

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATEROSKLEROZDA BİLİRUBİNİN OKSİDE LDL
OLUŞUMU ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN
TIKALI DAMAR SAYISI AÇISINDAN İNCELENMESİ**

Biyolog Özkan SELVİ

**FBE Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Yar. Doç. Dr. Volkan Sözer

İSTANBUL, 2005

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	v
KISALTIMA LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1 GİRİŞ	1
2 ATEROSKLEROZ	2
2.1 Aterosklerotik Risk Faktörler	2
2.1.1 Hiperlipidemi	3
2.1.1.1 Kolesterol	4
2.1.1.2 Trigliseritler	5
2.1.1.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler	6
2.1.1.4 Lipoprotein (a)	6
2.1.2 Hipertansiyon	6
2.1.2.1 Hipertansiyonun Aterojenik Etkileri	6
2.1.3 Sigara	7
2.1.3.1 Sigaranın Zararlı Etkileri	7
2.1.4 Diabetes Mellitus	7
2.1.4.1 Diyabetin Ateroskleroz Mekanizması	7
2.2 Diğer Risk Faktörleri	8
2.2.1 Şişmanlık	8
2.2.2 Yaş, Cinsiyet, Genetik ve Sosyal Durum	8
2.2.3 Homosistein	9
2.2.4 Fibrinojen	9
2.2.5 İnflamasyon	10
3 LİPOPROTEİNLER	11
3.1 LDL	13
3.1.1 Apolipoprotein B	15
3.1.2 LDL Oksidasyonu	15
LDL Oksidasyonu	15

4.	ATEROSKLEROZUN GELİŞİMİ	17
4.1	Lipit Şeridi	17
4.2	Fibröz Plak	18
4.3	Komplike Lezyon	20
4.4	Okside LDL' nin Ateroskleroz Oluşumundaki Rolü.....	22
5	HEM KATABOLİZMASININ ÜRÜNÜ: BİLİRUBİN.....	24
5.1	Bilirubin Antioksidan Özelliği	26
6	MATERYAL ve METODLAR	28
6.1	Total Bilirubin Ölçümü	28
6.1.1	Kolorimetrik Yöntem	28
6.1.2	Örnek	28
6.1.3	Kullanılan Çözeltiler	28
6.1.4	Çalışılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	28
6.1.5	Prosedür	29
6.1.6	Sonuçların Hesaplanması	30
6.2	Okside LDL Ölçümü	30
6.2.1	Yöntemin İlkeleri.....	29
6.2.2.	Örnek Toplanması ve Kullanımı	31
6.2.3.	Materyal.....	31
6.2.4.	Yöntemin Parametreleri.....	31
6.2.5.	Ölçüm İçin Kullanılan Kitler	31
6.2.6.	Konjugat Çözeltisinin Hazırlanması.....	31
6.2.7.	Örneklerin Seyreltilmesi.....	32
6.2.8.	Test Prosedürü	32
7.	SONUÇLAR.....	33
7.1	Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları.....	33
7.1.1	İki Tıkalı Damar Bulunan Bireylerde Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları	33
7.1.2	Bir Tıkalı Damar Bulunan Bireylerde Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları	34
7.1.3	Tıkalı Damar Bulunmayan Bireylerde Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları.....	35
7.2	Bilirubin Sonuçlarının İncelenmesi	36
7.3	Okside LDL Sonuçlarının İncelenmesi	38
7.4	Okside LDL ve Bilirubin Sonuçlarının Birlikte Değerlendirilmesi	41
7.4.1	Bir Tıkalı Damar İçin Çiftli Testler	41
7.4.2	İki Tıkalı Damar İçin Çiftli Testler.....	42
7.4.3	Normal Değerler İçin Çiftli Testler	43
7.5	Veriler Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi.....	44

8.	TARTIŞMA.....	47
	KAYNAKLAR.....	52
	ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGE LİSTESİ

α	Alfa
μ	Mikro
%	Yüzde
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat

KISALTMA LİSTESİ

A(HMG COA)	Hydroxymethylglutaryl coenzym
CAD	Koroner Arter Hastalığı
CRP	C-Reaktif Protein
Bc	Albumine Bağlı Bilirubin
Bu	Albumine Bağlı Olmayan Bilirubin
DMSO	Dimetilsülfoksit
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
ELISA	Enzyme Linked Immunosobent Assay
FFA	Serbest Yağ Asitleri
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler
IHD	İskemik Kalp Hastalığı
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MCP-1	Monocytes Chemoattractant Protein
MCSF	Macrophage Colony Stimulating Factor
MI	Myokard İnfarktüsü
PAI-1	Doku Tipi Plazminojen İnhibitörü
PVD	Çevresel Damar Hastalığı
RES	Retiküloendotelyal Sistem
TG	Trigliserit
TNF	Tümör Nekrozin Faktör
t-PA	Doku Tipi Plazminojen Aktivatörü
UDP	Uridin 5' Difosfat
VCAM	Damar Hücreleri Yapışma Molekülü
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
1 Damar Tıkalı	Yapılan Anjiyo Sonucunda Bir Koroner Arter Damar Tıkalı Bulunan Gurup
2 Damar Tıkalı	Yapılan Anjiyo Sonucunda İki Koroner Arter Damar Tıkalı Bulunan Gurup
N- Damar Tıkalı	Yapılan Anjiyo Sonucunda Tıkalı Koroner Arter Damar Bulunmayan Gurup

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1	Lipoprotein	11
Şekil 3.2	LDL katabolizması.....	14
Şekil 4.1	Ateroskleroz oluşumu.....	19
Şekil 5.1	Bilirubin oluşumu.....	25

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1.1	20 yaş üstü kolesterol değerleri.....	4
Çizelge 3.1	İnsanlarda kan plazması lipitleri.....	11
Çizelge 3.2	İnsan kan plazmasındaki lipoproteinler ve bileşimleri.....	12
Çizelge 7.1	Anjiyo sonucu iki tıkalı damarı bulunan hastalarda bilirubin ve okside LDL değerleri.....	33
Çizelge 7.2	Anjiyo sonucu bir tıkalı damarı bulunan hastalarda bilirubin ve okside LDL değerleri.....	34
Çizelge 7.3	Tıkalı damar olmadığında bilirubin ve okside LDL değerleri.....	35
Çizelge 7.4	Bir tıkalı damar bilirubin düzeylerinin N damar tıkalı guruba göre karşılaştırılması	36
Çizelge 7.5	Bir tıkalı damar için test sonuçları.....	36
Çizelge 7.6	İki tıkalı damar bilirubin düzeylerinin N damar tıkalı gurubuna göre karşılaştırılması.....	37
Çizelge 7.7	İki tıkalı damar için test sonuçları.....	37
Çizelge 7.8	Bir tıkalı damar için istatistikler.....	38
Çizelge 7.9	Bir tıkalı damar için test sonuçları.....	38
Çizelge 7.10	İki tıkalı damar için istatistikler.....	39
Çizelge 7.11	İki tıkalı damar için test sonuçları.....	39
Çizelge 7.12	Bir ve iki tıkalı damar için istatistikler.....	40
Çizelge 7.13	Bir ve iki tıkalı damar için test sonuçları.....	40
Çizelge 7.14	Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.....	41
Çizelge 7.15	Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri	41
Çizelge 7.16	Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.....	41
Çizelge 7.17	Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.....	41
Çizelge 7.18	İki tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.....	42
Çizelge 7.19	İki tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.....	42
Çizelge 7.20	İki tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.....	42
Çizelge 7.21	İki tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.....	42

Çizelge 7.22	Normal grup için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.....	43
Çizelge 7.23	Normal grup için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.....	43
Çizelge 7.24	Normal grup için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.....	43
Çizelge 7.25	Veriler arasında korelasyon.....	44
Çizelge 7.26	Veriler arasında korelasyon.....	45
Çizelge 7.27	Eşlenik olan veriler için korelasyon.....	46

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanma aşamasında bana yardımcı olan, yol gösteren Sn. Yar. Doç. Dr. Volkan Sözer' e teşekkür ederim. Ayrıca yüksek lisans öğretimim boyunca desteğini esirgemeyen Sn. Doç. Dr. İnci Ataç' a ve sevgili arkadaşlarıma şükranlarımı sunuyorum.

Bugüne kadar yolumu aydınlatan bütün öğretmenlerime, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün çalışanlarına, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen arkadaşım Ezgi Kılıç'a ve aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Bilirubin seviyesinin azalması koroner hastalıkları ile bağlantılıdır. Bilirubin, LDL oksidasyonunu ve ateroskleroza engelleyici bir antioksidandır.

Biz anjiyo olan koroner arter hastası bireylerde serum bilirubin ve okside LDL seviyelerini tespit ettik.

Hastaları bir koroner arteri tıkalı olan, iki koroner arteri tıkalı olan ve koroner arteri tıkalı olmayan üç gruba ayırdık.

Yapılan çalışmada, bilirubin ve okside LDL seviyeleri arasında doğrudan bir değişikliğe neden olabilecek bir bağlantı bulamadık. Fakat bir ve iki damarı tıkalı olan hastalar ile normal artere sahip hastaların okside LDL seviyeleri arasında anlamlı fark bulundu.

Anahtar kelimeler: Ateroskleroz, okside LDL, bilirubin.

ABSTRACT

Decreased serum bilirubin levels have been associated with coronary artery disease. It is believed bilirubin acts as antioxidant preventing oxidized LDL formation and subsequent atherosclerosis.

We determined serum oxidized LDL and bilirubin levels of the coronary artery disease patients who were diagnosed angiographically.

We separated patients into three groups which were one coronary artery obstruction, two coronary artery obstruction and no coronary artery obstruction (N artery group). All of the three were diagnosed angiographically.

We couldn't find direct inverse relation between the bilirubin and oxidized LDL levels of the three groups, but we have found significant differences between oxidized LDL levels of the one, two obstruction patients and N artery obstruction patients.

Keywords: Atherosclerosis, oxide LDL, bilirubin.

1.GİRİŞ

Ateroskleroz gelişimi sinsi bir şekilde uzun yıllar boyunca sessiz bir süreç gösterebileceği gibi, çok kısa bir süre içerisinde gelişen bazı olaylar sonrasında aniden oluşan ağır klinik tablolara da sebebiyet verebilir. Ateroskleroz gelişiminde kan plazmasının lipit oranları, yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite, çeşitli hastalıklar ve genetik yatkınlık gibi bir çok etken, aynı anda farklı mekanizmalar üzerinden etki ederek rol oynamaktadır. Gerek orta ve büyük çapa sahip atardamarlar ve gerekse küçük çaplı atardamarlar bu olaylar sonrasında normal yapılarını kaybederler. Atardamarlar kalpten pompalanan kanı uygun büyüklüklerde dallanarak ve giderek incelerek, vücudun tüm organlarına götürürler. Böylelikle organlar, bu atardamar düzeneği ile organik madde ve oksijen teminine olanak sağlayan yeterli kan akımı sağlandığı sürece, fonksiyonlarını düzenli bir şekilde devam ettirirler. Sonuçta atardamarlar, kalpten vücuda pompalanmış olan kanı, gerekli madde açısından beslemek üzere girdikleri organlara taşırlarken, bu damarların yapılarında oluşan tıkanıklık sonrasında kan akımındaki yetersizlik nedeni ile bir takım belirti ve bulgu ortaya çıkmaktadır. Bu belirti ve bulgular ışığında ateroskleroza neden olan etkenlerin tam olarak anlaşılması ve aterosklerozun tedavisi için bir çok çalışma yapılmaktadır.

2. ATEROSKLEROZ

Ateroskleroz ağır kronik bir damar hastalığıdır. Lezyon, aterosklerotik plağın varlığı ile karakterizedir. Atardamar duvarının düzensiz bir kalınlaşması olan bu plak, damar boşluğunu daraltır ve çoğunlukla atardamarın tıkanmasından sorumlu bir çeşit kan pıhtısı oluşumuna yol açar.

Ateroskleroz, damar çapı ne olursa olsun atardamarların duvarlarında bir takım olaylar yaşandıktan sonra ortaya çıkan bir durumdur. Özellikle kalp, beyin, böbrek, boyun ve uzuvların atardamarlarında oluşturduğu olaylarla hayati öneme sahip bir çok hastalığın temelinde yatan bir olaydır. Sonuç olarak, belirli bir süreç ile oluşan ateroskleroz sonrasında, damar duvarında başlayan yapı bozukluğu ilerleyerek damarın kan akan orta boşluk bölümünü tıkar ve yetersiz kan akımının ortaya çıkmasına neden olur.

2.1. Aterosklerotik Risk Faktörleri [1]

Aterosklerozun oluşumunda rol oynayan önemli risk faktörleri:

1. Hiperlipidemi.
2. Hipertansiyon.
3. Sigara.
4. Diabetes Mellitus.

Altta yatan kolaylaştırıcı faktörler:

1. Obesite.
2. Fiziksel hareketsizlik.
3. Yağlı, kolesterol açısından zengin diyet.
4. Genetik.

Yardımcı risk faktörleri:

1. Trigliserit artışı.
2. LDL artışı.
3. Lipoprotein (a).

4. Homosistein.

5. Koagulasyon faktörleri.

Değiştirilemeyen aterosklerotik risk faktörleri:

1. Yaş.

2. Cinsiyet.

3. Genetik.

4. Psikososyal faktörler.

Yeni aterosklerotik risk faktörleri içinde:

1. Homosistein.

2. Lipoprotein.

3. Fibrinogen.

4. Fibrinolitik fonksiyon.

5. İnflamasyon.

2.1.1. Hiperlipidemi

Kan yağlarının normalden fazla olması haline hiperlipidemi denir. İki ana lipit türü kolesterol ve trigliseriddir. Suda çözünmezler. Proteinlerle birleşerek suda çözünür hale gelirler ve taşınırlar. Santrifuj sonucu yoğunluklarına göre sınıflandırılır. En düşük yoğunluğu trigiliseridler oluşturur. Proteinler yoğunluğu artırır. HDL en yüksek yoğunluğa sahiptir.

Hiperlipidemi, endotel ürünü süperoksit radikallerini artırarak doğrudan nitrik oksidi inhibe eder ve LDL oksidasyonuna neden olur (Olli T. Vd.,1997).

Çizelge1.1 20 yaş üstü kolesterol değerleri (mg/dl)

20 YAŞ VE ÜZERİNDE KOLESTEROL VE TG DEĞERLERİ			
Kolesterol Çeşitleri	İstenen Düzeyler	Sınırdaki Yüksek Değerler	Yüksek Değerler
TOTAL	200'ün altı	200-239	240
LDL	130'un altı	130-159	160
HDL	60'ın üstü	60-35	35
TG	150'nin altı	200-399	400-1000

2.1.1.1. Kolesterol

Hücre zarında, sinirlerin yalıtımında; çeşitli hormonların (steroidlerin) yapısında ve safra asitlerinin yapımında rol oynar. Kolesterolün % 20'si besinlerden; % 80'i karaciğerden sağlanır (Murray, R. R.,vd. 1996). Kolesterol hidrosimetilglutaril koenzim A (HMG COA) aracılığı ile endoplazmik retikulumda sentez edilir. Açlık kolesterolün çoğunu düşük yoğunluklu kolesterol (LDL) oluşturur. Lipit türleri içinde LDL' nin primer aterosjenik özellikte olduğu kanıtlanmıştır (Jialal, I., Devaraj, S.,1996),. LDL yüksekliği aşağıdaki özellikleri ile erken ateroskleroza yol açar:

1. Damar duvarında lipit birikimi (plak oluşumu)
2. Endotel disfonksiyonu (NO salınımı bozulur)
3. Kararsız plak, plak yırtılması, tromboz
4. Proinflamatuvar yanıt
5. Güçlü mitojenik etki

Framingham incelemelerine göre: %1 kolesterol yüksekliği; %2 ateroskleroz artışı ile birlikte. LDL kolesterol içeriğindeki artış ile ateroskleroz oluşumu arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (Bettridge vd., 1998). Serumda ideal LDL düzeyi <100 mg/dl' dir. LDL' nin oksidasyonu aterojenik özellik kazandırır. LDL düzeyi düşük olan insanlarda, KKH riski düşmektedir. LDL düzeyini düşürmekle aterosklerozun ilerlemesi önlenmekte; büyük ölçüde duraklama sağlanmakla beraber; gerileme dahi görülmektedir. Yüksek risk grubunda LDL 100 mg altında olmalıdır (Libby, P., 2002). Non koroner aterosklerozda da böyledir. Orta riskte LDL düzeyi 130'u geçmemelidir. Yüksek riskli olmayan 65 yaş üstü erkek ve 55 yaş üstü kadınlarda LDL<130 olmalıdır (Libby, P., 2002). Düşük risklide LDL 160 altında olmalıdır. LDL 190 üzerinde ise ilaç tedavisi eklenir (Çizelge 1.1).

2.1.1.2 Trigliseritler

Trigliseritler, düşük yoğunlukta lipitlerdir. Yağlı yemek sonu, alınan serum bekletilirse, üstte birikir. Bu tabaka trigliserit açısından çok zengindir. Proteinlerle birleştiiğinde, trigliseridler çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) yapısını alırlar. Şilomikronlar bağırsaktan kapı toplar damarı yolu ile karaciğere taşınır. Oradanda dolaşıma geçer. Kas ve yağ dokusuna geçerek enerjiye dönüşürler. Trigliseridin fazla aterojenik olmadığı kanısı vardı. Fakat trigliseridin fazla artışı sonucu VLDL kalıntılarının orta yoğunluklu lipoproteine (LDL) dönüştüğü; daha yoğun, küçük ve düşük dansiteli lipoproteinlerin ortaya çıktığı anlaşılmıştır. Bu değişim, önemli derece aterojenik özellik kazandırmaktadır. Bu nedenle trigliserid düzeyini 100-150 mg sınırında tutmak yerinde olur (Çizelge 1.1). Genellikle yüksek VLDL olanlarda HDL düşük olur (Libby, P., 2002)

2.1.1.3 Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler

HDL, karaciğer ve bağırsakta üretilir. HDL, kolesterol taşınmasını tersine çevirir (kolesterolü atardamardan karaciğere taşır); LDL' nin damardaki tortularını temizler (May Berliner, vd. 1995). HDL kan kolesterolünün 1/3'ü veya 1/4'ünü taşır. Lipoprotein oksidasyonunu sınırlar. HDL aterogenezi önleyici özelliktedir. Düşük olması aterogenezi hızlandırır. Total kolesterol / HDL-C < 5, Framingham indeksidir. LDL / HDL < 4, PROCAM indeksidir. Bu değerlerin üzeri ateroskleroz riskini artırır. İkincil lipit artışı, hipotiroidi, böbrek hastalığı, siroz, diyabet, ilaçlar ve yağlı diyet ile olur. (Olli, T., 1997),

2.1.1.4 Lipoprotein (a)

Lipoprotein (a) (Lp(a)), apolipoproteine bağlı, LDL' den oluşur. Bağımsız aterojenik olduğu sanılmaktadır. PAI-1 salgısını artırır. Antijenik determinant olduğu vurgulanmaktadır (Durmuş, 2003). Artmış Lp(a) düzeyleri ateroskleroz ve pıhtılaşma olayı için bir risk faktörüdür (Taner vd.,2002).

2.1.2 Hipertansiyon

Atardamar içerisindeki kanın, damar duvarına yaptığı basınç olarak niteleyeceğimiz kan basıncının yüksek olması durumu hipertansiyon olarak tanımlanır. Hipertansiyon, erken ateroskleroza neden olmaktadır. Çoğu kez diğer risklerle (şişmanlık, insülin direnci ve şeker hastalığı ile) birlikte dir. Hipertansiyon kalbin sol karıncık duvar kalınlığını artırır. Sol karıncık duvar kalınlığı artarlarda, KKH hızla gelişebilir (Uysal, M., 2000).

2.1.2.1 Hipertansiyonun Aterojenik Etkileri:

1. Endotel fonksiyonunun bozulması,
2. Akut plak rüptürü,
3. Myokard duvar gerginliği (stres),
4. Kalbin oksijen ihtiyacının artışı,
5. Lökosit adezyonunun artışı,
6. Endotel protein geçirgenliği artışı, sayılabilir.

Hipertansiyonlularda 5-6 mmHg tansiyon düşüşü inmeyi % 35-40; KKH riskini %16-25 düşürür. Fakat koroner ateroskleroz devam eder (Peter, D., Reaven 1994).

2.1.3 Sigara

KKH' na yatkınlığı artırır. Sigara diğeri önemli riskleri oluşumuna zemin hazırlayarak kalp krizi ve ani ölümlere yol açabilir (Uysal, M., 2000).

2.1.3.1 Sigaranın Zararlı Etkileri:

1. LDL' yi yükseltmesi; HDL' yi düşürmesi
2. Endoteli bozması; vasküler reaktiviteyi artırması
3. Kanın oksijenini azaltması (myokard iskemisi)
4. Katekolamin' i artırması, koroner spazm yapması
5. Fibrinojeni yükseltmesi; trombosit agregasyonunu artırmasıdır.

Pasif sigara içicilerinin de % 20-30 KKH riski vardır. İçilen sigara miktarı arttıkça risk artar.

2.1.4 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus büyük risk faktörlerindedir. Kadınlarda risk erkeklere göre iki kat fazladır. Menapoz öncesi diyabeti olan kadınların, KKH riski erkeklere eşit hale gelir. Diyabet kardiyovasküler olayları 3-5 misli artırır. (Ross, R., 1999),

2.1.4.1 Diyabetin Ateroskleroz Mekanizması:

1. HDL' yi düşürmesi, LDL' yi ve trigliseridi yükseltmesi
2. Küçük yoğun LDL' yi yükseltmesi, Lp (a)' yı yükseltmesi
3. Fibrinogeni ve trombosit agregasyonunu artırması
4. PAI-1 yükseltmesi
5. Endotel fonksiyonunu bozması
6. Hiper insülinemi ile açıklanabilir.

2.2 Diğer Risk Faktörleri

2.2.1 Şişmanlık

Şişmanlık, LDL' yi artırır; HDL' yi düşürür. Şişmanlar tansiyon yükselmesine elverişlidir. Şişmanlarda geç gelişen diyabet görülebilmektedir. Şişmanlık KKH gelişimine zemin hazırlar. Şişmanlarda kalbin yükü artar (Dawn, C., Schwenke, 1998).

Vücut kitle indeksi BMI<25 olmalıdır. BMI=25-29.9 fazla kilolu; BMI≥30 şişman tanımına girer. Birlikte önemli risk faktörü bulunmuyorsa şişmanlık tek başına bağımsız risk faktörü kabul edilmez. Menopoz sonu KKH riski artar. Östrojen koruyucu olabilir. Östrojen HDL' yi yükseltir. Fibrinojeni ve zararlı yağları düşürür. Fakat endometrial kanser riski vardır. (Dawn, C., Schwenke, 1998).

2.2.2 Yaş, Cinsiyet, Genetik ve Sosyal Durum

Yaş ile KKH arasında sıkı bir ilişki vardır. Erkeklerin %52'si, kadınların %47'si KKH'dan ölür. Erkeklerde 45 yaş üstü, kadınlarda 55 yaş üzeri ateroskleroz yaşıdır. Erkeklerde 2-4 kat fazladır. Yaşlanmaya bağlı serbestradikallerin arttığı ve antioksidanların azaldığı önemli bir teoridir (Larbi A.vd. 2005)

Cinsiyet ele alınırsa, menapoza kadar kadınlarda KKH ölümü azdır. Menopoz sonunda ise erkeklerle eşitlenir. Genetik yatkınlık için erkeklerde 65 yaş altında ebeveyn veya kardeşlerden birinde; kadınlarda 55 yaş altında aynı bireylerde KKH gelişmesidir. KKH genç yaşa kaydıkça genetik ön plana çıkmaktadır (May Berliner, vd. 1995) . Risk tedavi sonunda devam eder. Bunlarda birincil korunmaya çok önem verilmelidir.

Sosyoekonomik durumu bozuk olan toplumlarda depresyon ve çağımızın bir hastalığı olan stres koroner kalp hastalığı üzerine olumsuz etki yapmaktadır. Stresler (sinir sistemi gerginliği, öfke, sinirsel çatışma, depresyon) katekolamin salgısını artırarak koroner damarları daraltmakta ve ani kalp krizi; ani kardiyak ölüme yol açabilmektedir. Temelde ateroskleroza olanlarda bu etkiler daha belirgin olur. Kişilik ve davranış tipleri ile KKH arasında ilişki olduğunu savunanlar vardır. Sinirli, aceleci, sabırsız, kısa sürede amacına ulaşmak isteyen aşırı stresli kişilerde KKH riski daha fazladır. (Dawn, C., Schwenke, 1998).

2.2.3 Homosistein

Amino asit türevi olan homosisteinin plazmadaki artışı vasküler endotele direk toksik etki yapar. EDRF etkisini bozar; LDL oksidasyonunu hızlandırır. (Ross, R., 1999). Plazma homosistein düzeylerinin normalden yüksek olduğu insanlarda erken ateroskleroz olduğu bilinmektedir. 1999 yılında AHA yüksek riskli olgularda, plazma homosistein düzeyleri 10 mikrogram/ litrenin üzerinde ise tedavi başlanmasını tavsiye etmiştir. Plazma homosistein düzeyinin yükselmesine yol açan başlıca nedenler; kalıtım, malnutrisyon, folik asit eksikliği, malabsorpsiyon sendromları, hipotiroidi ve ilaçlardır (Nikotinik asit, Teofilin, Methotroxate, Ldopa, safra asidi bağlayıcı resinler gibi). Tedavi ve profilakside yüksek riskli olgular için, B-6, B-12 ve Folik asit preparatları ve bu vitaminlerden zengin diyet yararlı olabilir. Ayrıca, mide hastalıkları gibi Folik asit/Homosistein metabolizmasının bozulabileceği durumların erken tanı ve tedavisi önerilmektedir. Önerilen vitamin tedavisi: 0.4 mg/gün Folat, 2 mg/gün B-6, 6 mikrogram/gün B-12 kullanımınıdır. Plazma homosistein düzeyi bakılmadığı durumlarda, hastalarda aterosklerozun bilinen diğer risk faktörleri ve Chlamydia antikoru yoksa profilaktik vitamin tedavisi yararlı olabilir (3).

2.2.4 Fibrinojen

Fibrinojen yükselmesi trombosit agregasyonuna; kanın vizkozitesinin artışına neden olur. Fibrinojen, yaş, obezite, sigara, şeker hastalığı ve LDL ile pozitif ilişkiindedir (Ross, R., 1999). Az miktarda alkol alınması, fizik aktivite, egzersiz ve HDL ile negatif korelasyonu vardır. Tedavide fibrinolitik kullanılır (%9 fibrinojeni düşürür). Fibrinolitik fonksiyon endojen fibrinolitik aktivite, doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) ile bunun inhibitörü (PAI-1) arasındaki denge ile sağlanır. (Durmuş, 2003) PAI-1 artışı dengelyi bozar. Sabahın erken saatlerinde t-PA düzeyi düşer, PAI-1 yükselir (MI riski artar). Şişmanlarda PAI-1 yükselir. D-Dimer artışıda fibrinolitik işlevi bozar. (Durmuş, 2003)

2.2.5 İnflamasyon

Günümüzde, aterosklerozun önemli bir inflamasyon (yangı) sürecine sahip olduğu kanısına vardırın bir çok kanıt bulunmaktadır. Hem mevcut plakların oluşumunda açıklanan hasara karşı yanıt teorisi, hem lezyonların inflamasyonu kanıtlayan içerikleri ve hem de vücutta bir inflamasyon olduğunu gösteren çeşitli laboratuvar bulgularının (yüksek düzeyde kan C-reaktif proteini, fibrinojen, serum amiloid A düzeyleri) varlığı bu görüşü desteklemektedir. CRP, inflamasyon göstergesi olan, dolaşımdaki sitokin fonksiyonlarını yansıtan bir proteindir. Aterosklerozun her aşamasında inflamasyon vardır. Önce lökositler, endotele hücum eder; TG toplanır. TNF, interlökin gibi sitokinler harekete geçer (Ueda, M., vd, 2004). Yaşlılarda ve sigara içenlerde yüksek düzeyde CRP bulunması, ileride inme, MI ve periferik damar hastalığı habercisi kabul edilmektedir. İnflamasyon, MI oluşumunda yeni bir hipotezdir. Lipit düzeyinin düşürülmesi inflamasyonu geriletmektedir (Ueda, M., vd, 2004).

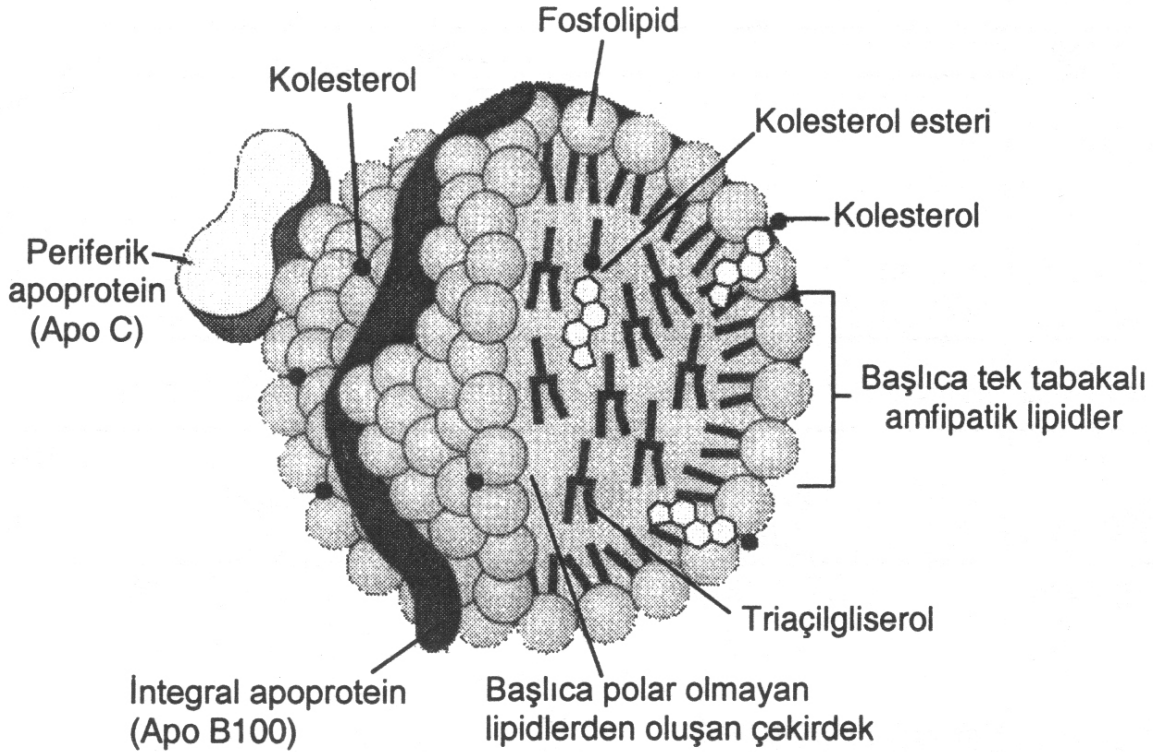
Bağışıklık sistemi elemanları normalde mikrobiyal saldırıya karşı dokuda birikmeye başlar. Akyuvarlar çeşitli kimyasallar salgırlar. Bu kimyasallar oksidanlar ve sitokin adı verilen küçük proteinlerdir (Libby P.,2002). Buna karşılık inflamasyon aterosklerozda anahtar bir rol oynar. Modifikasyona uğramış LDL (yapısındaki lipit ve protein oksidasyonu ve protein glikozilasyonu) birikimi savunma sistemini harekete geçirir. LDL birikimi endoteli uyararak normalde inflamasyonda görevli monositlerin ve T lenfositlerinin geçişine olanak sağlar. Monositler intimada makrofajlara dönüşür. Makrofajlar ve T hücreleri inflamatuvar araçlar salgırlar (Libby P.,2002). Bunlar immün sistemin sinyal molekülleri olan sitokinler ve hücre bölünmesini uyaran faktörlerdir. Plak oluşumunda makrofajların modifiye LDL' yi toplaması ve köpük hücrelerine dönüşmesi, T hücrelerinin yağ asitlerini birleştirici etkisi önemli bir aşamadır. Sonraki süreçde sitokin etkisi ile düz kas hücrelerinin göçü ve çoğalması gerçekleşir. İnflamasyona neden olan moleküllerin aktif olarak katılımıyla ileri derecede gelişen plak veya plağın yırtılması ile oluşan tromboz kan akımını engelleyerek kalp krizine neden olur (Libby P.,2002).

3. LİPOPROTEİNLER

Lipitlerin suda çözünmemesi nedeniyle plazmada taşınabilmeleri sorunu, apolar lipitlerin proteinlerle ve amfipatik lipitlerle birleştirilmeleriyle çözümlenmiştir (Şekil 3.1). Plazmada bulunan lipitlerin yaklaşık % 5 kadarı esterleşmemiş FFA olarak taşınırken geri kalanı lipoproteinler halinde taşınır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 İnsanlarda kan plazması lipitleri (mg/dl)

Lipit	Ortalama	Normal sınırlar
Total lipit	570	350-800
TG	140	80-180
Total fosfolipit	27	120-380
Total kolesterol	200	120-250
Total kolesterol (esterleşmemiş)	50	25-70
FFA (esterleşmemiş)	12	6-16



Şekil 3.1 Lipoprotein (Taner vd.,2002)

Tıbbi açıdan dört ana lipoprotein grubu tanımlanmıştır:

1. TG, bağırsaktan emilme sürecinde oluşan şilomikronlar.
2. Triaçilgliserolün karaciğerden çıkışı için oluşturulan VLDL .
3. VLDL katabolizmasındaki son bir evreyi temsil eden LDL.
4. VLDL ve şilomikron metabolizması ile kolesterol taşınmasına katılan (HDL).

Triaçilgliserol, şilomikronlar ve VLDL’ de baskın lipit iken; kolesterol ve fosfolipit LDL ve HDL’ deki baskın lipitlerdir. LDL bileşiminin yaklaşık % 58’ si kolesterol ve kolesterol esterleri, % 28’ si fosfolipit, % 28’ si protein, %13’ i triaçilgliseroldür (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 İnsan kan plazmasındaki lipoproteinler ve bileşimleri (mg/dl)

Fraksiyon	Yarıçapı (nm)	Yogunluk (kg/l)	Protein %	Lipit %	Toplam lipit yüzdeleri		
					TG	Fosfolipit	Kolesterol
Şilomikronlar	70-1000	< 0.96	1-2	98-9	88	8	4
VLDL	30-90	0.96-1.006	7-7	90-93	56	20	23
IDL	25-30	1.006-1.019	11	89	29	26	43
LDL	20-25	1.019-1.063	21	79	13	28	58
Lp (a)	18-20	1.050-1.12	21	79	8	26	66
HDL	7.5-20	1.063-1.27	50	50	15	44	38

3.1. LDL

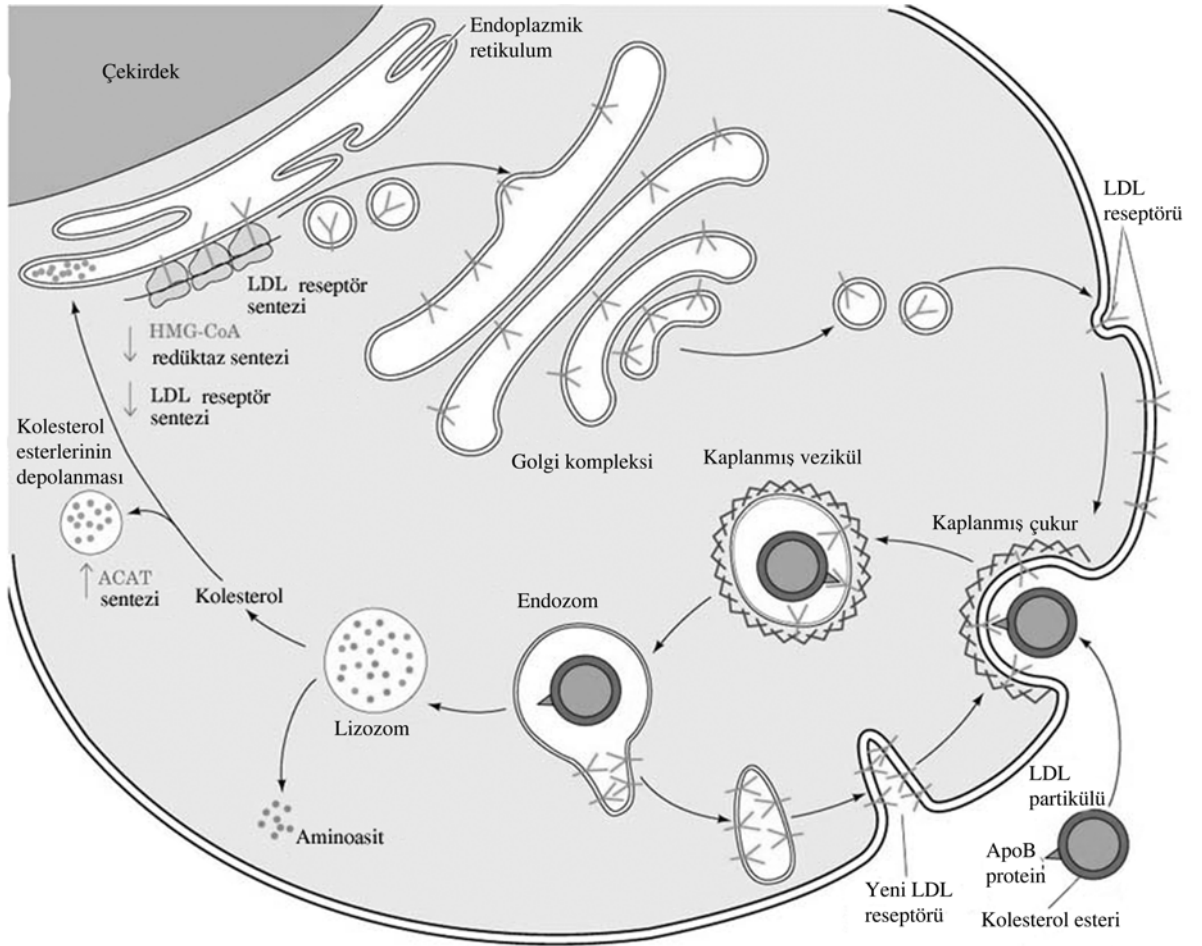
LDL' nin ana işlevi periferik dokulara kolesterol sağlamaktır. Bu işlevi hem hücre yüzeyine temas ettiklerinde hücrelerin zarları üzerine serbest kolesterolü bırakarak hem de apolipoprotein B-100' ü tanıyan hücre zarlarındaki reseptörlere bağlanarak yaparlar. Atardamar düz kas hücrelerinde LDL (B-100) alması bulunmaktadır.

LDL reseptörleri hücre zarlarındaki çukurlarda toplanmış olan negatif yüklü glikoprotein molekülleridir. Çukurun hücre içi tarafı çukurun şeklini koruyan ve kltrin adı verilen bir protein ile kaplanmışır. Reseptörlerin sayısı lipoprotein moleküllerinin mevcut sayısına ve hücrelerin ihtiyaçlarına bağlı olarak değişir. LDL reseptörlerinin eksikliği plazma LDL düzeyinde önemli bir artışa neden olur ve böylece plazma kolesterolüde yükselir. Fakat plazma TG düzeyi normal kalır. Bu durum aterosklerozun gelişimini çok hızlandırabilir. LDL, reseptöre bağlanmasını takiben endositoz yoluyla bozulmamış partiküller olarak sitoplazmaya alınır. LDL içeren vezikül hızla kltrin kaplamasını kaybeder ve diğer benzer veziküllerle birleşir. Böylece, endozom olarak adlandırılan daha büyük veziküller oluşur. Endozomal ATPaz' ın proton pompalama aktivitesinden dolayı endozom içeriğinin pH' ı düşer. Bu durum LDL' nin reseptöründen ayrılmasına olanak sağlar. Reseptörler yeniden kullanıma girerken veziküldeki lipoproteinler hidrolitik enzimler tarafından parçalanırlar.

Bu şekilde hücre içerisine fazla alınan kolesterol üç şekilde etki gösterir. Birincisi kolesterol sentez yolunu inhibe etmektir. Diğer durum ise kolesterolün asil CoA:Kolesterol asltransferaz (ACAT) tarafından esterleştirilmesidir. ACAT bir yağ asitini, bir yağ asil CoA türevinden kolesterole transfer eder ve böylece hücrede depolanabilen bir kolesterol esteri oluşturur. Bu enzimin aktivitesi hücre içi kolesterolün artması halinde artar. Üçüncüsü, hücre içine daha fazla LDL kolesterolünün girişini sınırlamak amacıyla LDL reseptör proteininin sentezi azaltılır. (Şekil 3.2)

Özgün reseptörleri ile LDL alımını gerçekleştiren çeşitli doku hücrelerine ek olarak, dolaşımdaki makrofajlar yüksek düzeyde çöpçü reseptör aktivitesine sahiptir. Geniş bir ligand bağlama özelliğine sahip bu reseptörler kimyasal olarak değişikliğe uğramış LDL' nin endositozisine aracılık edebilirler. Dolaşımdaki LDL' yi reseptörler tarafından tanınabilen ligandlara dönüştüren kimyasal değişiklikler apolipoprotein B (apo B)' nin asetilasyonu veya oksidasyonudur. Apo B' nin değişiminde başlatıcı basamak LDL lipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonudur. Bu işlem antioksidanlar tarafından inhibe

edilebilir. LDL reseptörleri tarafından alınan tersine, makrofajlar tarafından alınan değişikliğe uğramış LDL hücre içi kolesterol düzeylerini düzenlemez. Bu nedenle kolesterol bu hücrelerde birikir. Değişmiş LDL'lerin makrofajlar tarafından aşırı alımı, makrofajların köpük (foam) hücrelerine dönüşmesine neden olur. Köpük hücreleri endotel ile düz kas hücreleri arasında birikir ve düz kasın proliferasyonunu uyararak aterosklerotik plak oluşumuna katılırlar.



Şekil 3.2 LDL katabolizması

3.1.1 Apolipoprotein B

Apolipoprotein B, LDL' nin yapısında bulunan başlıca proteindir ve LDL'nin reseptörüne bağlanmasına aracılık eder. Apo B, kanda B-100 ve B-48 olarak adlandırılan iki halde bulunur. Karaciğerde üretilen apo B-100, VLDL oluşturulması için gereklidir. Apo B-48 ise ince bağırsakta yapılır ve yağların emiliminde görev alır.

İkinci kromozomun kısa kolunda yer alan Apo B geni 43 000 baz çiftinden oluşur ve 4536 aminoasitlik bir protein kodlar. Apo B genindeki mutasyonlar LDL' nin reseptörüne bağlanmasında sorunlara yol açtığından kandaki kolesterol düzeyinin yükselmesine neden olur. Ailesel Apolipoprotein B Bozukluğu (FDB) adı verilen bu hastalık, kişiyi koroner kalp hastalığına yatkın hale getirir.

3.1.2 LDL Oksidasyonu

LDL yapısındaki fosfolipit, trigliserit ve ester kolesteroldeki yağ asitleri ile kolesterol oksitlenebilmektedir. Özellikle LDL yapısındaki lesitinin 2. karbonunda bulunan linoleik asit (18C:2) ayrıldıktan sonra son derece reaktif bir lipit olan lizolesitin kalmaktadır. Yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu reaktif türevler, lizin kalıntıları ile kovalent bağ meydana getirerek apo-B modifikasyonuna neden olmaktadır (Taner vd.,2002).

Nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, oksitlenmiş LDL' nin aterom plakları oluşumunda etkin bir rol oynadığı kabul edilmektedir (Itabe, 1998; Jialal vd.,1996; Uysal , 2000; Yla-Herttua ,1998, Peter ,1994). Gerçekten, aterom plaklarında oksitlenmiş LDL' nin varlığı gösterilmiştir (Yla-Herttua , 1998; Yla-Herttua,1998). Bu nedenle, LDL oksidasyonu üzerinde incelemeler ateroskleroz çalışmalarında özel bir önem kazanmıştır (Itabe , 1998; Jialal , 1996).

LDL aterosklerotik lezyonda bulunan endotel hücreleri, düz kas hücreleri, monositler, makrofajlar, lenfositler tarafından okside edilebilir (Dawn C. Schwenke1998).

Arterde bulunan çeşitli hücrelerce üretilen lipoksigenaz enzimlerinin, oksijeni cis.cis-1,4-pentadien içeren doymamış yağ asitlerinin içine sokmak suretiyle LDL oksidasyonuna yol açtığı ortaya konulmuştur (Colin D. 2001).

Genellikle uzun süreli yapılan ultrasantrifüj ve diyaliz işlemleri gerektiren bir yöntemle plazmadan elde edilen LDL fraksiyonunda gerçekleştirilmiştir. Ancak bu izolasyon işlemlerinin LDL' de ek oksidasyonlara ve antioksidan içeriğinde azalmalara yol açması ve uzun sürmesi sakıncalı yönleridir (Ahotupa , 1996). Ahotupa ve ark., klinik biyokimya laboratuvarlarında uygulanması kolay bir yöntemle, EDTA' lı plazmadan tamponlanmış

heparinle elde ettikleri LDL' nin endojen dien konjugat düzeylerini ölçmüşler ve bu yönteminin ateroskleroz çalışmalarında LDL oksidasyonunu değerlendirmede yararlı olabileceğini vurgulamışlardır (Ahotupa , 1996).

Öte yandan, LDL' yi in vitro koşulda bakırla inkübe ederek oluşan oksidasyon ürünlerini (dien konjugat, malondialdehit, lipid peroksitler ve floresan ürünler gibi) ölçmek ateroskleroz çalışmalarında önemli bir yer tutmaktadır . Bu oksidasyon kinetiğinin incelenmesi, gerek LDL' nin lipit bileşimi ve gerekse antioksidan kapasitesi hakkında bize bilgi vermektedir. (Esterbauer vd., 1992;Jialal vd., 1996; Seztler vd.,1998).

Okside LDL lipit peroksidasyonu ürünü olan lizofosfotidilkolin içermektedir. Lizofosfotidilkolin endotel süperoksit anyon ürünlerini artırmakta, nitrik oksit sentezini ve salınımını inhibe etmektedir (Olli T. Raitakari vd.1997).

4. ATEROSKLEROZUN GELİŞİMİ

Atardamarlar, kanı organizmaya dağıtan esnek damarlardır. Atardamarlar bu özellikleri nedeniyle yüksek kan basıncına dayanıklıdırlar. Histolojik olarak üç tabakadan oluşurlar: lümeneye yakın iç tabaka (intima), orta tabaka (media) ve dış tabaka (adventitia).

Lümeneye dönük iç tabakanın yüzü, kan plazması ile damar çevresi arasında su ve metabolit alışverişini sağlayan endotelden ve endotelin altında yer alan, elastik bağ dokusundan oluşur. İç tabaka aterosklerotik lezyonların başlangıç merkezini temsil eder. Bir iç esnek zar, endoteli, orta tabakadan ayırır ve atardamar duvarının en önemli destek yapısını meydana getirir. (Vural, 1999).

Orta tabaka düz kas hücrelerinden oluşur. Düz kas hücreleri esnek liflerin etrafına spiral guruplar halinde dağılmıştır. Bazen kendi aralarında özel birleştirici komplekslerle bağlanırlar. Aort gibi büyük çaplı esnek atardamarlarda hücelere oranla bağ dokusu liflerinin miktarı fazladır. Buna karşılık koroner damarlar gibi, organlara kan götüren orta ve küçük çaplı damarlarda ise hücre oranı artmaktadır. (Vural, 1999).

Dış tabakada fibroblastlar, kollajen lifler ve glikozaminoglikanlar bulunur. Devamsız bir esnek doku tabakası dış tabakayı orta tabakadan ayırır. Bu tabaka dış esnek yaprak adıyla bilinir. Atardamarın dış tabakasında ve orta tabakasının üçte ikilik bölümünü besleyen ayrıca kan damarları (*vasa vasorum*) bulunur. Damarın diğer kısımları doğrudan lümenenden akan kanla beslenir (Vural, 1999).

Atardamarların aterosklerotik lezyonlara sıklıkla iç tabakada rastlanmasına karşılık ikincil lezyonlar orta tabakada da gözlenebilir. Aterosklerotik üç temel tip lezyon bilinmektedir: Lipit şeridi, fibroz plak ve komplike lezyon.

4.1. Lipit Şeridi

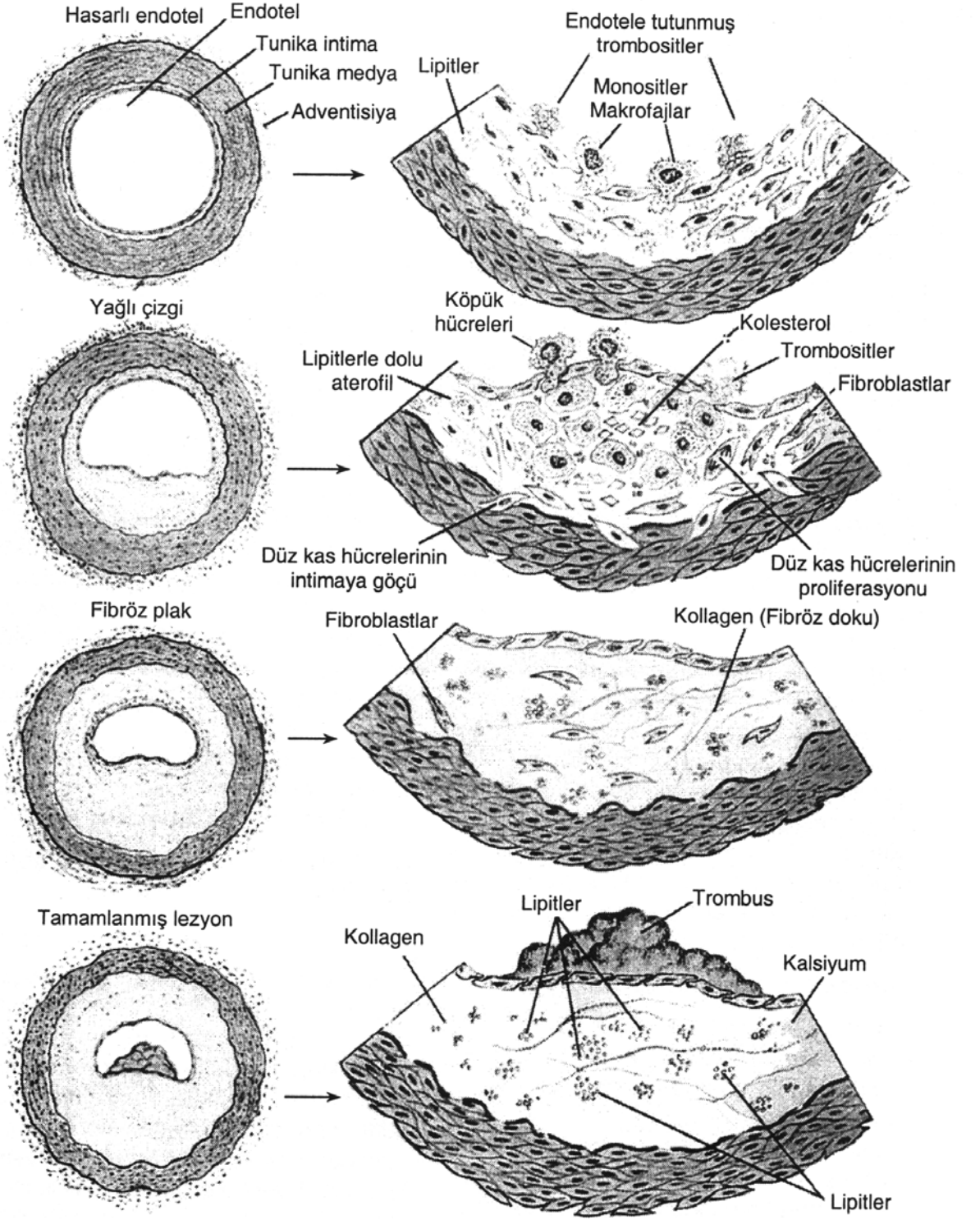
Daha çok genç bireylerde gözlenen lipit şeridi az sayıda düz kas hücrelerinde lipit birikimi ile karakterizedir. Sarımsı renkteki bu lezyon damar lümenine doğru taşmaz. Kendiliğinden duvarın esnekliğini değiştirebilecek ya da lümen daralmasına neden olabilecek güçte olmaması nedeniyle klinik belirtilere yol açmaz (Şekil 4.1). Bu tip lezyon cinsiyet, ırk ve çevre şartları nedeniyle pratikte bütün çocuklarda on yaşından itibaren ortaya çıkabilmektedir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte bu yağlı şerit tarafından örülmüş iç tabaka yüzeyi bölümü, yetişkinde % 35-50' ye ulaşınca kadar gittikçe artar. Lezyonun sarı rengi, yabancı oluşumları toplamak ve bunların işlevlerini engellemekle görevli makrofajların ve düz kas hücrelerinin içindeki yağların anormal miktarda birikmesinden ileri gelir.

Birikmiş lipitler öncelikle kolesterol esterleri ve kolesterolden oluşur. Kolesterol, esterleşmemiş alkol şeklinde veya esterleşmiş şekilde lipoprotein komplekslere bağlı olarak plazmada bulunur.

Aterosklerozun erken evrelerinde monositler arter duvarına tutunur. (Peter ,1994). Bu durum lökositlerin endotel hücrelerine tutunmasını sağlayan VCAM-1 üretimini artırır.

4.2. Fibröz Plak

Aterosklerotik lezyonun ilerlemesi, fibröz plağın oluşumu ile karakterizedir. Fibröz plak anatomik açıdan atardamar lümenine doğru taşan beyazımsı renkte bir plak olarak tanımlanır. Lipitler, kolesterol ve kolesterol esterleriyle yüklü, iç tabakaya ait çok sayıda düz kas hücrelerinden oluşur. Hücreler yağlar, kollajen ve elastik liflerle çevrili halde de bulunur. Yağlarla dolu hücreler, bağ dokusu unsurlarıyla birlikte hücre dışı lipitler yedeğini çevreleyen bir kılıf meydana getirir (Şekil 4.1). Bu kılıf lümeneye doğru bir çıkıntı yaparak kan akımını engellemeye başlar. Olay sürekli bir gelişim süreci taşımakta ve plağın oluşturduğu doku hasarı giderek ilerlemekte olup, ileriki dönemlerde hücre içerisinde biriken yağların, hücrelerin dışında da birikmeye başladığı görülmektedir. Böylelikle olay ilerledikçe, plağın ortasındaki merkez (çekirdek) tamamen yağdan köken almaktadır. Fakat olay ilerlemeye devam ettikçe, akyuvarların ve salgıladıkları maddelerin yardımı ile, bu yağ dolu hücrelerin çevresini bağ dokusundan oluşmuş bir kılıf çevrelemeye başlar. Kas hücrelerinin de olaya giderek artan şekilde katılmasıyla meydana gelen plak, önceki aşamalarından daha sağlam bir yapıya sahip olur (fibroaterom) .



Şekil 4.1 Ateroskleroz oluşumu (Taner vd.,2002)

4.3. Komplike Lezyon

Komplike lezyon, aterosklerozun üçüncü lezyonudur. Bu lezyon, kanama, kireçlenme, hücre nekrozu ve periyetal tromboz geliştiği sırada fibröz plak düzeyinde yerleşir. Kireçlenme süreci, tromboz sırasında damar tıkanıklığı eğilimi ile birlikte komplike lezyona özgüdür. Tıkaç, hemostaz adı verilen normal sürecin önemli bir değişikliğinin sonucudur. Tıkaç, kanın şekilli elemanlarının bir yığılmasından meydana gelir. Bu elemanlar fibrinojenin biyokimyasal dönüşümünden oluşan fibrin ağı içerisinde kümeleşmiş haldedirler. Tıkaçın oluşumu, atardamardaki kan akışında meydana gelen bir yavaşlama sonucunda gerçekleşir. Bunu, iç kılıfın iç yüzeyin bir lezyonun oluşumu izler ve trombositler lezyona yapışır. Bu durum, damar lümenine doğru yayılan fibroz plağın yüzeyi üzerinde sıklıkla meydana gelir. Trombosit yığılımları, fibrinojenin fibrine dönüşümüne yol açarak lökositleri ve alyuvarları yakalar. Bu şekilde oluşan tabakalı tıkaç, damar lümeninde ve kan akışında çok küçük bir kusurla kalabilir veya kan akışını bütünüyle engelleyerek tamamen tıkaçıcı olabilir.

Kanın normal fonksiyonlarından birisi olan pıhtılaşma olayından sorumlu olan kan hücreleri yani trombositler bir şekilde uyarılarak, damarın hasara uğrayan kısmında duvara yapışmaya (adhezyon) ve kümelenmeye (agregasyon) eğilim gösterirler. Ayrıca, gerek hasara uğramış endotel hücreleri ve gerekse başta kan pulcukları olmak üzere, kanın bir çok iltihabi olaylarda görev alan hücrelerinden açığa çıkan bir takım kimyasal maddelerin uyarılması söz konusudur.

Dokularda oluşan kan akımı yetersizliğine iskemi adı verilmektedir. Aterom plağının bu son aşamasını belirleyen aslında kendi yapı özelliğidir. Kararlı yani sabit aterosklerotik plak ismini alan birinci plak örneğinde; fibröz yapı oldukça kuvvetlidir, kan yağlarından oluşan çekirdek kısmını tüm yapının oldukça kısıtlı bir bölümünü oluşturur, iltihabi hücre sayısı ve oluşturdukları tepkime yani inflamasyon (yangı) düşük derecededir. Kararsız yani sabit olmayan aterosklerotik plak isimli ikinci plak örneğinde; plağın tüm yapısının büyük bir kısmını kan yağlarından oluşan çekirdek kısım oluşturur, çok sayıda iltihabi hücre ve ileri derecede inflamasyon içerir, bağ dokusundan yoksun ince bir fibröz yapıdan oluşmaktadır. Bu plak tipinin yırtılabilme şansı diğerine oranla oldukça yüksektir.

Damardaki endotel tabakada bir lezyon veya travmaya rastlandığında o bölgedeki düz kas hücreleri kanda bulunan ve hücre bölünmesini uyarıcı faktörlerden etkilenmektedir. Damar

duvarındaki düz kas hücrelerinin büyümesini düzenleyen birçok faktör tanımlanmıştır: büyüme faktörleri (EDRF, fibroblast büyüme faktörü, platelet kökenli büyüme faktörü), interlökinler, angiotensin II ve trombin (Astrid T.,2004).

TNF çok yönlü bir sitokindir. LDL nin oksidasyonda veya asetilaasyonunda makrofajlar tarafından salgılanır. Damar geçirgenliğini artırır monosit adhezyonunu ve makrofajlara dönüşümünü uyararak köpük hücrelerinin oluşumunu kolaylaştırır (Astrid T.,2004).

Arter duvarının düz kas hücreleri, arter duvarının hücreler arası ortamının üç önemli öğesinin oluşumuna da katılır. Bunlar kolajen, elastin ve glikozaminoglikanlardır. Elastinin, aterosklerotik lezyonun merkezinde, normal dokuyla kıyaslandığında LDL ile daha fazla kaynaşma eğilimi vardır. Glikozaminoglikanlar; dermatonsülfat (% 60-80), A ve C kondroitinsülfat (% 10-20) ve hiyalironük asit (%5' ten az) karışımıdır. Glikozaminoglikanların lipoproteinlerle karşılıklı etkileşmeleri de aterosklerotik lezyon merkezinde lipitlerin depolanması ile ilgili büyük bir önem taşır.

Aterosklerozun gelişim süreci daha anne karnındaki gelişim süreci içerisinde ve erken çocukluk yaşlarında başlamakla birlikte, ileriye yönelik gelişimi ve süreci, olayın ilerlemesine neden olan faktörlerin etkisine bağlı olarak değişmektedir. Atardamar duvarının belirli fonksiyonlar için özelleşmiş hücresi olan endotel hücresinde herhangi bir etkenin başlattığı hasar, bu sürecin başlamasında önemli bir basamak kabul edilmektedir.

Endotel hücresinde başlayan bir hasar neticesinde, ilk yanıt olarak bölgesel olarak endotel hücrelerinden kaynaklanan nitrik oksit (NO) azalmasıyla, damarın genişleyebilme (vazodilatasyon) yeteneği azalır. Ateroskleroz olayına ait ilk evre, akyuvarların bu hasarlı alana toplanması ile çeşitli kimyasal maddeler açığa çıkar ve farklı hücreleri, kan yağlarını ve kimyasal farklı maddeleri olay yerine çeker. Ardından, yine bir takım kimyasal olaylar ve maddelerin yardımı ile, kanın savunma sisteminde görevli akyuvar hücrelerinin bir grubu olan makrofaj hücreleri tarafından sindirilmek üzere, bu hücrelerinin yapısı içine alınır ve aterosklerozun tanınmasında önemli bir ipucu olan köpük hücreleri oluşur. Kan lipitlerinden özellikle LDL düzeylerinin yüksek olması sonucunda, adı geçen lipit, damar duvarındaki tabakalardan intimaya dolmaya başlar. Diğer kimyasal maddelerin ve hücrelerin yardımı ile, hasara uğrayan bölgede damarın duvar yapısında yer alan kas hücrelerinin artışı (proliferasyon) ve kasılması (vazokonstruksiyon) ve ayrıca yine çeşitli hücrelerin yardımı ile kan lipidlerinin buraya gelmesiyle bir plak oluşmaktadır.

4.4. Okside LDL' nin Ateroskleroz Oluşumundaki Rolü

LDL' nin oksidatif modifikasyonu ateroskleroz için önemli bir faktördür (Julia M. P. vd.,1997, Ross R.,1999, Stainberg D.,1997) . LDL oksidasyonu lipit peroksit, lysophosphatidylcholine, oxysteroller ve aldehitler gibi reaktif moleküllerle ilişkilidir. Bu moleküller vasküler inflamasyona ve fibrosize neden olur. Ayrıca damar düz kas hücrelerinde ve makrofajlarda anti inflamasyondan sorumlu genleri aktive ederler (Tetsuro Ishii vd., 2004). Okside LDL, okside olmayan LDL' ye göre çok daha fazla ateroskleroz nedenidir (Peter D. Reaven, 1994).

Ateroskleroz oluşumu üzerine okside LDL' nin etki mekanizması:

1. Makrofajlar okside LDL' yi tutar ve köpük hücrelerine dönüşür.
2. Dolaşımdaki monosit ve T lenfositleri uyarılır.
3. Doku makrofajlarının hareket yetenekleri azalır.
4. Sitotoksik etki oluşur.
5. LDL birikimi nedeniyle doku makrofajları daha fazla uyarılır.
6. Damar hücrelerindeki gen anlatımı etkilenir (MCP-1, colony-stimulating factor, IL-1, adhezyon moleküllerinin ekspresyonu gerçekleşir).
7. Doku faktörlerinin etkisi ile yağ birikimi devam eder.
8. Damarların kasılabilme özelliği değişir.
9. İmmün sistem uyarılır (Peter D. Reaven, 1994).

Aterosklerozun erken evrelerinde monositler arter duvarlarına tutunur (initial aşama). Bu durum bazı moleküllerin miktarını artırır. Bunlardan birisi lökositlerin endotel hücrelerine tutunmasını sağlayan VCAM-1' dir. Bu tutunma proteinlerinin miktarı monositlerin damar duvarına bağlanmasından sonra artar. Endoteldeki bu proteinlerin artması kan hücrelerinin damarda okside LDL' yi toplamasını da artırır. LDL oksidasyonu endotel ve düz kas hücreleri tarafından MCP-1 salgılanmasına neden olur. Bu sitokin monositlerin endotele tutunmasını uyarır (Peter D. Reaven, 1994).

LDL' nin fosfotidilkolin oksidasyonu VCAM-1 üretimine neden olur. Fosfotidilkolin monositleri uyarır ve endotelin altındaki alanda birikimlerini artırır. Endotele tutunan monosit damar duvarına geçerek makrofajlara dönüşür. Normal durumda makrofaj tekrar dolaşıma döner fakat LDL oksidasyonu bu durumu engeller. Makrofajlar okside LDL' yi

toplar ve damar duvarında kalır. İntima da kalan makrofajlar LDL toplamaya devam ederek köpük hücrelerine dönüşür (Peter D. Reaven, 1994).

Araştırmacılar ayrıca, okside LDL' nin birçok hücreye toksin etkisi yaptığını belirtmişlerdir. Makrofajlar ve damardaki bazı hücreler de LDL oksidasyonuna neden olur. Bu durum okside olmuş ürünlerin açığa çıkmasını hızlandırır ve damarda zedelenmeye, dolayısıyla aterogenik, trombogenik etkiye neden olur. Damarda zedelenme lökosit ve plateletlerin tutunmasını teşvik eder (Peter D. Reaven, 1994, Dawn C. Schwenke, 1998).

LDL oksidasyonu damar duvarında birçok hücrede gen anlatımını değiştirdiği gösterilmiştir. (Peter D. Reaven, 1994, Berliner JA. vd., 1995). Lipit oksidasyonu, NF kapa geninin transkripsiyonunu uyarır. NF kappa proteini inflamasyon cevabı başlatır (Berliner JA. vd., 1995). Aterosklerozun gelişimi atardamarlarda kalsiyum birikimini tetikleyen genlerle ilişkilidir. Atardamarda kalsiyum birikimi endoteli, monositlerin geçişine uygun hale getirir (Berliner JA. vd., 1995). Minimal değişikliklere uğramış LDL' nin M-CSF' nin ve diğer sitokinlerin aortik endotel hücrelerinden salgılanmasına neden olur. Bu sitokinler damar duvarındaki çeşitli hücrelerin çoğalmasına katkıda bulunur (Peter D. Reaven, 1994).

Okside LDL düz kas hücrelerinin EDRF' ye yanıtını engeller. Bu durumdan damardaki kan akışı olumsuz etkilenir (Peter D. Reaven, 1994).

Aterosklerozda immün mekanizma önemlidir. Aterosklerotik lezyonda T lenfosit ve makrofajlar bulunur. Bu hücreler lenfositlerdeki IL-2 reseptörleri ve düz kas hücrelerindeki class II histokompatibiliti antijenler tarafından aktive edilir. Ayrıca C5b-9 komplemen kompleksi de tespit edilmiştir. Okside LDL immün sistemi uyarır, antikorlara bağlanır ve makrofajlar tarafından fagosite edilir. İnterlökinler, TNF, lökotrienler ve γ interferon aterosklerozla ilgili immün sistem elemanlarıdır (Peter D. Reaven, 1994). Koroner kalp hastalarında okside LDL'ye karşı üretilen antikorların miktarı fazladır (MN Bui, 1996).

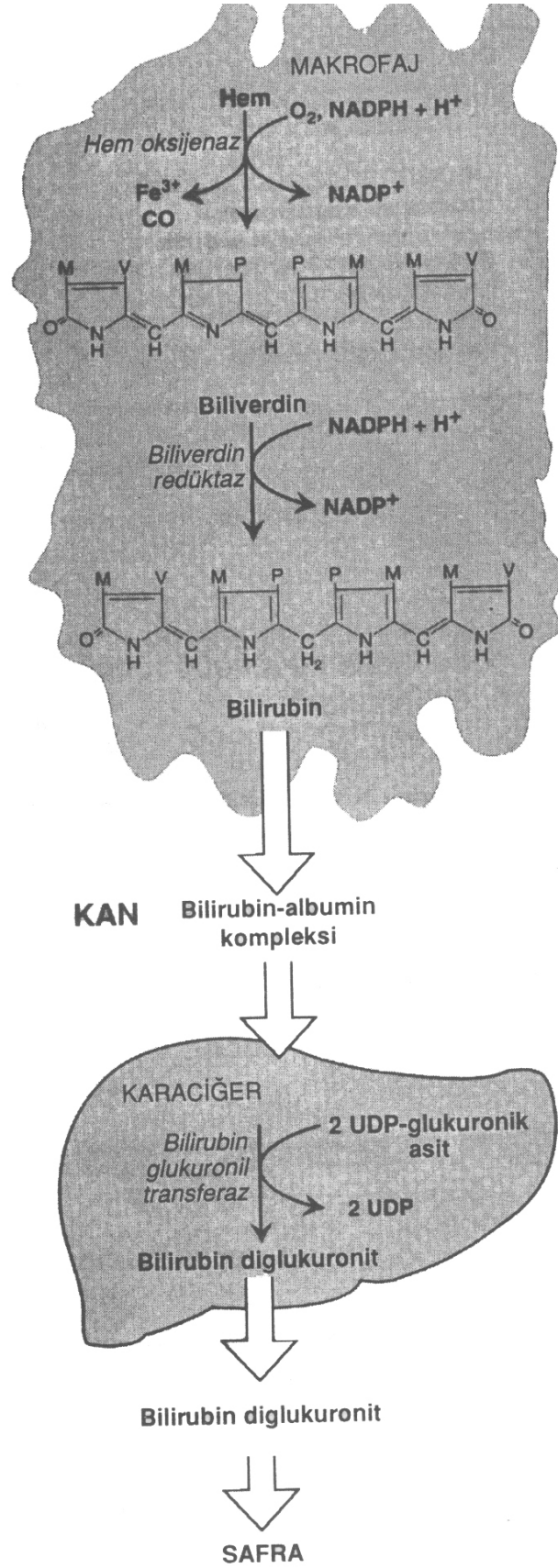
5. HEM KATABOLİZMASININ ÜRÜNÜ: BİLİRUBİN

Alyuvarlar dolaşımında yaklaşık 120 gün kaldıktan sonra karaciğerde, dalakta ve kemik iliğinde bulunan RES hücreleri tarafından yıkılır (Tokullugil,1997). Fizyolojik koşullar altında her saat $1-2 \cdot 10^8$ alyuvar yıkıma uğratılır. Dolayısıyla 70 kg'lık bir insan bir günde yaklaşık 6 g hemoglobini dönüşüme uğratır. Hemoglobin yıkıldığında globin kısmı aminoasitlere kadar parçalanırken, hemin demir kısmı tekrar kullanılmak üzere demir havuzuna girer.

Hem katabolizması, hem oksijenaz denilen karma bir enzim sistemi tarafından RES hücreleri tarafından gerçekleştirilir. NADPH ve O_2 varlığında hem tetrapireol halkasının yarılması ile eşmolar miktarda biliverdin IX-alfa ortaya çıkar. Daha sonra biliverdin radüktaz ile pirol III ve pirol IV arasındaki metinil grubu, metilen grubuna indirgenerek sarı bir pigment olan bilirubin IX-a sentazlenir. Erişkin bir insanda günlük bilirubin üretimi yaklaşık 250-350 mg dir. Bu üretim temel olarak hemoglobinden, az miktarda ise diğer hem içeren organik bileşiklerin yıkımı ile gerçekleştirilir (Murray vd., 1996).

Periferik dokularda oluşturulan bilirubin plazma albuminine kovalent olmayan bağlarla bağlanarak karaciğere taşınır. Bilirubinin daha ileri katabolizması temel olarak karaciğerde gerçekleşir. (Şekil 4.)

Bilirubin plazmada çok az çözünür ve bu nedenle taşınması sırasında albumine bağlıdır. Hpatositler tarafından alındıktan sonra çözünürlüğü iki molekül glukuronik asitle birleştirilerek artırılır. Bu konjugatın oluşumu, hücrenin endoplazmik retikulumunda UDP glukuronat glukuronoziltransferaz tarafından katalizlenir. Glukuronik asit, bilirubinin propiyonat yan zincirine ester bağları yolu ile bağlanır. Sonuçta ortaya çıkan bilirubin diglukuronid, aktif bir işlem ile safraya taşınır (Koolman J., Röhm K., H., 2003) .



Şekil 5.1 Bilirubin oluşumu (Tokullugil vd.,1997)

5.1 Bilirubin Antioksidan Özelliği

Normal fizyolojik koşullarda, hücreler oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Bilirubin enzimatik olmayan antioksidanlar grubuna dahildir (1) .

“Hem” katabolizmasının sonucunda oluşan safra pigmenti bilirubinin lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği, hidroksil ve hidrojen peroksit radikallerinin temizleyicisi olduğu bilinmektedir. Ayrıca albuminin de antioksidan etkisi vardır. (Krijgsman B, 2002)

Bc ve Bu insandaki LDL' yi by 2,2'-azo-bis (2 - amidinopropane) dihydrochloride' den türetilen oksijen radikallerinin etkilerinden koruduğu gösterilmiştir. Bu ve az miktarda olsa Bc' nin LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkisinin askorbik aside göre daha fazla olduğu görülmüştür (Tai-Wing Wu, vd., 1996). Bağlı olmayan bilirubinin, bir E vitamini analogu olan Trolax' a göre yirmi kat daha etkili bir antioksidan olduğu ve LDL oksidasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir (Tai-Wing Wu vd., 1994). Bağlı ve bağlı olmayan bilirubinin fizyolojik koşullarda metal katalizörlüğünde oluşan LDL oksidasyonunu engellediği gösterilmiştir (Stefan A., vd., 1995). LDL oksidasyonunun ateroskleroza neden olan önemli bir faktör olması nedeniyle bilirubin pigmentlerinin ateroskleroz riskini azaltıcı bir faktör olduğu ileri sürülebilir (Halliwell vd. 1990, Stocker R, 1987).

Oksidatif stres; ateroskleroz, karsinogenezis ve kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinin sorumlu tutulmaktadır (Doğru-Abbasoğlu vd., 1999, Sattler vd. 1998, Schwenke vd. 1998).

Oksidatif stresten, süper oksit, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikallerinin immün ve inflamatuvar hücrelerden aşırı salımı sorumludur. Serbest oksijen radikalleri hücre içi protein, nükleik asit, DNA ve membran lipitlerini oksitleyerek hücre hasarına neden olur. İnflamasyona bağlı oluşan serbest radikaller, ekstrasellüler doku komponentleri olan kollajen ve hiyalüronik asidi harap ederek organlarda yapısal değişikliklere neden olurlar (Sattler vd. 1998, Schwenke vd. 1998).

Organizmalar bu zararlı oksidanları detoksifiye etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri geliştirirler. Bunlar, katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, ferritin, transferrin, askorbik asit, bilirubin gibi yapılardır. Bunlardan biri de

HO'dur. Bu enzim NADPH ve moleküler oksijen kullanarak molekülün karbonuna bağlanarak biliverdin, serbest demir ve CO üretir. Biliverdin daha sonra bilirubine dönüşür

(Uysal M. vd., 2000). Bilurubin kendi başına antioksidandır. Hücre membran lipitlerinin peroksidasyonunu engeller. CO guanil siklazı aktive ederek nitrik oksit (NO) gibi vazo motor tonusu düzenler (Grundy ,1990, Uysal M, vd., 1999).

6. MATERYAL ve METOD

Koroner damar hastalarının anliyoları Florence Nightingale hastanesinde yapılmış olup 1 damar ve 2 damarları tıkalı hastalar çalışmamıza alınmıştır. Genellikle % 80' den fazla tıkanıklık gruba dahil edilişte kritik olarak kullanılmıştır.

Tek damarı tıkalı olan 16 hasta üzerinde çalışılmıştır. Yaş ortalaması 59 ± 17 olan hastaların 3'ü kadın 13'ü erkektir. Bu hastalardan 2 tanesinde diyabet 3 tanesinde hipertansiyon bulunmaktadır.

İki damarı tıkalı olan 18 hasta üzerinde çalışılmıştır. Yaş ortalaması 57 ± 17 olan hastaların 2 tanesi kadın 16 tanesi erkektir. Bu hastalardan 2 tanesinde diyabet 9 tanesinde hipertansiyon bulunmaktadır.

Yapılan anjiyo sonunda önemli damar tıkanıklığı göstermeyen hastalar N-DAMAR olarak belirtilmiştir. 16 hasta üzerinde çalışılmıştır. Yaş ortalaması 57 ± 17 olan hastaların 8 tanesi kadın 8 tanesi erkektir. Bu hastalardan 4 tanesinde diyabet 8 tanesinde hipertansiyon bulunmaktadır.

6.1 Total Bilirubin Ölçümü

6.1.1 Kolorimetrik Yöntem

Plazmadaki toplam bilirubin düzeyi kolorimetrik yöntemle tespit edilmiştir. DMSO içerisinde hazır bulunan bilirubin tespit edilmiştir.

6.1.2 Örnek

Alınan kan örneğinin heparin uygulanarak pıhtılaşması ve hemoliz engellenmiştir. Örnek, ışık almayacak şekilde buzdolabında uygun koşullarda korunmuştur.

6.1.3 Kullanılan Çözeltiler

İhtiyaç duyulan çözeltiler ve konsantrasyonları aşağıda verilmiştir:

<u>Çözeltiler</u>	<u>Konsantrasyon</u>
1. Sülfanilik asit	5.8 mmol/l
HCL	0.2 mol/l
DMSO	7.0 mol/l
2. Sodyum nitrit	0.07 mol/l

6.1.4 Çalışılan Çözeltilerin Hazırlanması

Hacimce % 30' luk 1. çözeltiden ve %1' lik 2. çözeltilerden alınıp diazo çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti +15 ile +25 °C arasında 5 saat ve +2 ile +8 °C arasında ışıktan uzak tutularak korunmuştur.

6.1.5 Prosedür

Örnekler 550 nm λ absorbansları ve 1 cm lik küvette 20-25 °C ' de 5 dakikalık aralıklarla ölçülmüştür. Değerler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

6.1.6 Sonuçların Hesaplanması

Örneğimizdeki toplam bilirubin konsantrasyonu aşağıdaki formülü ile hesaplanmıştır:

$$\frac{\text{Bir birim örnek}}{\text{Bir birim standart}} \times \text{standart konsantrasyon}$$

Toplam bilirubinin serumdaki normal değerleri yaklaşık 1 mg (17 μ mo/l) dir

6.2. Okside LDL Ölçümü

Deneysel çalışmalar LDL' nin okside olmuş formunun aterosklerozun başlamasında ve gelişmesinde anahtar rol oynadığı bilinmektedir (Stainberg,1997, Berliner, 1995, Heinecke,1998, Witztum, 1997).

Okside LDL'nin aterogenik atardamarlarda, normal damarlardakinden farklı olarak monositlerin makrofajlara dönüşmesinde etkili olduğu bulunmuştur. (Stainberg,1997, Berliner, 1995, Heinecke,1998, Witztum, 1997).

LDL' nin makrofajlar tarafından toplanması klasik Brown/Goldstein LDL reseptörleri yoluyla olmaz. Birçok çalışma kanda kolesterol taşınmasında etkin bir rol oynayan LDL' nin okside olmuş formu, monosit kökenli makrofajların çöpü reseptörlerince tanınmaktadır. Okside LDL'nin makrofajlarda kolesterol birikimini artırmakta ve onları lipitlerle dolmuş hücrelere dönüştürmektedir (Stainberg,1997, Berliner, 1995, Heinecke,1998, Witztum, 1997, Chisolm vd., 1997).

Holvoet ve arkadaşları ilk defa, koroner atardamar hastalıklarında okside LDL' nin önemli oranda yüksek olduğunu göstermişlerdir (Holvoet P., Vanhaecke J. vd., 1998, Holvoet P., Ann Mertens vd., 2001). Holvoet plazma okside LDL seviyesini özgül murine monoklonal antikor (mAb-4E6) kullanarak yarışmalı ELISA ile ölçmüştür. Bu antikorlar apo-B molekülünde bulunan lizin gruplarının üç de ikisine güçlü bir şekilde bağlanabilmektedir.

Bu çalışmada Mercodia okside LDL kitleri de mAb-4E6 kullanılarak hazırlanılan yakalayıcı ELISA (sandwich ELISA) yöntemi kullanılmıştır.

6.2.1 Yöntemin İlkeleri

Bu yöntemde, antijenik özellik gösteren, okside olmuş Apo B, iki monoklonal antikorların kullanıldığı sandviç tekniğiyle tespit edilir. İnkübasyon süresince örnekte bulunan okside LDL ve okside olmamış LDL' ye karşı üretilen antikorlarla reaksiyona sokulur. Bu işlem sonunda, reaksiyona girmeyen plazma bileşenleri yıkama ile ortamdaki uzaklaştırılır. Peroksidaz bağlı anti-ApoB antikor, katı faza bağlı okside LDL' yi tanır. İkinci bir inkübasyondan sonra ve örnek yıkandıktan sonra bağlı bulunmayan enzim işaretli antikorlar

uzaklaştırılır. Bağlı örnek 3, 3', 5, 5'tetramethylbenzidine (TMB) ile reaksiyona sokularak tespit edilir. En sonunda 450 nm de spektrometrik ölçüme olanak sağlayacak bir asit eklenir.

6.2.2 Örnek Toplanması ve Kullanımı

Mercodia okside LDL kitleri taze EDTA-plazma ile uygulanmıştır. Damardan alınan kan santrifüj edilmiştir. Örnekler 2-8 °C ' de saklanmıştır.

6.2.3 Materyal

- 25 µl değiştirilebilir uçlu mikro pipet
- 50 µl 100 µl 200 µl ve 1000 µl pipetler
- 1000 ml
- Distile su
- Test tüpleri (3.5ml)
- EIA plate reader with 450 nm filter
- Plate shker
- Wash device for microtitration plates

6.2.4 Yöntemin Parametreleri

Örnek hacmi	25 µl
Reaksiyon karışımının hacmi	125µl
İnkübasyon süresi ve sıcaklık	2 saat +1 saat karıştırarak oda sıcaklığı

6.2.5 Ölçüm İçin Kullanılan Kitler

Mercodia Okside LDL ELIZA kitleri kullanılmıştır.

6.2.6 Konjugat Çözeltisinin Hazırlanması

Konjugat tamponundan (12ml) eklenerek konjugat stok çözeltisi (1.2ml) seyreltilir. Konjugat çözeltisi kullanılana kadar 2-8 °C 'de saklanmıştır.

6.2.7 Örneklerin Seyreltilmesi

Her bir hastadan alınan örnekler iki tüpe ayrılır. Her bir örnek, aynı gün, iki aşamada seyreltildi:

1 Hasta örnekleri	25 µl	
Örnek tampon	2000 µl	karışım 1/81 oranında seyreltildi
<hr/>		
2 1/81 seyreltilen örnek	25 µl	
Örnek tampon	2000 µl	karışım 1/6561 oranında seyreltildi
<hr/>		

Elde edilen 1/6561 oranında seyreltilmiş çözelti bir gün bekletildi.

6.2.8 Test Prosedürü

1. Standart /Kontrol/Seyreldik örnek 25 µl
2. Örnek tampon 100 µl
3. Oda sıcaklığında 2 saat çalkalayarak bekletildi
4. Altı kez yıkandı
5. Konjugat solüsyonu eklendi 100 µl
6. Oda sıcaklığında 1 saat çalkalayarak bekletildi
7. Altı kez yıkandı
8. Peroksidaz substratı eklendi 200 µl
9. Oda sıcaklığında 15 saat bekletildi
10. Stop solüsyonu eklendi 50 µl
- Stop solüsyonu ile substratın karışması için 15 dakika çalkalandı
11. 450 nm' de absorbans değerleri ölçüldü ve sonuçlar hesaplandı

7. SONUÇLAR

7.1 Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları

Bilirubin ve okside LDL sonuçları aynı çizelge içinde verilmiştir.

7.1.1 Anjiyo Sonucu İki Tıkalı Damarı Bulunan Bireylerde Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları

Çizelge 7.1 Anjiyo sonucu iki tıkalı damarı bulunan hastalarda bilirubin ve okside LDL değerleri.

Hasta	Bilirubin (x ₁) (mg/dl)	Okside LDL (x ₂) mU/L
1	0.74	13.58
2	0.6	4.25
3	0.58	49.87
4	0.73	33.68
5	1.18	13.04
6	0.84	24.96
7	1.8	15.53
8	0.5	7.88
9	0.7	18.86
10	0.9	9.87
11	0.7	7.33
12	0.6	14.51
13	0.4	21.93
14	0.4	28.34
15	1.4	17.26
16	0.8	8.6
17	1.7	25.42
18	0.4	33.51

7.1.2 Anjiyo Sonucu Bir Tıkalı Damar Bulunan Bireylerde Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları

Çizelge 7.2 Anjiyo sonucu bir tıkalı damarı bulunan hastalarda bilirubin ve okside LDL değerleri

Hasta	Bilirubin(x ₃)(mg/dl)	Okside LDL(x ₄) mU/L
1	0.6	15.31
2	0.5	20.84
3	0.5	20.2
4	0.6	13.69
5	1.2	11.33
6	0.3	9.5
7	1.3	16.44
8	0.6	45.54
9	0.5	33.66
10	0.6	21.06
11	0.7	7.27
12	0.8	33.66
13	1.4	52.60
14	1.6	12.0
15	1.5	10.42
16	0.6	20.12

7.1.3 Tıkalı Damar Bulunmayan Bireylerde Bilirubin ve Okside LDL Ölçüm Sonuçları

Çizelge 7.3 Tıkalı damar olmadığında bilirubin ve okside LDL değerleri

Hasta	Bilirubin(x ₅) (mg/dl)	Okside LDL(x ₆) mU/L
1	1.8	5.74
2	1.3	16.58
3	1.5	23.00
4	0.83	11.17
5	0.98	20.42
6	1.2	9.2
7	0.4	12.15
8	0.9	20.83
9	1.0	13.59
10	1.4	10.50
11	0.9	21.12
12	1.0	8.64
13	0.9	9.30
14	1.0	14.16
15	1.0	13.12
16	0.8	9.82

7.2 Bilirubin Sonuçlarının İncelenmesi

Çizelge 7.4 Bir Tıkalı Damar Bilirubin Düzeylerinin N-Damar Tıkalı Guruba Göre

Karşılaştırılması

FFAK1	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DAMAR1BI 1,00	16	,6906	,2531	6,328E-02
2,00	16	1,0569	,3253	8,133E-02

Çizelge 7.5 Bir tıkalı damar için test sonuçları

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper	
DAMAR1BI									
Equal variances assumed	,829	,370	-3,554	30	,001	-,3663	,1031	-,5767	-,1558
Equal variances not assumed			-3,554	28,291	,001	-,3663	,1031	-,5772	-,1553

Çizelge 7.6 İki Tıkalı Damar Bilurubin Düzeylerinin N-Damar Tıkalı Guruba Göre Karşılaştırılması

FFAK2	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DAMAR2BI 1,00	18	,8317	,4225	9,959E-02
2,00	16	1,0569	,3253	8,133E-02

Çizelge 7.7 İki tıkalı damar için test sonuçları

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper	
DAMAR2BI									
Equal variances assumed	,792	,380	-1,725	32	,094	-,2252	,1306	-,4912	4,079E-02
Equal variances not assumed			-1,752	31,406	,090	-,2252	,1286	-,4873	3,689E-02

7.3 Okside LDL Sonuçlarının İncelenmesi

Çizelge 7.8 Bir tıkalı damar için istatistikler

VAR00001	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DAMAR1LD 1,00	16	20,8188	12,1925	3,0481
2,00	16	13,7088	5,2222	1,3055

Çizelge7.9 Bir tıkalı damar için test sonuçları

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
DAMAR1LD									
Equal variances assumed	5,124	,031	2,144	30	,040	7,1100	3,3159	,3379	13,8821
Equal variances not assumed			2,144	20,324	,044	7,1100	3,3159	,2001	14,0199

Çizelge7.10 İki tıklı damar için istatistikler

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001				
DAMAR2LD 1,00	18	19,3500	8,9899	2,1189
2,00	16	13,7088	5,2222	1,3055

Çizelge7.11 İki tıklı damar için test sonuçları

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
DAMAR2LD									
Equal variances assumed	5,636	,024	2,200	32	,035	5,6413	2,5647	,4171	10,8654
Equal variances not assumed			2,267	27,814	,031	5,6413	2,4888	,5416	10,7409

Çizelge 7.12 Bir ve iki tıklı damar için istatistikler

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001				
OXLDL12N 1,00	34	20,0412	10,4766	1,7967
2,00	16	13,7088	5,2222	1,3055

Çizelge7.13 Bir ve iki tıklı damar için test sonuçları

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper	
OXLDL12N									
Equal variances assumed	5,342	,025	2,279	48	,027	6,3324	2,7783	,7463	11,9185
Equal variances not assumed			2,851	47,757	,006	6,3324	2,2210	1,8663	10,7985

7.4 Okside LDL ve Bilirubin Sonuçlarının Birlikde Değerlendirilmesi

7.4.1 . Bir Tıkalı Damar İçin Çiftli Testler

Çizelge 7.14 Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
DAMAR1BI	,8313	16	,4175	,1044
DAMAR1LD	20,818	16	12,1925	3,0481

Çizelge 7.15 Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri (,928 anlamlı değil)

	N	Correlation	Sig.
DAMAR1BI & DAMAR1LD	16	,025	,928

Çizelge 7.16 Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.

	Paired Differences					
	t	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
DAMAR1BI & DAMAR1LD	-6,559	-19,9875	12,1894	3,0473	-26,4828	-13,4922

Çizelge 7.17 Bir tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları

	df	Sig. .(2-tailed)
DAMAR1BI & DAMAR1LD	15	,000

7.4.2 . İki Tıkalı Damar İçin Çiftli Testler

Çizelge 7.18 İki tıkalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
DAMAR2BI	,8317	18	,4225	9,959E-02
DAMAR2LD	19,3500	18	8,9899	2,1189

Çizelge 7.19 İki tıklalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri

	N	Correlation	Sig.
DAMAR2BI & DAMAR2LD	18	-,176	,484

Çizelge 7.20 İki tıklalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.

	Paired Differences					
	t	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference	
					Düşük	Yüksek
DAMAR2BI & DAMAR2LD	-8,659	-18,5183	9,0738	2,1387	-23,0306	-14,0060

Çizelge 7.21 İki tıklalı damar için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.

	df	Sig. (2-tailed)
DAMAR2BI & DAMAR2LD	17	,000

7.4.3 Normal Değerler İçin Çiftli Testler

Çizelge 7.22 Normal grup için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri.

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
DAMARNBI	1,0569	16	,3253	8,133E-02
DAMARNLD	13,7088	16	5,2222	1,3055

Çizelge 7.23 Normal grup için bilirubin ve okside LDL çiftli test istatistikleri .

	N	Correlation	Sig.
DAMARNBI& DAMARNLD	16	-,081	,767

Çizelge 7.24 Normal grup için bilirubin ve okside LDL çiftli test sonuçları.

	Paired Differences							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
	Lower	Upper						
DAMARNBI- DAMARNLD	-12,6519	5,2584	1,3146	-15,4539	-9,8499	-9,624	15	,000

7.5 Veriler Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi

Çizelge 7.25 Veriler arasında korelasyon

	DOXLD2D	DOXLD1D	DAM2BIL	DAM1BIL	DAMARNLD
DOXLD2D Pearson Correlation	1,000	-,067	-,176	-,271	,009
Sig.(2-tailed)	,	,806	,484	,310	,975
N	18	16	18	16	16

DOXLD1D	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,067 ,806 16	1,000 , 16	-,435 ,092 16	-,032 ,908 16	-,159 ,557 16
DAM2BIL	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,176 ,484 18	-,435 ,092 16	1,000 , 16	,623** ,010 16	-,072 ,792 16
DAM1BIL	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,271 ,310 16	-,032 ,908 16	,623** ,010 16	1,000 , 18	,095 ,726 16
DAMARNLD	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	,009 ,975 16	-,159 ,557 16	-,072 ,792 16	,095 ,726 16	1,000 , 16
DAMARNBI	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	,134 ,622 16	-,100 ,713 16	-,379 ,147 16	-,554* ,026 16	-,081 ,767 16
OXLDL12N	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,091 ,721 18	1,000** ,000 16	-,428 ,077 18	-,032 ,908 16	-,159 ,557 16
BIL12N	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,269 ,280 18	-,032 ,908 16	,561* ,015 18	1,000** ,000 16	,095 ,726 16
FAKTORBI	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	,409 ,092 18	, , 16	,188 ,455 18	, , 16	, , 16
FAKTORLD	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	,409 ,092 18	, , 16	,188 ,455 18	, , 16	, , 16

Çizelge 7.26 Veriler arasında korelasyon

	DAMARNBI	OXLDL12N	BIL12N	FAKTORBI	FAKTORLD
DOXLD2D					
Pearson Correlation	,134	-,091	-,269	,409	,409
Sig.(2-tailed)	,622	,721	,280	,092	,092
N	16	18	18	18	18

DOXLD1D	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,100 ,713 16	1,000** ,000 16	-,032 ,908 18	, ^a , 16	, ^a , 16
DAM2BIL	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,379 ,147 16	-,428 ,077 18	-,561* ,015 18	,188 ,455 18	,188 ,455 18
DAM1BIL	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,554* ,026 16	-,032 ,908 16	1,000** ,000 16	, ^a , 16	, ^a , 16
DAMARNLD	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,081 ,767 16	-,159 ,557 16	,095 ,726 16	, ^a , 16	, ^a , 16
DAMARNBI	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	1,000 , 16	-,100 ,713 16	-,554* ,026 16	, ^a , 16	, ^a , 16
OXLDL12N	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,100 ,713 16	1,000 , 50	-,213 ,138 50	-,301* ,034 50	-,301* ,034 50
BIL12N	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	-,554* ,026 16	-,213 ,138 50	1,000 , 50	,401** ,004 50	,401** ,004 50
FAKTORBI	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	, ^a , 16	-,301* ,034 50	,401** ,004 50	1,000 , 50	1,000** ,000 50
FAKTORLD	Pearson Correlation Sig.(2-tailed) N	, ^a , 16	-,301* ,034 50	,401** ,004 50	1,000** ,000 50	1,000 , 50

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

a. Cannot be computed because at least one of the variables is constant.

Çizelge 7.27 Eşlenik olan veriler için korelasyon

		(x ₁)	(x ₂)	(x ₃)	(x ₄)	(x ₅)	(x ₆)
(x ₁)	Korelasyon	1	-,140	,360	-,443	-,379	,022
	Sig.(2-tailed)	,	,580	,244	,085	,147	,934
	N	18	18	16	16	16	16
(x ₂)	Korelasyon	-,140	1	,028	-,096	,154	,138
	Sig.(2-tailed)	,580	,	,919	,724	,568	,610
	N	18	18	16	16	16	16
(x ₃)	Korelasyon	-,140	,028	1	-,007	-,428	,034
	Sig.(2-tailed)	,580	,919	,	,980	,098	,901
	N	18	18	16	16	16	16
(x ₄)	Korelasyon	-,140	-,96	-,007	1	-,118	-,157
	Sig.(2-tailed)	,580	,724	,980	,	,664	,552
	N	18	18	16	16	16	16
(x ₅)	Korelasyon	-,140	,154	-,428	-,118	1	-,031
	Sig.(2-tailed)	,580	,568	,098	,664	,	,980
	N	18	18	16	16	16	16
Normal	Korelasyon	-,140	,138	,034	-,157	-,031	1
	Sig.(2-tailed)	,580	,610	,901	,562	,908	,
	N	18	18	16	16	16	16

Korelasyon Matrisi

X₁ ile X₂ değişkeni arasında negatif zayıf ilişki var (-0,140)

X₃ ile X₄ arasında doğrusal ilişki yok (-0,007)

X₅ ile X₆ arasında doğrusal ilişki yok (-0,031)

X₂ ile X₆ arasında zayıf pozitif ilişki var (0,138)

X₄ kütlesi normal kütlesine göre daha heterojen birimlerden oluşmaktadır.

X₂ kütlesi normal kütlesine göre daha heterojen birimlerden oluşmaktadır.

8. TARTIŞMA

LDL oksidasyonun damarların intima tabakasında gerçekleştiği kabul edilmektedir (Grundy ,1990, Jialal vd.,1996,. Schwenke vd.,1998, Uysal M., 2000). Plazmanın güçlü antioksidan potansiyeli nedeniyle (Halliwell vd.,1990) bu oksidasyonun plazmada oluşmadığı benimsenmektedir (Ahotupa 1996, Itabe, 1998). Bununla birlikte, arter duvarında oksitlenen LDL' nin bir bölümü tekrar genel dolaşıma katılmaktadır (Ahotupa 1996, Itabe, 1998). Bu nedenle, plazmada endojen oksitlenmiş LDL düzeylerinin ölçülmesi, bir bakıma damar duvarında gerçekleşen oksidasyon hakkında bize bilgi vermektedir.

LDL-kolesterol düzeylerindeki artış, LDL' nin gerek endojen lipit peroksit düzeylerini ve gerekse oksidasyona duyarlılığını tayin eden önemli bir faktör olarak gözükmemektedir (Balkan J., 2001).

İnsanlarda hiperkolesterolemi, ateroskleroz ve lipit peroksidasyonu arasındaki ilişkiler, araştırılmış ve LDL fraksiyonunda kolesterol içeriği arttıkça, LDL'deki oksidasyon ürünlerinin ve/veya oksidasyona eğilimin arttığını açıkça gösterilmiştir (Doğru-Abbasoğlu ,1999, Mehmetçik vd.,1997, Özdemirler vd.,1997, Uysal vd, 1999, Uzel vd., 1985, Balkan J., 2001, Schwenke ,1998, Yla-Herttuaala, 1998)

Deneysel çalışmalar plak inflamasyonunun gelişiminde okside LDL'nin anahtar rol oynadığını göstermektedir. Plazma okside LDL seviyesi AMI hastalarında kontrol gruplarına göre önemli derecede fazla olduğu ortaya konmuştur (Ueda M, 2004). İnsan koroner aterosklerotik lezyonun kararsızlığı artan okside LDL seviyesi ile artmaktadır. İnsan koroner aterosklerotik lezyonda nötrofillerin, plak kararsızlığının ortaya çıkmasında önemli bir rol üstlenmektedir. (Ueda M, 2004).

Plazmanın güçlü antioksidan özelliği göstermesinden dolayı okside LDL kan dolaşımında az miktarda bulunmaktadır. Deneysel olarak toplardamarlara enjekte edilen okside LDL karaciğerde Kupffer hücreleri tarafından hızla dolaşımdan uzaklaştırılmaktadır (Holvoet P , Collen D 1998). Buna karşın koroner arter ameliyatlarında ve AMI hastalarında plazma okside LDL'nin arttığı gösterilmiştir (Ueda M, 2004, Holvoet P , Collen D 1998).

Plazma okside LDL seviyesi, endotel erezyonu, plak oluşumu gibi durumlarda belirtiler gösteren, ACS hastalarında pozitif korelasyon göstermektedir (Ueda M, 2004).

Artan bir şekilde okside LDL' nin ateroskleroizis ve trombosis oluşumuyla ilgili olduğunu göstermektedir. Bu ilişki yalnızca makrofajların köpük hücrelerine dönüşümü değildir. Okside LDL plateletlerin adhezyonunu ve aktivasyonunu uyararak, düz kas hücrelerinin çoğalmasını uyararak, endotelin antikuagulan ve fibrinolitik aktivitesini bozarak ateroskleroz gelişiminde etkilidir (Holvoet P , Collen D 1998). Bu anlamda okside LDL ateroskleroz oluşumunun sebebi değildir. Fakat aterosklerozun gelişiminde çok önemli etkiye sahip bir faktördür.

Okside LDL' nin karakteristik özelliği, hücre aracılı oksidasyon ürünü olmasıdır. Bu anlamda metal aracılı lipit peroksidasyonundan bağımsızdır. Özellikle zarar görmüş endotel ve plateletler arasındaki ilişkiler atardamar duvarında LDL'nin oksidasyonunda kritik bir rol oynayabilir (Holvoet P , Collen D 1998). Bu nedenle ilaçlar bu hücreler arasındaki ilişkiyi bloke ederek ateroskleroz üzerinde inhibe edici güçlü bir etki gösterebilir (Holvoet P , Collen D 1998). Bilirubin ateroskleroz gelişiminde önemli bir aşma olan oksidatif stres ve inflamasyona bağlı endotel zedelenmesi üzerinde doğal koruyucu bir etki gösterebilir.

Makrofajlar minimal değişikliğe uğramış LDL' ye etkili bir şekilde bağlanmaz. Minimal değişikliğe uğramış LDL dolaşımında uzun süre kalırsa ileri derecede değişikliğe uğrayabilir ve ancak o zaman makrofajlar tarafından tanınır ve dolaşımdan uzaklaştırılır (Itabe H, Ueda M 2004).

Okside LDL, atardamar hücrelerinde apoptosizi uyararak ateroskleroz gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Napoli C. vd., 2000).

Yapılan çalışmalarda bayanlarda, HDL-C ve bilirubin arasında ters işbirliği vardır. HDL-C seviyesi yükselmesi ve bilirubinin azalması CHD riskini dengeler. Bu sonuçlara göre bilirubin ile ilgili gen CHD' ye karşı koruyabilir (Hunt C.S. vd., 2001).

Plazma örneklerinde direkt olarak okside olan lipoproteinlerin, okside olabilirlik derecesi insan plazmasında farklı yapıların oluşmasına katkıda bulunur. Tüm plazma ve LDL' in okside olabilirlikleri arasında pozitif bir işbirliği etkileşimi vardır. Plazma örneklerinin okside olabilirliği onun kimyasal kompozisyonuyla belirlenir. Plazma lipoproteinlerinin oksidasyonu arttıkça 234 nm' deki absorbansları yükselir (Torsten S. vd., 1998).

Ateroskleroz önemli bir kardiyovasküler hastalık sebebidir. Lipoprotein metabolizmasındaki genetik bozukluklar aterosklerozda risk faktörleri olarak tanımlanır. CO ve NO, damardaki düz kaslarda önemli bir hücresel uyarıcı olarak tanımlanır. Mikrozomal heme oksijenaz, hemi biliverdin ve CO' e ayrıştırır (Mayer M. ,2000). Hücresel enzim biliverdin redüktaz ise biliverdini bilirubine katalizler. İki izozimi bulunan hem oksijenaz, endotel ve düz kas hücrelerinde düşük seviyede bulunur ve ağır metaller, oksidatif stres, inflamatuvar ortamlar ve okside LDL tarafından etkilenir (Siow R. C. M. vd., 1999, Mayer M. ,2000). NO ve CO hücreler arası cGMP düzeylerini, platelet agregasyonunu ve düz kas relaksiyonunu düzenlemesine rağmen guanilil siklaz için CO, NO' dan düşük afiniteye sahiptir. (Siow R. C. M. vd., 1999). Aterosklerozda NO' ya hassasiyetin azaltılması, hem oksijenazın indüksiyonu ile oluşan hücresel antioksidan olan bilirubin ve damar gevşetici olan CO ile karşılanabilir. (Siow R. C. M. vd., 1999). Okside LDL, hipoksiye ve inflamasyon öncesi sitokinler, endotelial ve düz kas hücrelerinde hem oksijenaz anlatımını teşvik ederek antiaterogenik potansiyelini artırır (Siow R. C. M. vd., 1999).

Plazma lipoproteinlerin oksidasyonu aterogenezisde önemli bir rol oynar. Plazmanın diğer bileşenleri LDL oksidasyonundakine benzer şekilde ardışık üç önemli faz ile karakterize edilir: başlangıç (lag), çoğalma ve ayrışım fazı. Lag fazında oksidasyon zincir reaksiyonları meydana gelebilir (Katren B. Vd. ,1997).

Lipit peroksidasyonu ve oksijen radikalleri arteriyal plak oluşumu ve ateroskleroz için önemli bir faktör olduğundan CAD patofizyolojisi ile bağlantılıdır. Bilirubin, antioksidan özelliği nedeniyle LDL oksidasyonunu inhibe ederek ateroskleroz sürecinde koruyucu bir etki gösterir (Mayer M. ,2000). Yüksek oranda serum bilirubin konsantrasyonu ateroskleroz riskini azaltıyor ve CAD' a karşı koruma sağlıyor. Tersine düşük oranda serum bilirubin konsantrasyonu iskemik kalp hastalığı riskini artırıyor (Mayer M., 2000). Bilirubin, LDL oksidasyonuna karşı güçlü bir antioksidandır (Hopkins P.N. vd., 1996, Mayer M., 2000).

Lipitleri ve lipoproteinleri oksidasyona karşı korur. Ayrıca kompleman sistemi inhibe eder. Bağımsız veya albumine bağlı bilirubin fizyolojik koşullarda lipit antioksidandı ve oksijen radikallerinin temizleyicisidir. Bu nedenle antiaterogegik olarak düşünülebilir (Mayer M. ,2000).

Total bilirubin düzeyindeki % 50 oranında azalış, kişide oluşan CAD % 47 oranında daha şiddetli olmaktadır. Serum bilirubini, sistolik kan basıncına eşit düzeyde CAD için bağımsız bir risk faktörüdür (HA Schwertner, 1994).

Yapılan çalışmalar bilirubinin ateroskleroza, CAD' a ve inflamasyona karşı potansiyel

fizyolojik bir antioksidan olduğunu göstermiştir (Edler G. vd., 2003, Stocker R. vd., 1987). Erkek hastalarda 8.0 mg/L' den büyük bilirubin düzeylerinin CAD görülümünü % 40 azalttığı gösterilmiştir (Edler G. vd., 2003). Aynı şekilde Schwertener'in yaptığı çalışmada da bilirubin düzeyinin % 50 artması durumunda riskin mukayese edilebilir bir şekilde azaldığı belirtilmiştir. Bilirubin değerinin tek başına veya kolesterol/HDL oranı ile beraber bir potansiyel risk markeri olduğu ve kişinin potansiyel CAD riskini ortaya çıkardığı görülmektedir. Genelde bilirubin düzeyi 0-10mg/L gibi dar bir referans aralığında değişmektedir, bizim çalışmamızda da serum bilirubin ve CAD hastalığı arasındaki ilginç gösterilmesi erkeklerde sınırlı çıkmıştır. Kadın ve erkeklerde dolaşımdaki serum bilirubin düzeyi CAD hastalarında, kontrol gruplarına göre düşük çıkmıştır ($P<0,001$) (Edler G. vd., 2003).

Memelilerde hem katabolizmasının ürünü olan bilirubin mikro molar konsantrasyonlarda peroksit radikallerini etkili bir şekilde temizler. Bilirubinün antioksidan aktivitesi oksijen konsantrasyonu % 20' den % 2' ye düştükçe artar (Stocker R. vd., 1987). % 2' nin altındaki oksijen konsantrasyonlarında bilirubinün antioksidasyonu baskılama özelliği alfa-Tocopherol' den fazladır (Stocker R. vd., 1987). Alfa-Tocopherol insan plazmasında bir antioksidan olarak görev yapmasına rağmen aynı zamanda LDL içinde pro-oksidan da olabilir (Shane R.T. vd., 1997).

Yapılan çalışmalar orta derecede artış gösteren serum bilirubin , CAD riski taşıyan hastalarda antioksidan etkisi nedeniyle koruyucu faktör olduğunu göstermiştir (Hopkins P.N. vd., 1996). Total bilirubin konsantrasyonu MI, koroner arter baypas hastalarında $8,9\pm 6,1\mu\text{mol/L}$, kontrol gruplarında $12,4\pm 8,1\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur (Hopkins P.N. vd., 1996). Serum bilirubin düzeyi ile CAD riski arasında kadın ve erkeklerde farklı olmayan güçlü ters bir ilişki bulunmaktadır. Bilirubin, $17\mu\text{mol}$ (1mg/dL) artışı için 0,25 ($p=0,0015$) gibi düşük olmasına rağmen koruyucu bir etki yapar (Hopkins P.N. vd., 1996).

Bir damar tıkalı hastaların serum bilirubin düzeyleri N damar tıkalı hasta gurubuna göre anlamlı derecede düşüktür. Aynı şekilde 2 damar tıkalı hasta gurubunun serum bilirubin düzeyleri N- damar tıkalı guruba göre düşüktür. Bu sonuçlarda bize bilirubinün okside LDL oluşumundaki koruyucu rolü hakkında bir fikir vermektedir.

Bir ve iki tıkalı damarlı hastaların okside LDL düzeyleri N-damar tıkalı (anjiyo sonucu tıkalı damar bulunmayan) guruba göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p< 0,01$) .

Bu sonuç bize okside LDL düzeyinin aterosikloz oluşumunda ne kadar etkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuç diğer araştırmacılar tarafından desteklenmektedir.

Bir ve iki tıkalı damarı bulunan hastalardan alınan örneklerin analizi sonucu elde edilen bilirubin ve okside LDL verileri birlikte değerlendirildiğinde, aralarında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır ($p>0,05$).

KAYNAKLAR

- Ahotupa, M., Ruutu, M., Mantyla, E., (1996), Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem* 29: 139.
- Ahotupa, M., Vasankari, T.J., (1996), Baseline diene conjugation in LDL lipids: An indicator of circulating oxidized LDL. *Free Radical Biol Med* 27: 1141.
- Astrid Trion, Arnoud van der Lesrse, (2004), Vascular smooth muscle cells and calcification in atherosclerosis, *Am. Heart J.*;147:808-14.
- Balkan, J., Mutlu-Türkoğlu, Ü., Toker, G., Uysal, M., (2001), Sağlıklı Kişilerde Düşük Dansiteli Lipoproteinlerin Kolesterol İçeriği İle Peroksidasyon Potansiyeli Arasındaki İlişkinin İncelenmesi, *İst. Tıp Fak. Mecmuası* 64:4.
- Berliner, JA., Navab, M., Fogelman, AM., Frank, JS., Demer, LL., Edwards, PA., Watson, AD., Lusis, AJ., (1995), Atherosclerosis: basic mechanisms: oxidation, inflammation and genetics, *Circulation* 91:2488-2496.
- Bettridge, DJ., Morrell, JM., (1998), *Lipids and Coronary Heart Disease*. Chapman and Hall Medical, London .
- Buege, JA. ve Aust, JD., (1978), Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 52: 302 .
- Chisolm, GM., Hazen, SL., Fox, PL., Cathcart, MK., (1999), The oxidation of lipoproteins by monocyte-macrophage. *J. Biol. Chem.*274:25959-25962.
- Colin, D., Funk and Tillmann Cyrus, (2001), 12/15-Lipoxygenase Oxidative Modification of LDL and Atherogenesis, *Trends in Cardiovascular Medicine*, Volume 11, Issue 3-4, Pages 116, Philadelphia.
- Dawn, C., Schwenke, (1998), Antioxidants and atherogenesis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Volume 9; Issue (8), 424-445.
- Doğru-Abbasoğlu S., Kanbağlı Ö., Bulur H., Babalık E., Öztürk S., Aykac-Toker G., Uysal M, (1999), Lipid peroxides and antioxidant status in serum of patients with angiographically defined coronary therosclerosis. *Clin Biochem* 32: 671.
- Durmuş, M., (2003), “Kolesteroldeki Kaos”, Nobel Yayın Dağıtım;5-35, Ankara.
- Edler, G., Hamvi, A., Sunder-Plassmann, R., Exner, M., Vukovich, T., Mannhalter, C., Wojta, J., Huber, K., Wagner, O., (2003), “Is Low Serum Bilirubin an Independent Risk Factor for Coronary Artery Disease in Men but Not in Women?” *Clinical Chemistry*. 49:1201-1204.
- Esterbauer. H., Gebicki, J., Puhl, H., Jürgens, G., (1992), The role of peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biol Med* 13: 341.
- Grundy, SM., (1990), *Atlas of Lipid Disorders, Cholesterol, Atherosclerosis and Coronary Heart Disease*, Gower Medical Publ., New York.
- Halevy, D., Thiery, J., Nagel, D., Arnold, S., Erdmann, E., Höfling, B., Cremer, P., Seidel, D., (1997), Increased oxidation of LDL in patients with coronary artery disease is independent from dietary vitamins E and C. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 1432 .
- Halliwell, B., and Gutteridge, JMC, (1990), The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 280: 1.
- HA., Schwertner, WG., Jackson, G., Tolan, (1994), “Association of low serum concentration

- of bilirubin with increased risk of coronary artery disease” *Clinical Chemistry*, Vol 40, 18-23.
- Heinecke, J.W., (1998), Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implication for the oxidized low density lipoprotein hypothesis, *Atherosclerosis* 141:1-15.
- Holvoet, P., Vanhaecke, J., Janssens, S., Van de Werf, F., Collen, D., (1998), Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation* 98:1487-1494.
- Holvoet Paul, Collen Désiré, (1998) “Oxidation of low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis” *Atherosclerosis*, Volume 137; Supplement 1 , S33-S38, Belgium.
- Holvoet, P., Ann Mertens, Peter Verhamme, Kris Bogaerts, Guy Beyens, Raymond Verhaeghe, Desire Collen, Erik Muls, Frans de werf, (2001), Circulation oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:844-848.
- Hopkins, P.N., Wu L.L, Hunt, S.C., James, B.C., Vincent, G.M., Williams, R.R., (1996), “Higher Serum Bilirubin Is Associated With Decreased Risk for Early Familial Coronary Artery Disease” *Arteriosclerosis, Trombosis and Vascular Biology.* 16:250-255.
- Hunt, C.S., Kronenberg, F., Eckfeldt, J.H., Hopkins, P.N., Myers, R.H., Heiss, G., (2001), “Association of plasma bilirubin with coronary heart disease and segregation of bilirubin as a major gene: the NHLBI family heart study” *Atherosclerosis*. Volume 154; Issue (3), 747-754.
- Itabe, H., Ueda, M., Uno and Masaaki, Takano Tatsuya, (2004), “Measurement of oxidized LDL present in human plasma and atherosclerotic lesions”, *Atherosclerosis XIII. Proceedings of the 13th International Atherosclerosis Symposium International Congress Series*, Volume 1262 , Pages 87-90
- Itabe, H., (1998), Oxidized phospholipids as a new landmark in atherosclerosis. *Prog Lipid Res* 37: 181.
- Jialal, I., Devaraj, S., (1996), Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem* 42: 498.
- Julia, M. P., Ian, B. P., Lawrie, J. B., Roland, S., Kevin, D. C., (1997), Unexpected dose response of copper concentration on lipoprotein oxidation in serum :discovery of a unique peroxidase-like activity of urate /albumin in the presence of high copper concentration 699-705.
- Katren, B., Beisiegel, U., Gercken, G., Kontush, A., (1997), “Mechanisms of lipid peroxidation in human blood plasma: a kinetic approach” *Chemistry and Physics of Lipids*. Volume 88, Issue (2), 83-96.
- Koolman, J., Röhm, K., H., (2003), *Porfirinlerin Yıkımı, Renkli Biyokimya Atlası, Nobel Tıp Kitabevleri*, 180. sayfa, İstanbul.
- Krijgsman, B., Papadakis, J.A., Ganotakis, E.S., Mikhailidis, D.P., Hamilton, G., (2002), The effect of peripheral vascular disease on the serum levels of natural anti-oxidants: bilirubin and albumin. *Int Angiol*;21(1):44-52. , London, UK.
- Larbi, A., Abdelouahed Khalil, Nadine Douziech, Karl-Philippe Guérard and Tamàs Fülöp, Jr. , (2005) “Oxidized low-density lipoproteins induced inflammatory process during atherogenesis with aging “*Radiation Physics and Chemistry* 72; (2-3), 387-397.
- Lewis, A., Conner Memorial Lecture, (1997), Oxidative Modification of LDL and Atherogenesis. American Heart Association, Inc, 95:1062-1071.

- Libby, P., (2002), "Atherosclerosis", *Scientific American*, 286, 5; 30-35.
- May Berliner, JA., Navab, M., Fogelman, AM., Frank, JS., Demer, LL., Edwards, PA., Watson, AD., Lusis, AJ., (1995) *Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics.* 1;91(9):2488-96 .
- Mayer, M., (2000), "Association of Serum Bilirubin Concentration with Risk of Coronary Artery Disease" *Clinical Chemistry*. 46:1723-1727.
- Mehmetçik, G., Özdemirler, G., Aykac-Toker, G., (1999), *Aterosklerozla ilişkili hastalıklarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine incelemeler.* Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 20: 141.
- Mehmetçik G, Toker G, Uysal M, (1997), Endogenous and copper-induced lipid peroxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. *Horm Metab Res* 29: 63 .
- MN Bui, MN Sack, G Moutsatsos, (1996), "Autoantibody titers to oxidized low-density lipoprotein in patients with coronary atherosclerosis". *Am Heart J* 131. 663–667.
- Murray, R. R., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W., (1996), "Lipit Taşınması ve Depolanması", *Harper's Biochemistry*, Çeviri editöleri, Dikmen N., Özgünen, Barış Kitabevi, 265-295, İstanbul.
- Murray, R. R., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W., (1996), "Porfirinler ve Safra Pigmentleri", *Harper's Biochemistry*, Çeviri editöleri, Dikmen N., Özgünen, Barış Kitabevi, 361-371, İstanbul.
- Napoli, C., Quehenberger, O., De Nigris, F., Abete, P., Glass Christopher, K., and Palinski, W., (2000) "Mildly oxidized low density lipoprotein activates multiple apoptotic signaling pathways in human coronary cells" *The FASEB Journal*.;14:1996-2007.
- Peter, D., Reaven, (1994), "Mechanisms of Atherosclerosis: Role of LDL Oxidation", *Free Radicals in Diagnostic Medicine*, Plenum Press, New York.
- Olli, T., Raitakari, Olli-Pekka Pitkänen, Terho Lehtimäki, Sanni Lahdenperä, Hidehiro Iida, Seppo Ylä-Herttua, Jukka Luoma, Kari Mattila, Tapio Nakkari, Marja-Riitta Taskinen, Jorma S. A. Viikari, Juhani Knuuti, (1997), "In Vivo Low Density Lipoprotein Oxidation Relates to Coronary Reactivity in Young Men" *Journal of the American College of Cardiology*, Volume 30, (1), 97-102.
- Özdemirler, G., Öztezcan, S., Toker, G., Uysal, M., (1997), "Peroxidation status of erythrocytes and apolipoprotein B containing lipoproteins in hypercholesterolemic subjects". *Internat J Vit Nutr Res* 67: 130 .
- Ross, R., (1999), "Atherosclerosis:an inflammatory disease", *New Engl. J. Med.* 340:115-126.
- Seztler, W., Malle, E., Kostner, GM., (1998), "Methodological approaches for assessing lipid and protein oxidation and modification in plasma and isolated lipoproteins". *Method Mol Biol* 110: 167.
- Schwenke, DC., (1998), "Antioxidants and atherogenesis". *J Nutr Biochem* 9: 424 .
- Shane, R.T., Stocker, R., (1997), "Requirement for, Promotion, or Inhibition by Tocopherol of Radical-Induced Initiation of Plasma Lipoprotein Lipid Peroxidation" *Free Radical Biology and Medicine* 22; (1-2), 57-71.
- Siow, R.C.M., Sato, H., Mann, G.E., (1999), "Hem oxygenase-carbon monoxide signalling pathway in atherosclerosis: anti-atherogenic actions of bilirubin and carbon monoxid?" *Cardiovascular Research*. 41, (2), 385-394.

- Stefan, A., Hulea, Erwin Wasowicz, Fred, A., Kummerow, (1995), "Inhibition of metal catalyzed oxidation of low density lipoprotein by free and albumin bound bilirubin", *Biochimica et Biophysica Acta*, vol.1259, (1), 29-38.
- Steinberg, D., (1997), "Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance", *J. Biol. Chem.* 272:20963-20966.
- Steinberg, D., (1997), "Oxidative modification of LDL and atherogenesis", *Circulation* 95:1062-1071.
- Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, AF., Glazer, AN., Ames, BN., (1987), "Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance" *Science*, Feb27;235(4792):1043-6.
- Taner, O., Emerk, K. ve Sözmen, E., (2002), "Lipit Taşınması ve Depolanması" *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, 328-352, Ankara.
- Taner, O., Emerk, K. ve Sözmen, E., (2002), "Koroner Arter Hastalıkları ve Lipit Metabolizması Bozuklukları, *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, 346-352, Ankara.
- Tai-Wing, Wu, K., Pui Fung, Jung Wu, Chin-Chin Yang, Richard D Weisel, (1996), "Antioxidation of human low density lipoprotein by unconjugated and conjugated bilirubins", *Biochemical Pharmacology*, 51;(6), 859-862.
- Tai-Wing Wu, Kwok-Pui Fung, Chin-Chin Yang, (1994), "Unconjugated bilirubin inhibits the oxidation of human low density lipoprotein better than trolox", *Life Sciences*, 54, (25), PL 477-PL 481.
- Tetsuro Ishii, Ken Itoh, Emilio Ruiz, David S. Leake, Hiroyuki Unoki, Masayuki Yamamoto, Giovanni E Mann, (2004), Role Nrf2 in the regulation of CD36 and stress protein expression in murine macrophages, *Circulation*;94:609.
- Tokullugil, A., Dirican, M., ve Ulukaya, E., Çeviri editörleri, (1997), "Kolesterol ve Steroid Metabolizması" *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005-225, İstanbul.
- Torsten, S., Finckh B, Fingerhut R, Kohlschütter A, Beisiegel U, Kontush Anatol, (1998), "How different constituents of human plasma and low density lipoprotein determine plasma oxidizability by copper" *Chemistry and Physics of Lipids*. 91, (1), 39-52.
- Uysal, M., (2000), *Ateroskleroz, Kalp-Damar Hastalıkları ve Serbest Radikaller*. *Aktüel Tıp Dergisi* 5: 15 .
- Uysal M, Kanbağlı Ö, Doğru-Abbasoğlu S, Mehmetçik G, Özdemirler G, Aykac-Toker G, (1999), *Aterosklerozla ilişkili hastalıklarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine incelemeler*. *Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 20: 141.
- Ueda, M., Ehara, S., Kobayashi, Y., Naruko, T., Shirai, N., Hai, E., Ikura, Y., Ohsawa, M., Anton, E., Becker, (2004), "Plaque instability in human coronary atherosclerotic lesions: roles of oxidized LDL and neutrophils" *Atherosclerosis XIII. Proceedings of the 13th International Atherosclerosis Symposium International Congress Series*, 1262, 75-78.
- Uzel, N., Sivas, A., Uysal, M., Öz, H., (1985), "Studies on serum peroxides in normolipidemic and hyperlipidemic individuals". *IRCS Med Sci* 13: 1039.
- Van de Vijver, LPL., Kardinal, AFM., Van Duyvenvoorde, W., Kruijssen, DACM., Grobbee. DE., Van Poppel, G., Princen, HMG., (1998), "LDL oxidation and extent of coronary atherosclerosis". *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 193.
- Vural, F., Özkuş, K., Murat Akkın, S., Derya Ertem, A., Tanyeli, E., Zeynep Vural, E., (1999), "Arteriyoskleroz" Çeviri editörleri, *Anatomi Atlası*, Birol Basın Yayın, 120-123 İstanbul.

Witztum, J.L., Horkko, S., (1997), "The role of oxidized LDL in atherogenesis: immunological response and anti-phospholipid antibodies". *Ann N Y Acad Sci.* 811:88-99.

Wieland, H., Seidel, D., (1983), A simple specific method for precipitation of low density lipoproteins. *J Lipid Res* 24: 904.

Yla-Herttuala, S., (1998), "Is oxidized low-density lipoprotein present in vivo?" *Curr Opin Lipidol* 9: 337.

Yla-Herttuala, S., Palinski, W., Rosenfeld, M.E., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Butler, S., Witztum, J.L., Steinberg, D., (1989), "Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man". *J Clin Invest* 84: 1086.

Zhang, A., Vertommen, J., Van Gaal, L., De Leeuw, I., (1994), A rapid and simple method for measuring the susceptibility of low-density-lipoprotein and very-low-density-lipoprotein to copper-catalyzed oxidation. *Clin Chim Acta* 227: 159.

İNTERNET KAYNAKLARI

[1] <http://www.med.gazi.edu.tr>

[2] <http://www.antoloji.com>

[3] <http://www.gata.edu.tr>

[4] <http://www.kardiyo.net>

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi 02.01.1977

Doğum yeri Yozgat

Lise 1991-1994 Dr. Kemal Naci Ekşi Lisesi

Lisans 1994-2000 İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans 2001- ... Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı

Çalıştığı kurumlar

2001-2002 Pharma Vision A.Ş.

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATEROSKLEROZDA BİLİRUBİNİN OKSİDE LDL
OLUŞUMU ÜZERİNDEKİ KORUYUCU ETKİSİNİN
TIKALI DAMAR SAYISI AÇISINDAN İNCELENMESİ**

Biyolog Özkan SELVİ

**FBE Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Yar. Doç. Dr. Volkan Sözer

İSTANBUL, 2005