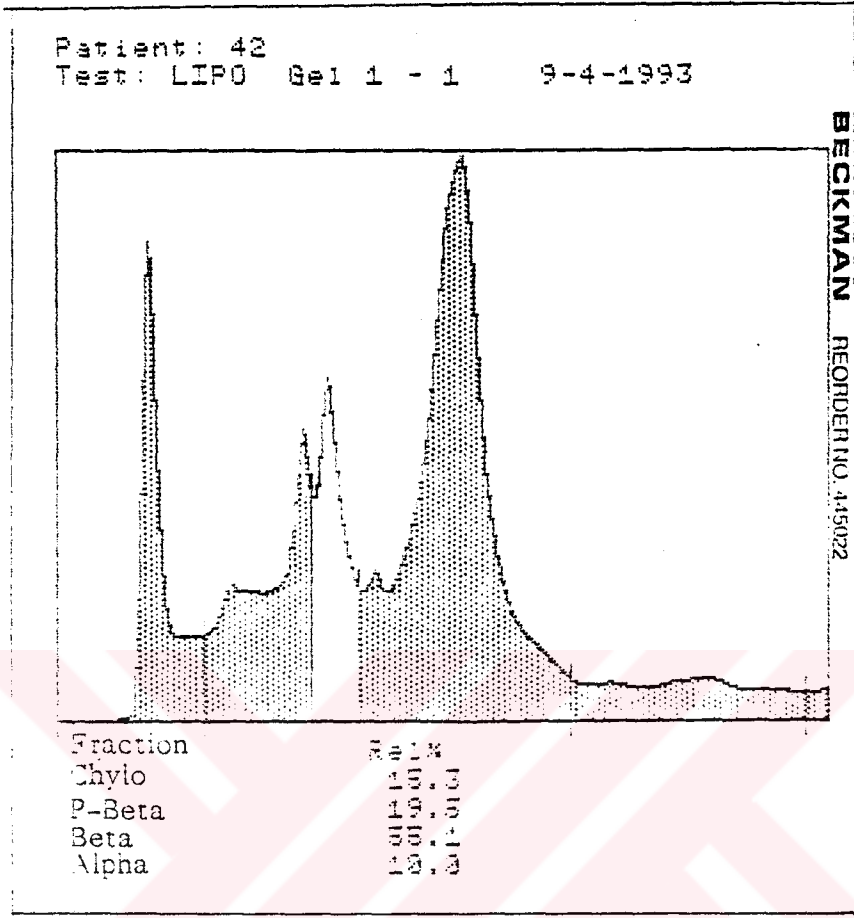
Cp<sup>A</sup> fenotipi için ;             $X^2 = 2.551$              $P > 0.05$

Cp<sup>B</sup> Fenotipi için ;             $X^2 = 2.551$              $P > 0.05$





**4.7.**  
**BULGULARA AİT TABLO**  
**VE**  
**ŞEKİLLER**



Şekil 2. Bir iskemik kalp hastasına ait serum lipoprotein elektroforez örneği ve dansitometrik çizimi

Tablo I. İskemik kalp hastalarından elde edilen elektroforetik bulguların dağılımı

Sıra No	Yaş	Cinsiyet		Şilomikron (%)	Pre- Beta Lipoprotein (%)	Beta Lipoprotein (%)	Alfa Lipoprotein (%)
		K	E				
1	54		+	14.1	20.3	55.5	10.1
2	61		+	22.5	21.6	45.9	10.0
3	60		+	4.6	29.3	54.4	11.7
4	47		+	25.9	21.5	31.4	21.5
5	52		+	26.8	22.8	42.7	7.7
6	49		+	40.8	22.4	21.3	15.5
7	55	+		18.0	21.1	54.6	6.4
8	42	+		24.7	24.3	39.5	11.5
9	43	+		25.3	13.0	21.7	22.9
10	53	+		23.0	17.0	44.8	15.1
11	46	+		14.6	28.4	31.6	4.9
12	52	+		46.8	23.7	23.8	5.7
13	44	+		29.9	21.0	41.6	7.5
14	56	+		31.5	24.1	28.3	16.1
15	50	+		25.9	27.0	30.6	16.6
16	61	+		11.0	26.5	37.3	25.3
17	60	+		23.7	19.6	37.7	18.9
18	67	+		28.8	18.1	42.1	11.0
19	45	+		21.5	20.3	49.9	8.2
20	49	+		30.3	7.8	43.1	18.9
21	61	+		28.8	15.4	45.9	9.9
22	48	+		19.0	28.3	40.3	12.3
23	46	+		4.8	22.5	41.7	31.0
24	50		+	3.4	28.0	44.7	23.9
25	42		+	3.3	21.8	34.7	40.2

Sıra No	Yaş	Cinsiyet		Şilomikron %	Pre Beta Lipoprotein %	Beta Lipoprotein %	Alfa Lipoprotein %
		K	E				
26	44		+	12.8	34.0	23.3	29.0
27	64		+	8.7	18.3	34.4	38.6
28	53	+		19.5	10.2	57.8	12.4
29	52		+	21.5	23.6	37.4	17.5
30	48		+	12.5	26.5	51.3	9.7
31	40	+		20.6	20.1	50.6	8.6
32	58	+		17.0	21.2	48.4	13.4
33	51	+		29.8	17.3	36.2	16.7
34	45		+	18.9	23.9	38.4	18.8
35	43		+	15.8	27.1	43.7	13.3
36	54		+	13.2	20.6	37.9	28.3
37	42		+	21.5	20.4	35.7	22.4
38	58		+	6.5	24.8	49.9	18.8
39	56		+	13.7	29.0	37.0	20.3
40	42		+	13.1	35.4	40.5	10.9
41	46		+	26.8	19.0	45.9	8.2
42	59		+	15.3	19.5	55.1	10.0
43	47	+		20.0	16.1	54.2	9.6
44	42		+	12.1	31.4	35.3	21.2
45	45	+		12.0	27.7	41.4	18.8
46	41	+		32.7	25.4	29.4	12.5
47	52		+	25.6	22.6	33.8	17.9
48	53		+	21.4	29.7	36.3	12.6
49	55	+		20.4	24.6	45.6	9.4
50	65	+		22.3	24.0	31.3	22.4
$\bar{x}$	50.960			20.054	22.764	40.312	16.082
SD	7.008			9.041	5.384	9.082	7.881

$\bar{x}$ :Aritmetik Ortalama

SD: Standart Sapma

Tablo II.Kontrol Grubunu Oluşturan Sağlıklı Bireylerden Elde Edilen Elektroforetik Bulguların Dağılımı

Sıra No	Yaş	Cinsiyet %		Şilomikron %	Pre Beta Lipoprotein %	Beta Lipoprotein %	Alfa Lipoprotein %
		K	E				
1	60		+	16.8	22.2	21.6	39.4
2	55	+		33.1	27.9	31.7	7.3
3	63		+	25.8	21.2	41.1	11.8
4	47	+		25.5	9.1	6.7	58.7
5	61	+		27.0	15.0	46.4	11.5
6	40	+		17.5	23.1	40.0	19.4
7	42	+		22.3	11.5	15.7	50.4
8	49	+		7.7	25.8	6.9	59.6
9	53	+		1.4	39.0	26.4	33.1
10	56		+	45.3	41.4	2.8	10.5
11	65		+	30.0	22.3	8.8	38.9
12	59		+	3.2	16.7	15.4	64.0
13	41	+		5.7	12.7	30.5	51.1
14	40	+		30.0	43.7	15.7	10.7
15	54		+	29.2	6.3	22.2	42.4
16	44	+		0.4	29.0	13.4	57.2
17	48		+	7.3	19.6	16.4	56.6
18	51		+	18.2	13.7	48.8	19.2
19	46	+		22.6	20.1	29.4	27.9
20	57	+		19.9	21.4	32.9	25.8
21	49	+		20.4	5.5	25.3	48.8
22	43	+		16.4	17.5	48.7	17.3
23	42	+		23.6	9.6	6.9	59.9
24	67		+	9.4	18.4	28.5	43.7
25	40		+	32.3	10.8	16.6	40.2

Sıra No	Yaş	Cinsiyet		Şilomikron %	Pre Beta Lipoprotein %	Beta Lipoprotein %	Alfa Lipoprotein %
		K	E				
26	65		+	4.9	16.5	30.1	48.5
27	45	+		35.9	20.5	12.2	31.4
28	41	+		3.5	14.5	22.6	57.6
29	46	+		31.2	7.7	16.8	44.3
30	48		+	12.9	22.5	17.5	47.1
31	40	+		14.9	19.6	16.1	49.3
32	64	+		26.3	16.4	16.3	41.0
33	61	+		17.4	19.6	26.9	36.2
34	63		+	12.8	10.5	17.5	59.1
35	47	+		14.7	11.1	18.5	55.7
36	41	+		6.0	18.3	12.1	63.7
37	43		+	12.9	9.6	17.5	60.0
38	59		+	29.8	12.4	17.1	40.7
39	41		+	19.1	11.8	15.5	53.6
40	40		+	25.6	14.2	11.2	49.0
41	45		+	30.6	13.2	17.5	38.7
42	47	+		14.1	20.0	12.4	53.5
43	58		+	13.5	17.1	19.2	50.2
44	51		+	14.0	19.3	17.2	49.4
45	40	+		26.5	13.9	25.6	34.0
46	42	+		3.9	22.8	24.8	48.5
47	41		+	21.9	14.9	18.7	33.6
48	57	+		0.1	16.5	35.5	47.8
49	42		+	0.1	27.5	34.6	37.8
50	54	+		18.4	27.5	41.6	12.5
x	49.860			18.076	18.428	22.276	40.972
SD	8.433			10.583	8.100	11.090	15.841

x: Aritmetik Ortalama

SD: Standart Sapma

Tablo III: İskemik Kalp Hastalarından Elde Edilen Spektrofotometrik Bulguların Dağılımı

Sıra No	Yaş	Cinsiyet K E	Total Kolesterol	Trigliserit	HDL Kolesterol	LDL Kolesterol	VLDL Kolesterol	
1	54		+	110.13	80.62	16.70	77.31	16.12
2	61		+	186.38	120.22	27.92	134.42	24.04
3	60		+	242.05	365.79	42.24	126.66	73.15
4	47		+	163.08	109.56	40.46	100.71	21.91
5	52		+	155.11	121.61	23.43	107.36	24.32
6	49		+	215.87	211.30	35.54	138.07	42.26
7	55	+		169.46	138.58	42.88	98.87	27.75
8	42	+		211.29	156.36	36.87	143.15	31.27
9	43	+		165.22	149.20	42.08	93.30	29.84
10	53	+		210.46	135.71	46.71	136.61	27.14
11	46	+		270.47	147.24	39.27	201.76	29.44
12	52	+		141.57	117.70	39.49	78.54	23.54
13	44	+		215.76	187.05	24.09	154.26	37.41
14	56	+		210.81	113.83	21.44	166.61	22.76
15	50	+		98.59	38.71	21.84	69.01	7.74
16	61	+		85.13	27.61	53.84	25.77	5.52
17	60	+		135.83	41.17	45.23	82.37	8.23
18	67	+		358.99	173.11	58.11	266.26	34.62
19	45	+		179.83	201.09	24.46	115.16	40.21
20	49	+		176.15	195.16	32.39	104.73	39.03
21	61	+		207.93	360.15	20.55	115.35	72.03
22	48	+		240.98	288.72	47.96	135.28	57.74
23	46	+		216.63	255.10	62.31	103.30	51.02
24	50		+	228.99	250.80	38.88	139.95	50.16
25	42		+	174.13	63.24	24.67	136.82	12.64

Sıra No	Yaş	Cinsiyet		Total Kolesterol	Trigliserit	HDL Kolesterol	LDL Kolesterol	VLDL Kolesterol
		K	E					
26	44		+	202.48	370.60	42.41	85.95	74.12
27	64		+	366.17	170.38	29.28	262.83	74.02
28	53	+		316.08	237.61	29.75	238.81	47.52
29	52		+	179.53	87.60	38.25	123.76	17.52
30	48		+	244.22	184.12	41.13	166.27	36.82
31	40	+		128.05	123.80	38.44	64.85	24.76
32	58	+		325.41	406.35	31.44	212.70	81.27
33	51	+		196.36	173.55	29.75	131.90	34.71
34	45		+	191.05	106.01	30.32	139.54	21.20
35	43		+	89.34	74.07	55.71	18.81	14.81
36	54		+	44.67	79.17	15.55	13.29	15.83
37	42		+	203.59	271.95	52.60	96.6	54.39
38	58		+	231.65	211.64	37.78	151.55	42.32
39	56		+	203.49	232.86	35.87	120.99	46.57
40	42		+	187.62	398.13	27.80	80.2	79.62
41	46		+	148.97	114.85	27.86	98.14	22.97
42	59		+	172.78	110.89	30.16	120.45	22.17
43	47	+		221.76	120.79	44.09	153.52	24.15
44	42		+	254.13	264.04	31.95	169.38	52.80
45	45	+		145.11	94.38	48.47	77.77	18.87
46	45	+		233.83	175.28	58.26	140.52	35.05
47	52		+	204.51	41.57	29.78	166.42	8.31
48	53		+	221.88	90.90	31.95	171.75	18.18
49	55	+		161.87	170.37	30.17	97.63	34.07
50	65	+		363.30	88.88	50.71	294.82	17.77
x	50.960			200.173	172.988	36.576	129.001	34.593
SD	7.008			66.888	98.912	11.145	57.488	19.780

x: Aritmetik Ortalama

SD: Standart Sapma

Birim: mg/100 ml

Tablo IV. Kontrol Grubunu Oluşturan Sağlıklı Bireylerden Elde Edilen Spektrofotometrik Bulguların Dağılımı

Sıra No	Yaş	Cinsiyet K	E	Total Kolesterol	Trigliserit	HDL Kolesterol	LDL Kolesterol	VLDL Kolesterol
1	60		+	210.04	60.04	32.59	165.45	12.00
2	55	+		224.64	91.17	67.55	138.86	18.23
3	63		+	204.56	347.06	33.54	101.61	69.41
4	47	+		207.50	86.65	60.52	129.65	17.33
5	61	+		256.11	249.64	43.16	163.03	49.92
6	40	+		208.80	169.55	63.52	111.37	33.91
7	42	+		221.60	102.85	64.40	136.63	20.57
8	49	+		216.36	174.75	45.98	135.43	34.95
9	53	+		214.65	111.05	59.93	132.51	22.21
10	56		+	178.01	98.03	37.79	120.62	19.60
11	65		+	209.77	113.01	26.75	160.42	22.60
12	59		+	160.85	136.12	23.29	110.34	27.22
13	41	+		128.22	97.21	49.01	59.77	19.44
14	40	+		148.65	105.10	53.55	77.08	21.02
15	54		+	109.32	90.78	29.33	61.84	18.15
16	44	+		125.74	99.32	45.96	59.92	19.86
17	48		+	148.01	93.15	38.92	90.46	18.63
18	51		+	79.12	109.23	26.60	30.68	21.84
19	46	+		110.64	113.45	44.66	43.29	22.69
20	57	+		128.02	133.61	47.22	54.08	26.72
21	49	+		212.03	79.25	86.23	109.95	15.85
22	43	+		193.48	101.90	45.20	127.90	20.38
23	42	+		236.84	57.87	71.24	154.03	11.57
24	67		+	224.80	259.44	26.60	146.32	51.80
25	40		+	178.70	81.77	58.04	104.31	16.35

Sıra No	Yaş	Cinsiyet K E	Total Kolesterol	Trigliserit	HDL Kolesterol	LDL Kolesterol	VLDL Kolesterol
26	65		210.87	266.24	28.07	129.56	53.24
27	45	+	163.59	72.52	58.84	90.25	14.50
28	41	+	58.16	84.27	51.53	89.78	16.85
29	46	+	202.72	121.17	52.65	125.84	24.23
30	48		171.08	64.13	45.57	112.69	12.82
31	40	+	222.52	110.44	78.70	121.74	22.08
32	64	+	173.37	124.37	28.86	119.64	24.87
33	61	+	200.68	90.54	38.34	144.24	18.10
34	63		243.68	201.99	38.92	164.37	40.39
35	47	+	140.41	77	30.41	97.60	15.40
36	41	+	123.41	67.02	63.16	46.85	13.40
37	43		160.12	50.81	63.56	86.40	10.16
38	59		222.76	126.79	43.47	153.94	25.35
39	41		157.72	44.44	64.54	84.30	8.88
40	40		130.89	30.06	40.57	84.31	6.01
41	45		185.36	96.73	50.62	115.40	19.34
42	47	+	137.07	104.38	51.93	64.27	20.87
43	58		135.20	100.39	41.24	73.89	20.07
44	51		112.77	101.99	44.28	48.10	20.39
45	40	+	150.78	65.59	61.73	75.94	13.11
46	42	+	155.20	83.87	39.30	99.13	16.77
47	41		171.60	112.90	57.76	91.26	22.58
48	57	+	104.73	103.22	38.70	45.39	20.64
49	42		158.86	131.89	71.48	61.01	26.37
50	54	+	134.81	35.67	36.63	91.05	7.13
x	49.860		173.296	112.608	48.049	102.730	22.518
SD	8.433		41.839	60.000	14.639	36.113	12.000

x:Aritmetik Ortalama

SD:Standart Sapma

Birim: mg / 100 ml

Tablo V. Hasta ve Kontrol Gruplarının Elektroforetik Bulgular Yönünden Karşılaştırılmasıyla Elde Edilen İstatistiksel Bulgular

	Kontrol Grubu		Hasta Grubu		t	p
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
Yaş	49.860	8.433	50.960	7.008	0.709	p>0.05
Şilomikron	18.076	10.583	20.054	9.041	1.005	p>0.05
Pre-Beta Lipoprotein	18.428	8.100	22.764	5.384	3.153	p<0.01
Beta Lipoprotein	22.276	11.090	40.312	9.082	8.902	p<0.001
Alfa Lipoprotein	40.972	15.841	16.082	7.881	9.952	p<0.001

Tablo VI. Hasta ve Kontrol Gruplarının Spektrofotometrik Bulgular Yönünden Karşılaştırılmasıyla Elde Edilen İstatistiksel Bulgular

	Kontrol Grubu		Hasta Grubu		t	p
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		
Yaş	49.860	8.433	50.960	7.008	0.709	p>0.05
Total Kolesterol	173.296	41.839	200.173	66.888	2.408	p>0.05
Trigliserit	112.608	60.000	172.988	98.912	3.690	p<0.001
LDL Kolesterol	102.730	36.113	129.001	57.488	2.736	p<0.01
VLDL Kolesterol	22.518	12.000	34.593	19.780	3.690	p<0.001
HDL Kolesterol	48.049	14.639	36.576	11.145	4.410	p<0.001

Tablo VII. Hasta ve Kontrol Gruplarını oluşturan bireylerde Haptoglobin Fenotiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansı Sıklığı

	n	Hp 1-1	Hp 2-1	Hp 2-2	Hp <sup>1</sup> Geni Frekansı	Hp <sup>2</sup> Geni Frekansı
Hasta Grubu	50	3 (%6)	21 (%42)	26 (%52)	0.2700	0.7300
Kontrol Grubu	50	5 (%10)	18 (%36)	27 (%54)	0.2800	0.7200
Toplam	100	8	39	53	0.2750	0.7250

n: Örnek sayısı

$$Hp^1 \text{ Geni Frekansı} = \% (\text{Hp 1-1}) + \frac{\% (\text{Hp 2-1})}{2} \times \frac{1}{100}$$

$$Hp^2 \text{ Geni Frekansı} = 1 - Hp^1 \text{ geni frekansı}$$

Tablo VIII: Hasta ve Kontrol Gruplarını Oluşturan Bireylerde Grup Spesifik Komponent Fenotiplerinin Dağılımı ve Gen Frekansı Sıklığı

	n	Gc 1-1	Gc 2-1	Gc 2-2	Gc <sup>1</sup> Geni Frekansı	Gc <sup>2</sup> Geni Frekansı
Hasta Grubu	50	18 (% 36)	31 (% 62)	1 (% 2)	0.6700	0.3000
Kontrol Grubu	50	18 (% 36)	30 (% 60)	2 (% 4)	0.6600	0.3400
Toplam	100	36	61	3	0.6680	0.3350

N: Örnek sayısı

$$Gc^1 \text{ Geni Frekansı} = \% (\text{Gc 1-1}) + \frac{\% (\text{Gc 2-1})}{2} \times \frac{1}{100}$$

$$Gc^2 \text{ Geni Frekansı} = 1 - Gc^1 \text{ geni frekansı}$$

Tablo IX. Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerde transferrin fenotiplerinin dağılımı ve gen frekansı sıklığı.

	n	TfCC	TfCD	TfD	Tf <sup>C</sup> Geni Frekans	Tf <sup>D</sup> Geni Frekansı
Hasta Grubu	50	50	0	0	1	0
Kontrol Grubu	50	48 (% 96)	0	2 (% 4)	0.9600	0.0400
Toplam	100	98	0	2	0.9800	0.0200

n : Örnek sayısı

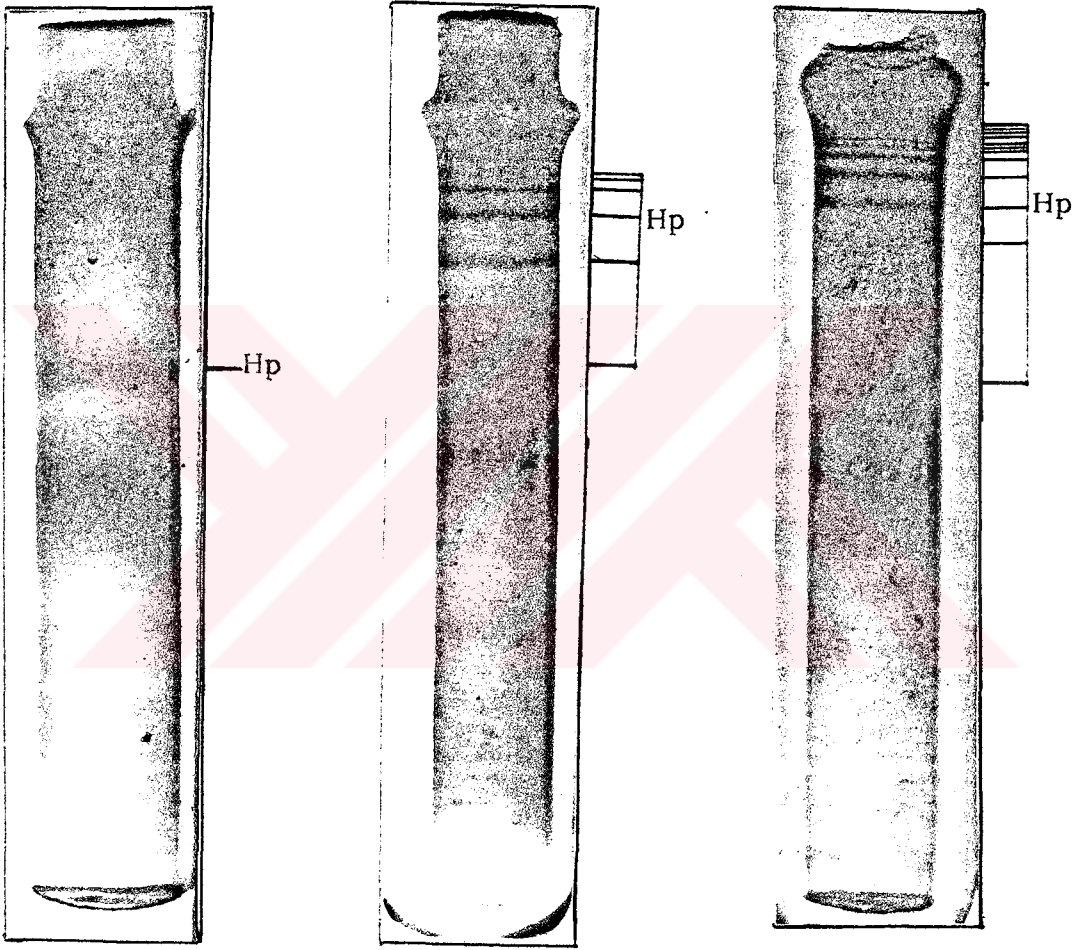
$$\text{Tf}^{\text{C}} \text{ Geni Frekansı} = \% (\text{TfCC}) + \frac{\% (\text{TfCD})}{2} \times \frac{1}{100}$$

$$\text{Tf}^{\text{D}} \text{ Geni Frekansı} = 1 - \text{Tf}^{\text{C}} \text{ geni frekansı}$$

Tablo X. Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerde seruloplazmin fenotiplerinin dağılımı ve gen frekansı sıklığı.

	n	CpA	CpB	CpAC	CpBC	CpAB	Cp <sup>A</sup> Geni Frekansı	Cp <sup>B</sup> Geni Frekansı
Hasta Grubu	50	0	50	0	0	0	0	1
Kontrol Grubu	50	2 (% 4)	48 (% 96)	0	0	0	0.0400	0.9600
Toplam	100	2	98	0	0	0	0.0200	0.9800

n: Örnek sayısı

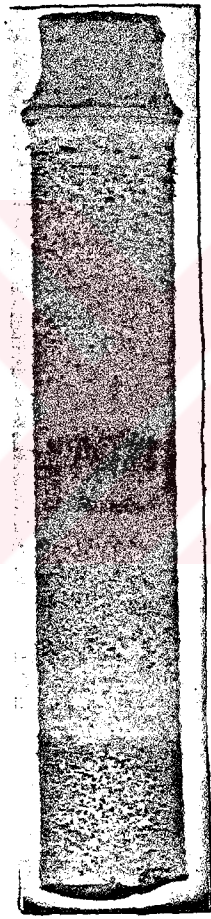


Hp 1-1

Hp 2-1

Hp 2-2

Şekil 3. Haptoglobin Fenotipleri

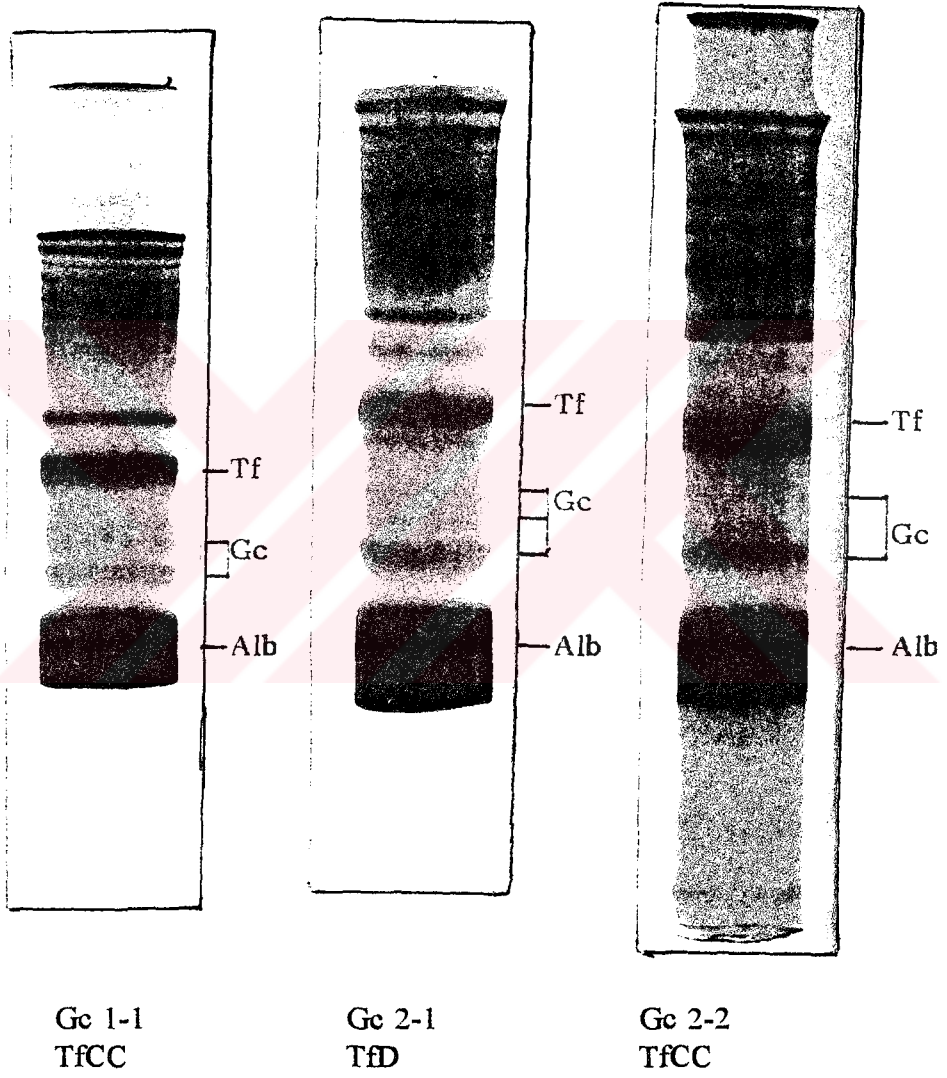


Cp A



CpB

Şekil 4. Seruloplazmin Fenotipleri



Şekil 5. Grup Spesifik Komponent ve Transferrin Fenotipleri

## 5. TARTIŞMA

İnsan serum lipoproteinlerinin kalitatif ve kantitatif analizinde bir çok yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan elektroforez yöntemi lipoprotein fraksiyonlarının kalitatif ve kantitatif değerlendirilmesinde özellikle de kalıtsal lipoprotein hastalıklarının tiplendirilmesinde sıklıkla kullanılan, değerli bir yöntemdir ( 3, 5, 15, 21, 31, 47, 67, 75,77). Serum lipoproteinlerinin ayrıştırılmasında kullanılan elektroforez yöntemlerinden yaygın olarak kullanılan poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi ile diğer elektroforetik metodlara nazaran daha belirgin bantlar elde edilir ve sonuç daha kısa sürede alınır (15, 22, 36,42,50, 58).

Serum lipoproteinlerinin ayrıştırılmasında kullanılan bir çok yöntemin yanında, temel referans yöntemi olarak "ultrasantrifügasyon yöntemi" verilmesine karşın, güç ve zaman alıcı olduğundan rutin uygulamaya elverişli değildir. Ayrıca, bu yöntem maliyeti fazla olan aletlerin kullanılmasını gerektirdiği gibi, kullanıcının da önemli düzeyde teknik bilgiye sahip olması gerekir. Sonuç olarak ultrasantrifügasyon yöntemi daha çok özel araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır (47, 58, 67).

Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda, serum lipoproteinlerinin ayrıştırılmasında poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi tercih edilmiştir. İnsan serum lipoproteinleri poliakrilamid jelde, eksi ( - ) kutuptan artı ( + ) kutba doğru sırasıyla; şilomikronlar, pre-beta lipoprotein (çok düşük dansiteli lipoproteinler, kısaca VLDL) , beta lipoprotein (düşük dansiteli lipoproteinler, kısaca LDL) ve alfa lipoprotein (yüksek dansiteli lipoproteinler, kısaca HDL) olmak üzere 4 fraksiyona ayrılır ( 22 ).

İnsan serum proteinlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde de yine elektroforez yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemle, insan serum proteinleri değerlendirilmekte ve o bireyin sağlık durumu hakkında gerçeğe yakın bilgiler elde edilmektedir (16). Bugün rutin laboratuvar yöntemi olarak kullanılan selüloz asetat elektroforezi ile insan serumu 5 temel fraksiyona ayrılmaktadır. Bunun yanı sıra, poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi ile insan serumu yaklaşık 10 - 30 fraksiyona ayrılabilir (9, 13, 17, 52, 56, 61). İnsan serum proteinlerinin büyük çoğunluğundaki değişimleri incelemek ve serum proteinleri

genetik polimorfizmini araştırmak için poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi kullanılmaktadır (16). Bu nedenle, çalışmamızda ele alınan serum proteinleri (transferrin, seruloplazmin, haptoglobin ve grup spesifik komponent)'nin fenotiplerini belirlemek için poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi tercih edilmiştir.

İskemik kalp hastalıklarının oluşumunda çeşitli risk faktörleri arasında yer alan serum trigliserit ve serum total kolesterol miktarları, enzimatik - kolorimetrik metoda uygun olarak spektrofotometrik yöntemle saptandı (40, 48, 76). Elektroforez sonuçlarını desteklemesi açısından, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü (HDL - C) de enzimatik - kolorimetrik metoda uygun olarak spektrofotometrik yöntemle tespit edildi ( 76). Çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü (VLDL-C) ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü (LDL-C) miktarları ise friedewald formülüne göre hesaplandı (15,40,41,,47,54,62,76,79 )

Çalışmamızda insan serumunda bulunan 4 majör lipoprotein fraksiyonundan biri olan şilomikron yüzdelerini elektroforetik olarak tespit ettik. İskemik kalp hastaları ile sağlıklı bireyler arasında şilomikron yüzdeleri açısından farklılık olmadığını gözlemledik. İskemik kalp hastalarında lipoprotein düzeylerine bakılan benzer çalışmalarda şilomikronlarla ilgili bulgulara rastlayamadık. Yararlandığımız temel kaynaklarda ise şilomikronların en az aterojenik lipidlerden olduğu ve daha çok kalıtsal lipoprotein hastalıklarında miktarının arttığı bildirilmektedir. (21, 30, 31, 34, 57, 65, 70) Ayrıca lipid metabolizmasında bir bozukluk olmadığı durumlar dışında yalnızca yemeklerden sonra şilomikronların serumdaki konsantrasyonunun arttığı, hemen sonra kan dolaşımından ayrıldığı bildirilmektedir (30, 65).

İskemik kalp hastalarından elde ettiğimiz pre-beta lipoprotein yüzdeleri, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında hasta grubunda pre-beta yüzdelerinin önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Spektrofotometrik yöntemle tayin ettiğimiz çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü (VLDL-C) miktarının da iskemik kalp hastalarında, normal bireylere nazaran önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. SARIKARDEŞOĞLU ve arkadaşları (62) aterosklerotik kalp hastaları ile yaptıkları çalışmada elektroforetik olarak buldukları pre-beta lipoprotein (VLDL) değerleri ile spektrofotometrik yöntemle buldukları çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü (VLDL-C) miktarının hasta bireylerde, sağlıklı

bireylere göre önemli düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bulgularımız literatür bilgileriyle desteklenmektedir.

Koroner aterosklerozun oluşumu açısından oldukça önemli olan beta lipoprotein (LDL) yüzdesi çalışmamızda, iskemik kalp hastalarında normal bireylere göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Friedewald formülünden hesaplanan serum düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü (LDL-C)'nün miktarı da yine hasta grubunda, sağlıklı bireylere nazaran yüksek bulunmuştur. Bulgularımız bu konuda araştırma yapmış olan aşağıda adı geçen araştırmacıların sonuçlarıyla desteklenmektedir. SALONEN J.T. ve SALONEN, R. (60) "koroner aterosklerozun patogenezinin temelinde; yükselmiş, düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü düzeyinin önemli bir rol oynadığı" hipotezinden yola çıkarak düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü düzeyine bakmış ve sonuçta iskemik kalp hastalarında düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü düzeyinin yükselmiş olduğunu bildirmişlerdir. Diğer araştırmacılar da ( 27, 38, 47, 62, 70) aynı sonucu rapor etmişlerdir.

İskemik kalp hastalığı ile ters orantılı olan alfa lipoprotein yüzdesi çalışmamızda, hasta grubunda sağlıklı bireylere kıyasla önemli derecede düşük bulunmuştur. Spektrofotometrik yöntemle bulduğumuz sonuçlar da elektroforetik sonuçları desteklemektedir. Yani yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü miktarının iskemik kalp hastalarında normal bireylerden düşük olduğu saptanmıştır. STREJA ve arkadaşları (70) ile MILLER G.J. ve MILLER L.E. (46) iskemik kalp hastalığı ile serum yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü (HDL-C) arasında ters bir ilişki olduğunu göstermişler ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü (HDL-C)' nün, aynı toplumda yaşayan sağlıklı bireylere göre oldukça düşük düzeyde olduğunu rapor etmişlerdir. DALGIÇ ve arkadaşları (12), SARIKARDEŞOĞLU ve arkadaşları (62), Avrupa Ateroskleroz Derneği (EAS)'nden bir çalışma grubu (6) ve diğer bazı araştırmacılar (40, 46, 60, 78) yaptıkları çalışmalar sonucunda serum yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü düzeyinin koroner aterosklerotik kalp hastalarında normal bireylere göre düşük olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçlarımız literatür bilgilerine uygundur.

Serum total kolesterol miktarı ise yine kontrol grubuna göre iskemik kalp hastalarında önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Bulduğumuz bu sonucu adı geçen

literatür bilgileri de desteklemektedir. STREJA ve arkadaşları (70) iskemik kalp hastalarında total kolesterol düzeyini, aynı toplumda yaşayan sağlıklı bireylere nazaran daha yüksek bulmuşlardır. KOYAMA ve arkadaşları ile diğer bazı araştırmacılar (40, 54, 62) aterosklerotik kalp hastalarında total kolesterol düzeyinin normal bireylere göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

İskemik kalp hastalığının gelişiminde önemli bir rol oynayan serum trigliserit düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuçlarımız adı geçen araştırmacıların sonuçlarıyla uyumludur. STREJA ve arkadaşları (70) iskemik kalp hastalarında, SARIKARDEŞOĞLU ve arkadaşları (62) aterosklerotik kalp hastalarında serum trigliserit düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, iskemik kalp hastalığı için risk faktörü olan serum lipoproteinlerinden beta lipoprotein (LDL) ve pre-beta lipoprotein (VLDL) değerleri iskemik kalp hastalarında yüksek bulunmuştur. Özellikle beta lipoprotein (LDL) düzeyinin çok önemli derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Buna karşın alfa lipoprotein (HDL) düzeyinin iskemik kalp hastalarında düşük olduğu, hastalıkla ters orantılı olduğu saptanmıştır. Şilomikron düzeyi bakımından iskemik kalp hastalarında, normal bireylere göre bir fark saptanamamıştır.

Serum total kolesterol ve trigliserit düzeyleri de iskemik kalp hastalığı ile ilişkilidir. İskemik kalp hastalarında total kolesterol ve trigliserit düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi ile saptadığımız, serum proteinlerinden haptogloblin, transferrin, seruloplazmin ve grup spesifik komponent fenotipleri ile iskemik kalp hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını araştırdık. Araştırdığımız serum proteinleri fenotiplerinin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımını ve gen frekanslarını saptadık. AGARWAL ve arkadaşları (2) çeşitli serum proteinlerinin gen sıklıkları ve bunların genetik varyasyonları ile kalıtsal ve kalıtsal olmayan çeşitli hastalıklar arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmamızda 50 iskemik kalp hastasından 3 tanesinin (% 6) Hp1-1, 21 tanesinin (% 42) Hp 2-1 ve 26 tanesinin (% 52) Hp 2-2 fenotipinde olduğunu tespit ettik. Hasta

grubunda Hp<sup>1</sup> geni frekansı 0.2700, Hp<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.7300 olarak bulundu. Kontrol grubunda ise 50 kişiden 5 tanesinin ( % 10) Hp 1-1, 18 tanesinin (% 36) Hp 2-1 ve 27 tanesinin ( % 54) Hp 2-2 fenotipinde olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda Hp<sup>1</sup> geni frekansı 0.2800, Hp<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.7200 olarak tespit edildi.

Sonuçta iskemik kalp hastalığı ile haptoglobin fenotipleri arasında bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Haptoglobin fenotipleri ile iskemik kalp hastalığı arasında ilişki olduğuna işaret eden bir çalışmaya kayıtlarda rastlanmamıştır. Nitekim SWAIN ve arkadaşları (71), miyokart infarktüsü geçirmiş olan hastalarla yapılan bir çalışmada; hastalıkla haptoglobin fenotipleri arasında hiçbir ilişkinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Bunun yanında OWEN ve arkadaşları (53) yaptıkları araştırmada, koroner aterosklerotik kalp hastalarında ve miyokart infarktüsü geçirmiş olan hastalarda serum haptoglobin düzeyine bakmışlar ve adı geçen hastalıklarda serum haptoglobin miktarının artmış olduğunu bildirmişlerdir. Çeşitli araştırmacılar ise serum haptoglobin düzeyleri ve fenotipleri ile bazı hastalıklar arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır (16, 53, 71). ERDAL (16) yaptığı araştırmada kanser ile Hp<sup>1</sup> geni arasında kalıtsal bir ilişkinin olma olasılığını bildirmiştir. SWAIN ve arkadaşları (71), hemolitik anemi, viral hepatit, tüberküloz ve multiple skleroz'da serum haptoglobin düzeyindeki değişimlerin tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Haptoglobin tiplerinin sıklığı dünyanın farklı ülkelerinde yaşayan populasyonlarda değişiklik göstermektedir. Hatta aynı ulusun içinde bile farklılıklar görülmektedir (16,66). Bu konuda normal bireylerde yapılmış olan araştırmalara göre Hp<sup>1</sup> ve Hp<sup>2</sup> geni frekansları sırasıyla; Avrupa'da 0.3750-0.6280, Orta Doğu'da 0.2830-0.7170 Afrika'da 0.5170-0.3790, Amerika'da 0.5960-0.4040 (66) ve Türkiye'de (7.16,66) 0.2700-0,7300 olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarına toplam olarak bakıldığında; 100 kişiden 8 kişinin Hp 1-1 fenotipinde, 39 kişinin Hp 2-1 fenotipinde ve 53 kişinin Hp 2-2 fenotipinde olduğu saptanmıştır. Hp<sup>1</sup> geni frekansı 0.2750 Hp<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.7250 olarak tespit edilmiştir. (Tablo VII). Gerek haptoglobin gen frekansları gerekse haptoglobin fenotip oranları açısından, sonuçlarımız Türk populasyonu için verilen değerlere uygundur (7,14).

Grup spesifik komponent fenotiplerine bakıldığında; çalışmamızda ele alınan 50 iskemik kalp hastasından 18 tanesinin ( % 36) Gc 1-1, 31 tanesinin ( % 62 ) Gc 2-1 ve 1 tanesinin ( % 2) Gc 2-2 fenotipinde olduğu saptandı. Hasta grubunda Gc<sup>1</sup> geni frekansı 0.6700, Gc<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.3000 olarak tespit edildi. Kontrol grubunda ise 50 kişiden 18 tanesinin ( % 36) Gc 1-1, 30 tanesinin ( % 60 ) Gc 2-1 ve 2 tanesinin ( % 4) Gc 2-2 fenotipinde olduğu belirlendi. Kontrol grubunda Gc<sup>1</sup> geni frekansı 0,6600, Gc<sup>2</sup> geni frekansı ise 0,3400 olarak saptandı. Sonuçta; hasta ve kontrol grupları arasında grup spesifik komponent fenotipleri yönünden istatistiksel olarak fark olmadığını tespit ettik. Böylece iskemik kalp hastalığı ile grup spesifik komponent fenotipleri arasında bir ilişki olmadığı sonucuna vardık. Kayıtlarda da iskemik kalp hastalığı ile grup spesifik komponent fenotipleri arasında bir ilişkiye rastlayamadık. Çeşitli araştırmacılar ise bazı hastalıklarla grup spesifik komponent düzeyleri ve grup spesifik komponent fenotipleri arasında bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir (66,71). SWAIN ve arkadaşları (71), grup spesifik komponent düzeyleri ve grup spesifik komponent fenotipleri ile Hodgkin's hastalığı arasında bir ilişki olduğunu bildirmelerine karşın, grup spesifik komponent fenotipleri ile diğer hastalıklar arasında açık bir ilişkiye rastlayamadıklarını belirtmişlerdir. SRIVASTAVA ve arkadaşları (66) grup spesifik komponent fenotipleri ile çeşitli immünolojik hastalıklar arasında bir ilişkinin var olduğunu bildirmişlerdir.

Hasta ve kontrol gruplarında toplam olarak grup spesifik komponent fenotiplerine bakıldığında; 100 kişiden 36 kişinin Gc 1-1 fenotipinde, 61 kişinin Gc 2-1 fenotipinde ve 3 kişininde Gc 2-2 fenotipinde olduğu saptandı. Gc<sup>1</sup> geni frekansı 0,6680, Gc<sup>2</sup> geni frekansı 0.3350 olarak tespit edildi (Tablo VIII). Çeşitli populasyonlarda grup spesifik komponent gen frekanslarına bakıldığında Gc<sup>1</sup> ve Gc<sup>2</sup> gen frekansları sırasıyla; Avrupa'da 0.7300- 0.2700, Orta Doğu'da 0.7130-0.2870 Afrika'da 0.9000-0.1000 ve Amerika'da 0.9110-0.0890 (66) ve Türkiye'nin çeşitli bölgelerinin ortalaması (66) 0.7430-0.2570 olarak bildirilmiştir. Grup spesifik komponent fenotiplerinin aynı populasyon içinde farklılıklar gösterdiği (23,66) göz önünde bulundurulursa, bizim sonuçlarımız Güney Doğu Anadolu Bölgesi için geçerlidir. Ayrıca bulduğumuz grup spesifik komponent gen frekansları, araştırma yaptığımız bölge itibarıyla Kuzey İran (0.6670-0.3230) ve Kuzey Batı İran

0.6770-0.3230)'da saptanan gen frekanslarına (66) uyum göstermektedir.

Transferrin fenotiplerine bakıldığında ise; 50 kişilik iskemik kalp hastası grubunun tümünün Tf CC fenotipinde olduğu gözlemlendi. Dolayısıyla Tf<sup>C</sup> geni frekansı, bu grupta 1 olarak saptandı. Kontrol grubunda ise 50 sağlıklı bireyden 48 kişinin (%96) Tf CC fenotipinde, 2 kişinin (% 4) ise Tf D fenotipinde olduğu görüldü. Bu grupta Tf<sup>C</sup> geni frekansı 0.9600, Tf<sup>D</sup> geni frekansı ise 0.0400 olarak tespit edildi.

Hasta ve kontrol grupları arasında transferrin fenotipleri açısından istatistiksel bir fark saptayamadık. Dolayısıyla iskemik kalp hastalığı ile transferrin fenotipleri arasında bir bağlantı olmadığı sonucuna vardık. Kayıtlarda da, iskemik kalp hastalığı ile transferrin fenotipleri arasında bağlantı olduğunu gösteren herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Fakat çeşitli araştırmacılar transferrin düzeyi ile çeşitli hastalıklar arasında mutlak bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (2, 71). SWAIN ve arkadaşları (71) transferrin düzeyi ile pneumonia, ilerlemiş karaciğer sirozu, akut lösemi, hiperkromik anemi ve hemen hemen enfeksiyon hastalıklarının tümüyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Hasta ve kontrol gruplarına toplam olarak bakıldığında; 100 kişiden 98'nin Tf CC fenotipinde, 2'sinin ise Tf D fenotipinde olduğu, Tf<sup>C</sup> geni frekansının 0.9800, Tf<sup>D</sup> geni frekansının da 0.0200 olduğu gözlemlendi (Tablo IX). Çeşitli toplumlarda transferrin fenotiplerinin dağılımı şöyledir; Avrupa'da, % 97.94 TfCC, % 1.32 TfB, % 0.75 Tf D, Orta Doğu'da, % 98.10 TfC, % 0.45 TfB, % 1.45 TfD, Afrika'da % 94.28 TfCC, % 0.08 TfB, % 5.64 TfD ve Amerika'da, % 91.11 TfCC, % 0.80 TfB, % 8.81 Tf D (66). Bizim sonuçlarımız Avrupa ve Orta Doğu ile uyumludur.

Seruloplazmin fenotipleri incelendiğinde; 50 kişilik hasta grubunun tümünün Cp<sup>B</sup> fenotipinde olduğu tespit edildi. Dolayısıyla bu grupta Cp<sup>B</sup> geni frekansı 1 olarak belirlendi. Kontrol grubunda ise 50 kişiden 2'sinin (%4) Cp<sup>A</sup> fenotipinde, 48'inin (%96) ise Cp<sup>B</sup> fenotipinde olduğu saptandı. Bu grupta Cp<sup>A</sup> geni frekansı 0.0400, Cp<sup>B</sup> geni frekansı ise 0.9600 olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir fark bulamadık. Dolayısıyla iskemik kalp hastalığı ile seruloplazmin fenotipleri arasında bir ilişki olmadığı kanısına vardık. Nitekim, seruloplazmin fenotipleri ile iskemik kalp hastalığı arasındaki ilişkiye yönelik bir çalışmaya kayıtlarda da rastlayamadık. Bunun yanında çeşitli

araştırmacılar serum seruloplazmin konsantrasyonu ile hastalıklar arasında ilişki olduğuna değinmişlerdir (71). SWAIN ve arkadaşları (71) miyokart infarktüsü geçirmiş olan bireylerde serum seruloplazmin konsantrasyonunun artmış olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar serum seruloplazmin konsantrasyonu ile Wilson hastalığı, karaciğer hastalıkları ve çeşitli enfeksiyon hastalıkları arasında bağlantı olduğunu belirtmişlerdir.

İskemik kalp hastaları ile sağlıklı bireylere genel olarak bakıldığında; 100 kişiden 2 tanesinin  $Cp^A$ , 98 tanesinin  $Cp^B$  fenotipinde olduğu,  $Cp^A$  geni frekansının 0.0200,  $Cp^B$  geni frekansının ise 0.9800 olduğu tespit edildi (Tablo X). Çeşitli toplumlarda seruloplazmin gen frekanslarına bakıldığında; Avrupa'da  $Cp^A = 0.0136$ ,  $Cp^B = 0.9856$   $Cp^C = 0.0008$ , Orta Doğu'da  $Cp^A = 0.0132$ ,  $Cp^B = 0.9848$ ,  $Cp^C = 0.0018$ , Afrika'da  $Cp^A = 0.0914$   $Cp^B = 0.9140$ ,  $Cp^C = 0.0031$  ve Amerika'da  $Cp^A = 0.0520$ ,  $Cp^B = 0.9392$  ve  $Cp^C = 0.0076$ 'dır (66). Bizim sonuçlarımız Avrupa ve Orta Doğu'da tespit edilmiş olan gen frekanslarıyla uyumludur.

Sonuç olarak; iskemik kalp hastalıklarının oluşumunda genetik faktörlerin etkisi olduğu bilinmesine rağmen, serum proteinleri genetik polimorfizmi ile iskemik kalp hastalığı arasında bir bağlantı kurulamamıştır.

## 6. SONUÇ

Gaziantep S.S.K. Hastanesi Dahiliye Kliniği ve S.B.Gaziantep Devlet Hastanesi Kalp ve Koroner Yoğun Bakım Merkezi'ne başvuran toplam 50 iskemik kalp hastasında, serum lipoproteinleri düzeyinde meydana gelen değişimleri ve bazı serum proteinleri (haptoglobin, seruloplazmin, transferrin ve grup spesifik komponent)'nin fenotipleri ile iskemik kalp hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi ile araştırmayı amaçladık. Ayrıca, enzimatik metoda uygun olarak spektrofotometrik yöntem ile serumda; total kolesterol, trigliserit, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü, düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü ve çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü miktarları saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda:

Lipoprotein elektroforezi değerlerinden beta lipoprotein (LDL) ve pre-beta lipoprotein (VLDL) yüzdeleri; iskemik kalp hastalarında kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Şilomikron yüzdesi her iki grup arasında farksız bulunurken, alfa lipoprotein (HDL) yüzdesinin iskemik kalp hastalarında önemli düzeyde düşük olduğu saptanmıştır.

Sonuçta beta lipoprotein ve alfa lipoprotein değerlerinin iskemik kalp hastalarında en iyi değerlendirme kriterlerinden olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda; spektrofotometrik yöntemle tespit ettiğimiz serum trigliserit ve serum total kolesterol miktarları iskemik kalp hastalarında kontrol grubundan önemli düzeyde farklı bulunmuştur. Yine aynı yöntemle tespit edilen serum yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü miktarının iskemik kalp hastalarında, kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük olduğu saptanırken, Friedewald formülünden hesaplanan düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü ve çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü miktarları hasta grubunda önemli düzeyde yüksek bulunmuştur.

Araştırmamızda incelenen serum proteinlerinin fenotipleri ve gen frekansları ise şöyledir;

Haptoglobinler için; hasta ve kontrol grupları gerek haptoglobin fenotipleri ve gerekse Hp<sup>1</sup> ve Hp<sup>2</sup> gen frekansları bakımından farksız bulunmuştur. İki grubun toplamına

bakıldığında; 100 kişiden 8'inin Hp 1-1 fenotipinde, 39'unun Hp 2-1 fenotipinde ve 53 kişinin de Hp 2-2 fenotipinde olduğu gözlenmiştir. Hp<sup>1</sup> geni frekansı 0,2750 ve Hp<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.7250 olarak saptanmıştır.

**Grup spesifik komponent için;** hasta ve kontrol gruplarının grup spesifik komponent fenotipleri ile Gc<sup>1</sup> ve Gc<sup>2</sup> gen frekansları yönünden karşılaştırılması sonucunda iki grup arasında fark olmadığı saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarına toplam olarak bakıldığında ise; 100 kişiden 36'sının Gc 1-1 fenotipinde, 61'inin Gc 2-1 fenotipinde ve 3 kişinin de Gc 2-2 fenotipinde olduğu tespit edilmiştir. Gc<sup>1</sup> geni frekansı 0.665 ve Gc<sup>2</sup> geni frekansı ise 0.335 olarak bulunmuştur.

**Transferrin için;** transferrin fenotipleri ile Tf<sup>C</sup> ve Tf<sup>D</sup> gen frekansları bakımından karşılaştırılan hasta ve kontrol grupları arasında fark tespit edilmemiştir. İki gruba toplam olarak bakıldığında ise; 100 kişiden 98'inin TfCC fenotipinde, 2 kişinin ise TfD fenotipinde olduğu saptanmıştır. Tf<sup>C</sup> geni frekansı 0.9800 iken Tf<sup>D</sup> geni frekansının 0.0200 olduğu tespit edilmiştir.

**Seruloplazmin İçin;** hasta ve kontrol gruplarının seruloplazmin fenotipleri ile Cp<sup>A</sup> ve Cp<sup>B</sup> gen frekansları yönünden farksız olduğu tespit edilmiştir. İki gruba toplam olarak bakıldığında ise; 100 kişiden 98'inin Cp<sup>B</sup> fenotipinde ve 2 kişinin ise Cp<sup>A</sup> fenotipinde olduğu bulunmuştur. Cp<sup>A</sup> geni frekansı 0.02 olarak belirlenirken Cp<sup>B</sup> geni frekansı 0.98 bulunmuştur.

Sonuç olarak; incelediğimiz serum proteinleri (Hp,Gc,Tf,Cp) genetik polimorfizmi ile iskemik kalp hastalıkları arasında bir ilişki saptanamamıştır.

## 7. ÖZET

Poliakrilamid jel disk elektroforezi yöntemi kullanılarak, 50 iskemik kalp hastası ve 50 sağlıklı bireyde serum lipoproteinlerinin düzeyleri ve bazı serum proteinleri (transferrin, haptoglobin, ceruloplazmin ve grup spesifik komponent)'nin genetik polimorfizmi araştırılmıştır. Ayrıca serumda; total kolesterol, trigliserit, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü, düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü ve çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü miktarları saptanmıştır.

Sonuçta; beta lipoprotein ve pre-beta lipoprotein yüzdeleri ile düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü, çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü, total kolesterol ve trigliserit miktarları iskemik kalp hastalarında normal bireylere nazaran yüksek bulunmuştur. Alfa lipoprotein yüzdesi ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolü miktarı hasta bireylerde sağlıklı kişilerden daha düşük, şilomikron yüzdesi ise farksız bulunmuştur.

Ayrıca araştırdığımız serum proteinlerinin genetik polimorfizmi ile iskemik kalp hastalığı arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır.

## **8. SUMMARY**

By using polyacrylamide gel disc electrophoresis method, the levels of serum lipoproteins and genetic polymorphism of serum proteins (transferrin, haptoglobin, ceruloplasmin, group specific component) have been investigated in 100 individuals (50 of them are healthy, the rest are the patients with ischemic heart diseases). In addition to the levels of total cholesterol concentration, triglycerides concentration, high-, low- and very low-density lipoprotein cholesterol concentration have been computed and plotted.

It has been observed that; the percentage of beta lipoproteins and pre-beta lipoproteins and the level of triglycerides concentration have been found to be higher for patients than normals. The percentage of alpha lipoproteins and the level of high density lipoprotein cholesterol concentration have been found to be less for patients than healthy individuals while chylomicrons percentage were no difference.

In addition, genetic polymorphism of serum proteins have been investigated. Finally, it was found that there was no relationship between genetic polymorphism of serum proteins and ischemic heart diseases.

## 9. KAYNAKLAR

- 1- AÇIKGÖZ, A.: Arterioskleroz (Biyokimya). Arterioskleroz, Ankara Üniv. Diyarbakır Tıp Fak. Yayınları, 8 : 55-58, Ankara ,1973.
- 2- AGARWAL, D.P. , SRIVASTAVA, L.M., BENKMANN, H.G., GOEDDE, H.W., GRUNWALD, P.: Studies on the polymorphism of C3, Tf and Bg in dows's syndrome and other diseases. Humangen.; 29 : 23-28,1975.
- 3- AKÖZ, M., ÜNALDI, M., ÇİĞLİ, A., AKKUŞ, İ., KALELİ, S., BODUR, S.: Diabetik şahısların lipoprotein elektroforezi bulguları ve gama bandının tespiti. S.Ü. Tıp Fak. Derg., 8 (1): 29-32-,1992.
- 4- ALSAN, S.: Damar sertliği. Bilim ve Teknik Derg. Tübitak, 25 (290): 5-10, Ocak 1992.
- 5- APPS, D.K., COHEN, B.B., STELL, C.M.: Biochemistry, 5thed. W.B. Saunders Company, London, 1992, p.30-366.
- 6- ASSMANN, G., FUNKE, H.: HDL metabolism and atherosclerosis. J. Cardiovas. Pharmacol., 16 (Suppl.9): 15-20,1990
- 7- BAŞARAN, N.: Tıbbi Genetik Ders Kitabı, 4.bs. Bilim Teknik Yayınevi, Eskişehir, 1986, S. 200-202.
- 8- BREGUET, G., NEY, R. , GRIMM, W., HOPE, S.L., KIRK, R.L., BLAKE, N.M., NARENDRA, I.B., TOHA, A.: Genetic survey of an isolated community in Bali, Indonesia. Hum. Hered., 32: 52-61, 1982
- 9- CLARKE, J.T.: Simplified "disk" (polyacrylamide jel) electrophoresis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 121 : 428-435, 1964.
- 10- ÇOBANOĞLU, N.: Arterioskleroz'da etiyopotogenez. Arterioskleroz. Ankara Üniv. Diyarbakır Tıp Fak. Yayınları. 8: 7-27, Ankara., 1973
- 11- DAHM, H.H., SCHLOOT, W., GOEDDE, H.W.: Transferrin polymorphism in central Thailand. Hum. Genet. 24: 231-233, 1974.

- 12- DALGIÇ, N, YETKİN, D.: Sistemik hipertansiyon ve beraberinde kroner aterosklerotik kalp hastalığı bulunan olgularda serum yüksek dansiteli lipoprotein düzeyleri ve lipoprotein fenotipleri. Doğa T.U. Tıp ve Ecz. Derg. , 11 (1): 24-29, 1987.
- 13- DAVIS, B.J.: Disc elektroforesis II. Method and application to human serum proteins. Part II. Clinical applications. Ann. N.Y. Acad. Sci., 121 : 404- 427, 1964.
- 14- DİNÇOL, G., AKSOY, M., ERDEM, Ş., DİNÇOL, K., KAZANCIOĞLU, R.: Eti Türkleri'nde haptoglobin ve transferrin tiplerinin dağılımı. Doğa Bilim Derg., 8 ( 1 ) : 11-13, 1984.
- 15- DUMAN M.F., CAMARE; R., NASSAR, B.B., DANG, Q.Q., CLERE M.: Discontinuous polyacrylamide gel-agarose gel immunoelektroforesis for analysis of plasma lipoproteins. Electrophoresis, 11 ( 10 ) : 846-851, 1990.
- 16- ERDAL, M.E., BUDAK, T.: Kanserli hastalarda serum proteinleri düzeyinin ve bazı haptoglobin tipleri sıklığının poliakrilamid jel disk elektroforez yöntemiyle araştırılması. D.Ü. Tıp Fak. Derg., 15 ( 1-2): 147- 163, 1988.
- 17- EPSTEIN, E.: Electrophoresis in TEITZ, N.W (ed.): Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1987, P.77-88.
- 18- ESİN, A., EKNİ, M., GAMGAM, H.: Sağlık Bilimlerinde İstatistik, 1. bs. Gazi Üniv. Yayınları, Ankara, 1991, S.355-364
- 19- FAIRBANS, V.F., KLEE, G.G.: Biochemical aspects of hematology in TEITZ, N.W. (ed.): Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1987, P.811.
- 20- FERRELL, R.E., UEDA, N., SATOH, C., TANIS, R.J., NEEL, J.V, HAMILTON, H.B., INAMIZU, T., BABA, K.: The frequency in Japanese of genetic variants of 22 proteins. Ann Hum. Genet., 40 : 407-418, 1977.
- 21- FREDRICKSON, D.S., LEVY, R.I., LINDGREN, F.T.: A comparison of heritable abnormal lipoprotein patterns as defined by two different techniques. The J. of Clin. Invest., 47: 2446-2457, 1968.

- 22- FRINGS, C.S., FOSTER, L.B., COHEN, P.S.: Electrophoretic Separation of serum lipoproteins in polyacrylamide gel. *Clin. Chem.*, 17 (2): 111-114, 1971.
- 23- GIBLETT, E.R.: Genetic Markers In Human Blood, 1st ed. Spottiswoode, Ballantyne and Co. Ltd., London and Colchester, 1969, P.62-255.
- 24- GOEDDE, H. W., BENKMANN, H.G., AGARWAL, D.P., BLENZLE, U., GUGGENMOOS, R., ROSENKAIMER, F., HOPPE, H.H., BRINKMANN, B.: Genetic studies in Cameroon: Red cell enzyme and serum protein polymorphisms. *Z. Morph. Anthropol.*, 70 (1): 33-40, 1979.
- 25- GOEDDE, H.W., BENKMANN, H.G., HUSSEIN, L., NAGGAR, B.E.: Genetic studies in Egypt: Red cell enzyme and plasma protein polymorphisms. *Z. Morph. Anthropol.*, 71 (3): 329-355, 1980.
- 26- GOLDSTEIN, J.L., ALBERS, J.J., SCHROTT, H.G., HAZZARD, W.R., BIERMAN, E.L., MOTULSKY, A.G.: Plasma lipid levels and coronary heart disease in adult relatives of newborns with normal and elevated cord blood lipids. *Am.J. Hum Genet.*, 26: 727-735, 1974.
- 27- GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S.: The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Ann. Rev. Biochem.*, 46 : 897-930, 1977.
- 28- GOUD, J.D., RAO, P.R.: Transferrin, haptoglobin and group specific component types in Tribal populations of Andhra Pradesh. *Hum. Hered.* 30 : 12-17, 1980.
- 29- GÖZÜKARA, M.E.: Biyokimya, 1.bs., Meteksan Ltd. Şti., Ankara, 1990, S.276-278.
- 30- GUYTON, A.C.: Tıbbi Fizyoloji, çev.: GÖKHAN, N., ÇAVUŞOĞLU, H., 3.bs., C.I ve II. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 1989, S.428-434, 1177- 1192.
- 31- HAVEL, R.J., KANE, J.P.: Introduction: Structure and metabolism of plasma lipoproteins in SCRIVER, C.R. BEAUDET, A.L., SLY, W.S., VALLE, D. (eds.): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6th ed., Vol.I. McGraw-Hill Inc., U.S.A., 1989, P. 1129-1138.
- 32- İLÇAYTO, R.: Arterioskleroz patolojisi. Arterioskleroz, Ankara Üniv. Diyarbakır Tıp Fak., 8: 35-53, Ankara 1973.

- 33- JOHNSON, A.M., CLEVE, H., ALPER, C.: Variants of the group specific component system as demonstrated by immunofixation electrophoresis. *Am. J. Hum. Genet.*, 27 : 728-736, 1975.
- 34- JULIAN, D.G.: *Cardiology*, 5th ed. W.B. Saunders Company, London, 1990, P. 135-177.
- 35- KAMBOH, M.I., FERRELL, R.E.: Ethnic variation in vitamin D-binding protein (Gc): A review of isoelectric focusing studies in human populations. *Hum. Genet.*, 72: 281- 293, 1986.
- 36- KARLSON, P.: *Biyokimya*, çev.: TELEFONCU, A., 1.bs. Arkadaş Tıp Kitapları, Kırklareli, 1988, S. 57- 292.
- 37- KATAYAMA, K.: Genetic differentiation of blood polymorphic systems among three isolated human populations in central Japan. *Bulletin of the Osaka Medical School*, 25 (1): 12-29, 1979.
- 38- KITA, T., ISHII, K., YOKODE, M., KUME, N. NAGANO, V., ARAI, H., KAWAI, C.: The role of oxidized low-density lipoprotein in the pathogenesis of atherosclerosis. *Eur. Heart J.*, 11 (Supp T.E): 122-127, 1990.
- 39- KLOPF, F., RİDNER, M.L.: *İskemik kalp hastalığı*, çev. ed. PINAR, T.: *Tedavi El Kitabı*, 26.bs. Türedav, Ankara, 1992, S.92-98.
- 40- KOYAMA, H., OGAMA, M., SUZUKI, S.: Relationship between total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol and the effects of physical exercise, alcohol consumption, cigarette smoking and body mass index, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 36 (4): 377-385, 1990.
- 41- MASSE, J.: Calculation of low-density lipoprotein cholesterol. *Archives of Internal Med.*, 151 (4): 810, 1991.
- 42- MAURER, H.R., ALLEN, R.C.: Useful buffer and gel systems for polyacrylamide gel electrophoresis. *Z.klin. Chem. U.klin. Biochem.*, 10: 220-225, 1972.
- 43- McCOMBS, M.L., BOWMAN, B.H., ALPERIN, J.B.: A new ceruloplazmin Variant, *Cp Galveston. Clin. Genet.*, 1: 30-34, 1970.

- 44- McLOUGHLIN,K.,BLAKE,N.M.,HOGAN,P.F.:Blood group, red cell enzyme and serum protein types in the Buka Islanders, Papua New Guinea. Hum. Hered., 32: 152-159,1982.
- 45- MENĐİ,A.: Pratik Biyokimya. İstanbul Üniv. Veteriner Fak., İstanbul, 1991, S.18-22.
- 46- MILLER, G.J., MILLER,N.E.: Plasma high-density lipoprotein concentration and development of ischaemic heart disease. Lancet, 1 : 16-19, 1975.
- 47- MUTAF, I., EGİLMEZ, N., ONAT, T., ERLAÇİN, S.: Serum LDL-kolesterol tayin yöntemlerinin karşılaştırılması. Ege Üniv. Tıp Fak. Derg. 28 (3): 1153- 1158.
- 48- MUTAF, I., EGİLMEZ, N., ONAT,T., ERLAÇİN, S.: Sağlıklı yetişkinlerde serum lipid dağılımı. Ege Üniv. Tıp Fak. Derg., 28 (4): 1485-1494, 1989.
- 49- MUTAF, I., EGİLMEZ, N., ONAT, T., ERLAÇİN, S.: Sağlıklı yetişkinlerde total kolesterol / HDL-kolesterol ve LDL- kolesterol/ HDL- kolesterol oranlarının dağılımı. Ege Üniv. Tıp Fak. Derg., 28 (6): 2453 2460, 1989.
- 50- NARAYAN, K.A., NARAYAN,S., KUMMEROW, F.A.: Disc electrophoresis of human serum lipoproteins. Nature, 205: 246- 248, 1965.
- 51- NOYAN, A.: Fizyoloji Ders Kitabı, 5. bs. Meteksan Ltd. Şti., 1988, S.940-953.
- 52- ORNSTEIN, L.: Disc electrophoresis-I. Background and theory. Ann. N.y. Acad. Sci., 121: 321- 348, 1964.
- 53- OWEN,J.A., SMITH, R., PADANYI, R., MARTIN,J.: Serum haptoglobin in disease. Clin. Sci., 26:1-6, 1963.
- 54- ÖNDER, E., SARIKARDEŞOĞLU, M., SARIKARDEŞOĞLU, H.: Diabetes mellituslu hastalarda serum lipid parametreleri ve lipoprotein elektroforezinin değerlendirilmesi. Biyokimya Derg. 13 (1): 83-91, 1988.
- 55- ÖZDAMAR, K.: Biyoistatistik, 2.bs. Bilim Teknik Yayınevi, 1989, S. 263-267.
- 56- PASTEWKA,J.V., NESS, A.T., PEACOCK, A.C.: Electrophoretic patterns of normal human serums by disc electrophoresis in polyacrylamide gel. Clin. Chim. Acta., 14: 219-226, 1966.

- 57- PATSCH, J.R., GOTTO, A.M.: Biochemistry of lipid regulation in HURST, J.W., SCHLANT, H.C., RACKLEY, C.E., et. al (eds.): The Heart (Arteries and Veins). McGraw-Hill Inc., 1990,P.106.
- 58- ROCHE,D. ATGER, V., QUANG, N.T., GIARD, A., EKINDJIAN, O.G.: Polyacrylamide gel electrophoresis in quantification of high-density lipoprotein cholesterol. Clin. Chem., 31 (11): 1893-1895, 1985.
- 59- ROSS,R.: Atherosklerotic coronary heart disease, factor influencing atherogenesis in HURST, J.W., SCHLANT, H.C., RACKLEY, C.E. et. al. (eds.): The Heart (Arteries and Veins). McGraw-Hill Inc., 1990, P.877-891.
- 60- SALONEN,J.T., SALONEN,R.: Association of serum low density lipoprotein cholesterol, smoking and hypertension with different manifestations of atherosklerosis. Int. J. Epidemiol., 19 (4): 911- 917,1990.
- 61- SAOLOJİ, A.M., KHARE, P.M.: Poly-acrylamide gel disc elektrophoresis (PAGDE). Part I. Indian J. Pathol. Microbiol., 28: 85-89, 1985.
- 62- SARIKARDEŞOĞLU,M., ÖNDER, E., SARIKARDEŞOĞLU, H.: Aterosklerotik kalp hastalarında serum lipid parametreleri ve lipoprotein elektroforezi değerlendirmeleri ile tanıya yaklaşım. Biyokimya derg.; 13 (1): 75-82-1988.
- 63- SCHOEN, F.J.: Interventional and Surgical Cardiovascular Pathology: Clinical Correlations and Basic Principles. Ed: PEDERSEN,D.W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1989, P.59-68.
- 64- SHREFFLER. D.C., BREWER, G.J., GALL, J.C., HONEYMAN, M.S.:Electrophoretic variation in human serum ceruloplasmin: A new genetic polymorphism. Biochem. Gene., 1: 101-115, 1967.
- 65- SONEL,A.: Kardiyoloji. Türk Tarih Kurumu Basımevi, Ankara, 1976, S.341-388.
- 66- SRIVASTAVA, L.M., BENKMANN, H.G., GOEDDE, H.W.: Review on genetic traits in Europeans, Middle East Orientals and Negroes: Serum proteins. Indian J. of Physic. Anthro.and Hum. Genet., 3 (2): 85- 140, 1977.

- 67- STEIN, E.A.: Lipids, lipoproteins and apolipoproteins in TEITZ, N.W. (ed.): Fundamentals of Clinical Chemistry, 3th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1987, S.448-479.
- 68- STEINBERG, D.: Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation*, 76 (3): 508-514, 1987.
- 69- STEINGART, R.M., SCHEVER, J.: Assessment of myocardial ischemia in HURST, J.W., SCHLANT, R.C., RACKLEY, C.E., et. al. (eds.): The Heart (Arteries and Veins). McGraw-Hill Inc., 1990, P.351.
- 70- STREJA, D., STEINER, G., KWITEROVICH, P.O.: Plasma high-density lipoproteins and ischemic heart disease. Studies in a large kindred with hypercholesterolemia. *Ann. of Int. Med.*, 89: 871-880, 1978.
- 71- SWAIN, B.K., TALUKDER, G., SHARMA, A.: Genetic variations in serum proteins in relation to diseases. *Med. Bio.*, 58: 246-263, 1980.
- 72- TEKEŞ, S., ERDAL, E., KELLE, A.: Laktasyon süresince insan sütünün protein fraksiyonlarındaki değişimin sodium dodecyl sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile araştırılması. *Dicle Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 18: (4): 16-23, 1991.
- 73- TOKTAŞ, S., YILDIRIM, M.S., TOPRAK, N. : Aterosklerotik kalp hastalıklarında Güneydoğu Anadolu Bölgesi için bölgesel risk faktörleri. *Dicle Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 18 (4): 30-37, 1991.
- 74- TOLLIN, C., ERICSSON, M., JOHNSON, O., BACKMAN, C.: Clearance of triglycerides from the circulation and its relationship to serum lipoproteins: Influence of age and sex. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 45 : 679-648, 1985.
- 75- UTERMANN, G., STEINMETZ, A., WEBER, W.: Genetic control of human apolipoprotein E polymorphism: Comparison of one- and two- dimensional techniques of isoprotein analysis. *Hum. Genet.*, 60: 344-351, 1982.

- 76- VAN HORN, L.V., BALLEW, C., LIU, K., RUTH, K., Mc DONALD, A., HILNER, J.E., BURKE, G.L., SAVAGE, P.J., BRAGG, C., CAAN, B., JACOBS, D., SLATTERY, M., SIDNEY, S.: Diet body size, and plasma lipids-lipoproteins in young adults: Differences by race and sex (The coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study). *Am. J. Epidemiol.*, 133 (1): 9-23 1991.
- 77- VELAZQUEZ, E., MONTES, A., ALBUSAC, M.R.: Free cholesterol transfer from human lower density lipoproteins ( $d < 1.063$ ) to lipoprotein-deficient serum and high-density lipoproteins. *Metabolism*, 39 (12): 1263- 1266, 1990.
- 78- WALLDIUS, G., RENGSTRÖM, J., NILSSON, J., JOHANSSON, J., SCHÄFER-ELINDER, L., MOELGAARD, J., HADELL, K., OLSSON, A.G., CARLSON, L.A.: The role of lipids and antioxidative factors for development of atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.*, 71 (6): 15B- 19B, 1993.
- 79- WOLMARANS, P., BENADE, A.J.S., KOTZE, T., DAUBITZER, A.K., MARAIS, P.M., LAUBSCHER, R.: Plasma lipoprotein response to substituting fish for red meat in the diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53 : 1771- 1776, 1991.
- 80- YILDIRIM, H.: Biyofizik, Anadolu Üniv. Eğit. Sağ. ve Bilimsel Çalışmalar Vakfı Yayını, Eskişehir, 1985, S.431-433.
- 81- YLÄ-HERTULA, S., PALINSKI, W., ROSENFELD, M.E., STEINBERG, D., WITZTUM, J.L.: Lipoproteins in normal and atherosclerotic aorta. *Eur. Heart J.*, 11 (Suppl E):88- 99, 1990.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ