

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

FRİEDEWALD, MARTİN-HOPKİNS VE SAMPSON DENKLEMLERİ İLE
FARKLI TRİAÇİLGLİSEROL DÜZEYLERİNDE HESAPLANAN LDL-K VE
VLDL-K DÜZEYLERİNİN NÜKLEER MANYETİK REZONANS (NMR)
SPEKTROFOTOMETRİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Kevser AYAR

TRABZON-2024



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**FRIEDEWALD, MARTİN-HOPKİNS VE SAMPSON DENKLEMLERİ İLE
FARKLI TRİAÇİLGLİSEROL DÜZEYLERİNDE HESAPLANAN LDL-K
VE VLDL-K DÜZEYLERİNİN NÜKLEER MANYETİK REZONANS (NMR)
SPEKTROFOTOMETRİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Kevser AYAR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Asım ÖREM

TRABZON 2024

ÖNSÖZ

Uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmada, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Asım ÖREM başta olmak üzere; Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. S. Caner KARAHAN'a, Sayın Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU'na, Sayın Prof. Dr. Birgül VANİZÖR KURAL'a, Sayın Prof. Dr. Ahmet ALVER'e, Sayın Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE'ye, Sayın Doç. Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN'a,

Eğitim sürem içerisinde emekli olan hocamız Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER'e, Çalışmamızdaki NMR değerlendirmelerine katkılarından dolayı Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa SERTESER'e

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve her birinden birçok yeni şey öğrendiğim çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Sümeyye AYTEKİN GARİP'e, Uzm. Dr. S. Şura AYAN'a, Dr. Ömer Faruk SAZ'a, Dr. Firdevs Kevser ZIVALI'ya, Dr. Zeynep KESKİN'e, Dr. Zeynep Neyyire BEKMEZ'e, Dr. Betül TULUM'a ve Dr. Oya Reyhan PAYAM'a,

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda görevli tüm araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma,

Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve bu günlere gelmemde emekleri büyük olan çok kıymetli annem, babam ve kardeşlerime en içten duygularım ile teşekkür eder, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Kevser AYAR

Trabzon 2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iii
ÖZET	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	xi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
2.1. Lipidler ve Lipoproteinler	3
2.1.1. Şilomikronlar (ŞM).....	4
2.1.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL).....	5
2.1.3. Ara Dansiteli Lipoproteinler (IDL).....	5
2.1.4. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)	6
2.1.4.1. LDL Metabolizması.....	6
2.1.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL).....	7
2.1.6. Diğer Lipoprotein Fraksiyonları	8
2.2. Ateroskleroz ve LDL	9
2.2.1. Tanım	9
2.2.2. Ateroskleroz Patogenezi'nde Hipotezler	9
2.2.3. Patogenez	11
2.2.4. Ateroskleroz Risk Faktörleri.....	14
2.2.5. Toplam Kardiyovasküler Risk Tahmini LDL-K'nın Tedavide Önemi	15
2.3. LDL-K Ölçüm Yöntemleri.....	17
2.3.1. Elektroforez	17
2.3.2. Ultrasantrifugasyon.....	17
2.3.3. β Kantifikasyon.....	18
2.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi	18
2.3.5. LDL Kolesterol Ölçümünde Kullanılan Direkt Yöntemler	19
2.3.6. LDL Kolesterol Ölçümünde Kullanılan İndirekt Hesaplama Yöntemleri..	21
2.3.6.1. Friedewald Denklemi.....	24
2.3.6.2. Martin-Hopkins Denklemi	25

2.3.6.3. Sampson Denklemi	27
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereç	29
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Çalışma Grubu.....	29
3.2.2. Lipit Seviyelerinin Ölçümü	31
3.2.3. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi.....	32
3.2.4. Friedewald Denklemi ile LDL-K Hesaplanması	34
3.2.5. Martin Hopkins Denklemi ile LDL-K Hesaplanması.....	34
3.2.6. Extended (Genişletilmiş) Martin Hopkins Denklemi ile LDL-K Hesaplanması.....	34
3.2.7. Sampson Denklemi ile LDL-K Hesaplanması	34
3.3. Çalışmada Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	34
4- BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	37
5.TARTIŞMA.....	88
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	96
7.KAYNAKLAR.....	98

ÖZET

FRIEDEWALD, MARTİN-HOPKİNS VE SAMPSON DENKLEMLERİ İLE FARKLI TRİAÇİLGİSEROL DÜZEYLERİNDE HESAPLANAN LDL-K VE VLDL-K DÜZEYLERİNİN NÜKLEER MANYETİK REZONANS (NMR) SPEKTROFOTOMETRİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde önemli yeri olan önlenebilir risk faktörlerinin başında yer alır. Kliniğin yönetilmesinde etkili olması LDL-K ölçümünü ve bu ölçümün doğruluğunu daha da önemli hale getirmiştir. Friedewald denklemi yaklaşık 50 yıldır yaygın kullanılmasına rağmen tokluk durumunda, LDL-K<100 mg/dL ve TG>400 mg/dL’de hatalı sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Bundan dolayı, LDL-K düzeyi hesaplanmasında bu denklemin yerini alabilecek yeni denklemler geliştirilmiş ve literatürde yerini almıştır.

Amaç: Bu çalışmada farklı lipit içerikli bireylerde NMR referans yöntemiyle karşılaştırma yapılarak enzimatik kolorimetrik yöntem ve denklemlerin performansının değerlendirilmesi amaçlandı. Böylece LDL-K düzeyini en doğru şekilde belirleyen yöntemin bulunması ve otomatize sistemlere uyarlanabilmesi hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem: Farklı lipit düzeylerine sahip (özellikle Triaçilgliserol ve LDL-K düzeyleri) 160 bireyde alternatif referans yöntemlerden biri olan Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrofotometri yöntemi kullanılarak elde edilen çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL-K) ve LDL-K sonuçları enzimatik kolorimetrik yöntem, Friedewald, Martin Hopkins, Extended Martin Hopkins ve Sampson denklemleriyle elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldı.

Bulgular: VLDL-K düzeylerine bakıldığında NMR yöntemine en yakın sonuçların $VLDL_{K_{EM}}$ ve $VLDL_{K_M}$ ’de, LDL-K düzeyleri değerlendirildiğinde ise LDL_{K_F} ve LDL_{K_S} yönteminde olduğu görüldü.

Sonuç ve Öneriler: Farklı serum lipit düzeyleri göz önüne alınarak VLDL-K ve LDL-K düzeyinin elde edilmesinde daha doğru sonuç verebilecek uygun algoritmaların geliştirilmesinde ve rutin olarak kullanılmasında NMR tekniği değerli sonuçlar vermektedir. Farklı triaçilgliserol (TG) düzeylerinde denklemlerin performansı farklılık gösterdiğinden TG düzeylerine göre algoritmaların geliştirilmesi ve otomatize sistemlere uyarlanması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Friedewald, LDL Kolesterol, Martin Hopkins, Nükleer Manyetik
Rezonans, Sampson



SUMMARY

EVALUATIONS OF LDL-C AND VLDL-C LEVELS CALCULATED BY FRIEDEWALD, MARTIN-HOPKINS AND SAMPSON EQUATIONS AT DIFFERENT TRIACYLGLYCEROL LEVELS, BY NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROPHOTOMETRY (NMR)

Introduction: Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) is one of the most important preventable risk factors for cardiovascular disease (CVD). It's impact on clinical management has made the measurement of LDL-C and its accuracy even more important. Although the Friedewald equation has been widely used for nearly 50 years, its use in satiety, LDL-C<100 mg/dL and TG>400 mg/dL has been shown to give erroneous results. Therefore, new equations that can replace this equation in the calculation of LDL-C levels have been developed and have been included in the literature.

Objective: The aim of this study was to evaluate the performance of enzymatic colorimetric method and equations by comparing with NMR reference method in individuals with different lipid content. In addition, it is aimed to find the method that determines the LDL-C level most accurately and to adapt it to automated systems.

Materials and Methods: Very low density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) and LDL-C results obtained by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrophotometry, one of the alternative reference methods, were compared with the results obtained by enzymatic colorimetric method, Friedewald, Martin Hopkins, Extended Martin Hopkins and Sampson equations in 160 individuals with different lipid levels (especially triglyceride and LDL-C levels).

Results: When VLDL-C levels were evaluated, VLDL_{K_eM} and VLDL_{K_M} had the closest results to the NMR method, whereas LDL-C levels were evaluated by LDL_{K_F} and LDL_{K_S} methods.

Conclusion and Recommendations: NMR technique provides valuable results in the development and routine use of appropriate algorithms that can provide more accurate results in obtaining VLDL-C and LDL-C levels considering different serum lipid levels. Since the performance of the equations differs at different triacylglycerol (TG) levels, it is recommended to develop algorithms according to TG levels and adapt them to automated systems.

Key Words: Friedewald, LDL Cholesterol, Martin Hopkins, Nükleer Magnetic Resonance, Sampson

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	LDL partikülünün yapısı	6
Şekil 2.	Aterosklerozun oksidatif modifikasyon hipotezi.	10
Şekil 3.	Triaçilgliserol düzeylerine göre çalışma grubu dağılımı	30
Şekil 4.	Direkt LDL-K düzeylerine göre çalışma grubu	31
Şekil 5.	Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	42
Şekil 6.	50-149 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	44
Şekil 7.	150-299 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	47
Şekil 8.	300-399 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	49
Şekil 9.	400-600 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	52
Şekil 10.	Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	55
Şekil 11.	50-149 mg/dL TG Düzeylerinde NMR-LDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	58
Şekil 12.	150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	61
Şekil 13.	300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	64
Şekil 14.	400-600 mg/dL Triaçilgliserol Düzeylerinde NMR-LDL ile Diğer Yöntemlere ait blant altman grafikleri.....	67
Şekil 15.	Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDL+IDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	71
Şekil 16.	50-149 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDL+IDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	74
Şekil 17.	150-299 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDL+IDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri	77
Şekil 18.	300-399 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDL+IDL ile diğer yöntemlere ait blant altman grafikleri.....	80
Şekil 19.	400-600 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDL+IDL ile diğer yöntemlere ait blant altman grafikleri.....	83
Şekil 20.	dLDL<100 mg/dL (N=23) iken diğer yöntemlerin NMR-LDL ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği	85

Şekil 21. dLDLK $\geq$ 100 (N=137) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği	85
Şekil 22. dLDLK<100 (N=23) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK+IDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği	86
Şekil 23. dLDLK $\geq$ 100 (N=137) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK+IDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği	87



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Toplam kardiyovasküler risk ve LDL kolesterol düzeylerine göre yaklaşım şekilleri	16
Tablo 2. Literatür taramasıyla elde edilen LDL-K denklemleri	22
Tablo 3. Non-HDL kolesterol ve triağılglicerol düzeylerine göre TG/VLDL-K oranının medyan değeri	27
Tablo 4. Çalışmada kullanılan laboratuvar malzemeleri ve cihazlar	29
Tablo 5. Çalışılan testlere ait laboratuvar toplam hata değeri ve NCEP toplam izin verilebilir hata sınır değeri.....	32
Tablo 6. Çalışma grubunun yaş, cinsiyet ve lipit düzeyleri.....	37
Tablo 7. Triağılglicerol düzeylerine göre çalışma alt grup lipit değeri	38
Tablo 8. Çalışma grubunun direkt LDL kolesterol düzeyleri <100 ve ≥ 100 'de lipit değeri	38
Tablo 9. Direkt (Enzimatik-Kolorimetrik) yöntem ve NMR yöntemiyle elde edilen TK, TG ve HDL-K değeri	39
Tablo 10. Farklı triağılglicerol düzeylerinde NMR-VLDLK yöntemi ve diğıer yöntemlere ait VLDLK değeri.....	40
Tablo 11. Farklı TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	42
Tablo 12. 50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR VLDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	45
Tablo 13. 150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	47
Tablo 14. 300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR VLDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	50
Tablo 15. 400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR VLDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	53
Tablo 16. Triağılglicerol düzeylerine göre NMR-LDLK ölçüm yöntemi ve diğıer yöntemlere ait ölçüm değeri	53
Tablo 17. Farklı TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	56
Tablo 18. 50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	59
Tablo 19. 150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	62
Tablo 20. 300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğıer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grağığı verileri.....	65

Tablo 21.	400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri.....	68
Tablo 22.	Triaçilgliserol düzeylerine göre NMR-LDLK+IDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemler arasındaki ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması	69
Tablo 23.	Farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri.....	72
Tablo 24.	50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri.....	75
Tablo 25.	150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri.....	78
Tablo 26.	300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri.....	81
Tablo 27.	400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri.....	84

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Apo	: Apolipoprotein
ASKVH	: Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalık
ATP III	: Erişkin Tedavi Paneli III
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
β Q	: Beta Kantifikasyon
CETP	: Kolesterol Ester Transfer Protein
CRP	: C reaktif Protein
CV	: Varyasyon Katsayısı
dLDLK	: Direkt LDL Ölçüm Yöntemi
dLDL-K	: Direkt LDL Kolesterol
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EAS	: Avrupa Ateroskleroz Derneği
EK	: Ester Kolesterol
ESC	: Avrupa Kardiyoloji Derneği
ET-1	: Endotelin-1
FL	: Fosfolipit
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HDL-K	: HDL Kolesterol
ICAM-1	: İnterselüler Adhezyon Molekülü-1
IDL	: Ara Dansiteli Lipoprotein
IDL-K	: IDL Kolesterol
IFN γ	: İnterferon Gama
IL	: İnterlökin
IQR	: Çeyreklik Dilimler
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LDL-K	: LDL Kolesterol
LDLK _{eM}	: Extended Martin Denklemi

LDLK _F	: Friedewald Denklemi ile Hesaplanan LDL-K
LDLK _M	: Martin Hopkins Denklemi ile Hesaplanan LDL-K
LDLK _S	: Sampson Denklemi ile Hesaplanan LDL-K
Lp (a)	: Lipoprotein (a)
LPL	: Lipoprotein Lipaz
LRP	: LDL Reseptör İlişkili Protein
MAD	: Ortalama Mutlak Fark
MCP-1	: Monosit Kemotaktik Protein-1
MCSF	: Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
MTTP	: Mikrozomal Triaçilgliserol Transfer Protein
NCEP	: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NMR-IDLK	: NMR ile Ölçülen IDLK
NMR-IDLK+LDLK	: NMR ile Ölçülen IDLK ve LDLK Toplamı
NMR-LDLK	: NMR ile Ölçülen LDLK
NO	: Nitrik Oksit
ox LDL	: Okside LDL
R ²	: Belirleme Katsayısı
RMSE	: Kök Ortalama Kare Hatası
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
SCORE	: Sistemik Koroner Risk Hesaplama
SD	: Standart Sapma
SR-B1	: Çöpçü reseptör B1
ŞM	: Şilomikron
TAE	: Toplam Analitik Hata
TG	: Triaçilgliserol
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü-β
TK	: Total Kolesterol
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör-α
VCAM-I	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

VLDL-K	: VLDL Kolesterol
VLDLK _F	: Friedewald Denklemi ile Hesaplanan VLDL-K
VLDLK _{eM}	: Extended Martin Denklemi ile Hesaplanan VLDL-K
VLDLK _M	: Martin Denklemi ile Hesaplanan VLDL-K
VLDLK _S	: Sampson Denklemi ile Hesaplanan VLDL-K



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), dünyada mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir. 1990 yılında 271 milyon olan kardiyovasküler hastalık vaka sayısı 2019 yılında 523 milyona ulaşarak neredeyse iki katına çıkmıştır. Yine 1990 yılında kardiyovasküler hastalıktan ölüm sayısı 12,1 milyon iken 2019 yılında bu sayı artarak 18,6 milyona ulaşmıştır (1). 2020 yılında ise dünyada 19,1 milyon ölüm kardiyovasküler hastalıkla ilişkilidir (2). Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) belirlediği yaş ve cinsiyete göre standardize edilmiş genel kardiyovasküler hastalık ölüm oranlarına göre tüm Avrupa ülkeleri; düşük, orta, yüksek ve çok yüksek olmak üzere dört risk bölgesine ayrılırken Türkiye bu sınıflandırmada yüksek riskli (100.000'de 150-300 KVH ölümü) bölgede yer almaktadır (3). Aterosklerotik koroner arter hastalığı önlemek ve kontrol altında tutmak amacıyla 2013 yılında DSÖ'ye üye devletler tarafından hazırlanan 'Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Önlenmesi ve Kontrolüne İlişkin Küresel Eylem Planı'nın 2 maddesinde doğrudan bu konuya yer verilmiştir (4).

Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın (ASKVH) önlenmesinde önemli risk faktörlerinden biri olan düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) ana hedeftir (5). LDL-K düzeyinin 80 mg/dL (2 mmol/L) düşürülmesi ASKVH riskini %40-50 oranında azaltabilmektedir (6). 2019 Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) ve Avrupa Ateroskleroz Derneği (EAS), çok yüksek risk grubunda olan bireylerde LDL-K'nın başlangıç düzeyinden $\geq$ %50 oranında düşürülmesini ve LDL-K düzeyinin <55 mg/dL olacak şekilde hedeflemesini önermektedir (7). LDL-K düzeylerine göre tedavi planlanırken risk gruplarına göre oluşturulmuş sınır değerler hedef alınmaktadır. LDL-K düzeylerinin tedavideki yeri daha doğru ölçüm yapılmasını oldukça önemli hale getirmiştir (8).

LDL kolesterol ölçümü için altın standart referans yöntem, ultrasantrifugasyon ile elde edilen beta kantifikasyondur(BQ). Bu yöntem,lipoproteinleri ayırmak için ultrasantrifüjleme ve polianyonlarla çökeltme işlemlerini içermektedir. Ultrasantrifugasyon ile çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL-K) ve şilomikronlar (ŞM) uzaklaştırılır (9,10). Geride kalan kısım esas olarak LDL-K ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) içermekte olup, varsa ara dansiteli lipoprotein kolesterol (IDL-K) ve Lp(a)' da içerir (10). Daha sonra kimyasal presipitasyon ile HDL-K ayrılır. Geride kalan kısımdan ölçülen kolesterolden HDL-K fraksiyonundaki kolesterolün çıkarılmasıyla LDL-K elde edilmiş olur

(9,10). Pahalı bir yöntem olması, uzun zaman alması, yoğun emek gerektirmesi, yalnızca uzman laboratuvarlarda yapılabilmesi nedeniyle rutin kullanım için uygun değildir (11). Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi lipid ve lipoprotein profilini ölçen alternatif referans yöntemlerden biridir (12,13,14,15). Bu yöntemde lipoproteinlerin yoğunluğu, partikül sayısı, boyutu ve lipid ve protein bileşimi ölçülebilir (14). Hesaplama yöntemleri ise düşük maliyet ve uygulama kolaylığı nedeniyle, LDL-K değerlendirmesi için tercih edilen yöntemlerdir ve bunlardan Friedewald denklemi ($LDLK_F$) yaklaşık 50 yıldır kullanılmaktadır (11). Friedewald denklemi sonuçları açlık örnekleri ve normolipidemik bireyler için genellikle doğrudur; ancak LDL-K düzeyi <70 mg/dL ve triağılglicerol (TG) düzeyi >150 mg/dL olan hastalarda LDL-K'yı olduğundan daha düşük tahmin etmektedir. Bu durum daha ciddi lipid kontrolü yapılması gereken durumlarda yanıltıcı sonuçlara yol açmaktadır (16). TG düzeylerinin >400 mg/dL olduğu durumda ise Friedewald denklemi ile LDL-K hesaplanması daha fazla hata oluşturmakta ve bu durumu aşmak için klinik laboratuvarlar genellikle direkt LDL-K ölçüm analizlerine güvenmektedir (17). Ancak bu ölçüm yöntemlerinin çoğu maliyeti arttırmakla birlikte standardizasyon, doğruluk ve izlenebilirlikten yoksundur (18).

Friedewald denkleminin LDL-K hesaplaması sırasında meydana gelen eksikliklerin daha yaygın olarak bilinir hale gelmesiyle, dünyanın dört bir yanındaki araştırmacılar, ülkelerinin LDL-K hesaplama yaklaşımını tekrar gözden geçirmiştir (17,18,19,20). Friedewald denkleminin yerini almaya çalışan yeni denklemler literatüre girmiştir (17). Amerika Birleşik Devletleri ve diğer ülkelerdeki çok sayıda topluluk LDL-K ölçümünde kullanılan Martin Hopkins denklemini doğrulamıştır (16).

Toplumumuzdaki kardiyovasküler hastalık riski ve dislipidemi sıklığı göz önüne alındığında LDL-K'nın ölçümünün doğru yapılabilmesi ve otomatize sistemlere uyarlanabilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı farklı lipid içerikli bireylerde, LDL-K ölçümü için alternatif referans yöntemlerden biri olan NMR spektroskopisi ile elde edilen LDL-K ve VLDL-K ölçüm sonuçlarını, LDL-K hesaplamasında kullanılan başlıca Friedewald Denklemi olmak üzere literatürdeki diğer güncel alternatif denklemlerden olan Martin Hopkins ve Sampson Denklemi'nin LDL-K ve VLDL-K hesaplama sonuçlarıyla karşılaştırmaktır.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. Lipidler ve Lipoproteinler

Canlı hücrelerde bulunan lipidlerin birçok görevi bulunmaktadır. Yapılarındaki karbon-hidrojen (C-H) bağlarının çokluğundan dolayı zengin enerji kaynağıdır. Hücre membranında bulunur ve hücrelerde önemli yapısal fonksiyon gösterirler. Fosfolipit (FL), TG, kolesterol, ester kolesterol (EK) hücrede bulunan ana lipitlerdir (9).

Yağ asidi C-H bağları içeren ve karboksil grubu (-COOH) ile sonlanan düz bir zincirden oluşur (9,21). Yağ asitleri plazmada serbest halde çok az miktarda bulunmakta olup çoğu albümine non-kovalent bağla bağlıdır (9). Ayrıca plazmadaki yağ asitlerinin %90'dan fazlası ise yağ asidi esterleri halinde (ester kolesterol, triaçilgliserol ve fosfolipit) lipoproteinlerin yapısında bulunmaktadır (9,22). Triaçilgliserol veya FL yapısında bulunan gliserole, yağ asitleri ester bağı ile bağlanır. Triaçilgliserol, gliserole üç yağ asidinin ester bağıyla bağlanmasıyla oluşur. Fosfolipitlerin yapısı TG'ye benzemektedir; ancak gliserol ilk iki pozisyonda yağ asidi ile ester bağı yapmış üçüncü pozisyonda ise yağ asidi yerine FL baş grubu ile bağ yapmıştır (9). Fosfolipit baş grubu hidrofiliktir, fosfat grubu ile ona bağlı bir alkolden oluşur (22). Serin, etanolamin, kolin, inozitol ve gliserol FL yapısındaki alkollerdir (9,23). Fosfolipitler hücre membranının temel yapıtaşlarından biridir (22).

Kolesterol, dört adet halka yapısı içeren siklopentanoperhidrofenantren halkasının üçüncü karbonunda hidroksil grubu, 17. karbonunda ise hidrokarbon zinciri bulunduran ve yapısı nedeniyle suda çok az çözünen lipittir (23). Kolesterol hücre membranlarının yapısında bulunur ve membran akışkanlığını düzenler. Ayrıca safra asitleri, steroid hormonlar ve D vitamini öncüsüdür (9,22,24).

Lipidler suda çözünmediğinden kanda lipoproteinlerle taşınır (22,25,26). Lipoproteinlerin yapısında lipid ve protein kısım bulunmaktadır (9). Protein kısım apolipoprotein veya apoprotein olarak adlandırılmaktadır. Lipoproteinlerin merkezinde apolar özellik gösteren EK ve TG, yüzeyinde ise serbest kolesterol ve FL'den oluşan tek katmanlı dış tabaka bulunmaktadır (9,22,23).

Apolipoproteinler, lipoproteinlerin yapısal bütünlüğünü ve kanda çözünürlüğünü sağlar, karaciğer ve bağırsakta lipoprotein sentezi için gereklidir ve lipoproteinlerin

metabolizmasında görev alan enzimleri düzenler, ayrıca lipoproteinlerin hücre içine alınmasında ligand görevi görürler (23,25).

Plazma lipoproteinleri sınıflandırılırken boyut, lipit içeriği ve apolipoproteinleri dikkate alınır (25). Lipoprotein partikülünün boyutu arttıkça iç kısmın da hacmi arttığından yapısında daha fazla TG ve EK bulundurmaya başlar. Ayrıca boyutu büyük olan lipoprotein partiküllerinin lipid içeriği proteine kıyasla daha fazladır; bu nedenle dansiteleri daha azdır (9).

Lipoproteinlerin isimlendirilmesi yapılırken dansiteleri dikkate alınmıştır (23). Dansitelerine göre sınıflandırıldığında şilomikron, çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (VLDL), LDL, ara dansiteli lipoprotein (IDL) ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) olmak üzere beş ana lipoprotein çeşidi bulunmaktadır (23,26).

2.1.1. Şilomikronlar (ŞM)

Şilomikronlar bağırsak hücreleri tarafından sentezlenmektedir (22,27) ve lipoproteinler arasında boyutu en büyük olanıdır (22). Partikül çapları 75-1200 nm arasında olup dansiteleri ise $<0,930$ g/mL'dir (23). Şilomikron yapısının yaklaşık %99'unu lipidler oluştururken %2'den azını ise proteinler oluşturur (28,29). Lipoproteinler arasında en düşük dansiteye, en yüksek lipid/protein oranına sahip olan gruptur (22). ŞM yapısında bulunan lipidlerin %85-92'sini TG oluşturur (28). Diyetle alınan TG, kolesterol ve yağda çözünen vitaminler ŞM'lerle periferik dokulara ve karaciğere taşınır (22,25). Yapısında apoproteinlerden A-I, A-II, A-IV, A-V, B-48, C-II, C-III ve E vardır (25). Bunlardan Apo B-48, ŞM sentezi için gereklidir ve ŞM'ye özgüdür (22).

TG, kolesterol ve FL sentezi düz endoplazmik retikulumda gerçekleşirken apolipoproteinlerin sentezi granüllü endoplazmik retikulumdadır. Apolipoprotein ve lipidlerin bir araya gelip ŞM'leri oluşturmada mikrozomal triaçilgliserol transfer proteini (MTTP) görev alır. Mikrozomal triaçilgliserol transfer proteini, Apo B-48 yapısına lipidleri aktararak ŞM'leri oluşturur. Bu işlem ER'den golgiye geçmeden önce gerçekleşir. Daha sonra golgideki salgılayıcı veziküller içinde paketlenir ve bu veziküller plazma membranı ile birleşerek ŞM salınımı gerçekleşir. Salınan ŞM'ler lenfatik sistem aracılığıyla kana geçerler (22). ŞM'lerin yapısına sistemik dolaşıma geçmeden Apo A-IV katılmaktadır (23). Bağırsak mukoza hücreleri tarafından salınan ŞM partikülleri olgunlaşmamış ŞM olarak adlandırılmaktadır. Dolaşımda ise HDL'den Apo C-II ve Apo E'yi alarak olgun ŞM haline gelir (22). ŞM, dolaşımda ekstrahepatik dokular arasında özellikle kas ve yağ dokusunun

kapiller endotelial yüzeyinde bulunan lipoprotein lipaz (LPL) enzimiyle etkileşime girer ve yapısında bulunan Apo C-II tarafından bu enzim aktive edilir. LPL, ŞM'lerin yapısındaki TG'leri parçalayarak serbest yağ asidi ve gliserol açığa çıkarır. Yağ asidi dokulara alınarak metabolize edilirken gliserol ise karaciğere giderek orada metabolize olur. TG içerikleri azalıp boyutları küçülen şilomikronların yapısındaki Apo A ve Apo C'ye ilgisi azalır. Böylece bu apolipoproteinler HDL'nin yapısına geri döner. Geriye kalan yapının adı ŞM kalıntısıdır. ŞM kalıntısı Apo E üzerinden karaciğer üzerindeki Apo E'yi tanıyan LRP reseptörlerine bağlanarak endositoz ile karaciğer hücrelerinin içine alınır ve burada yıkıma uğrar (23).

2.1.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)

VLDL'nin sentezi karaciğerde gerçekleşmektedir. Endojen lipidlerin dokulara taşınmasında görevlidir (9). Çapı 30-80 nm, dansitesi ise 0.930-1.006 g/mL arasındadır. Elektroforezde göç yeri pre-β bandıdır (23). VLDL yapısında %90-93 oranında lipid, %7-10 oranında ise protein bulundurur (29). Yapısındaki lipidlerin %55-80'i TG, %5-15'i kolesterol ve %10-20'si FL'dir (23). Yapısında protein olarak Apolipoprotein B-100, C-I, C-II, C-III ve E içermektedir; bunlardan Apo B-100 VLDL sentezi için gerekli integral apoproteindir ve her VLDL partikülünde bulunur (25). VLDL partikülleri ŞM'lerde olduğu gibi yapısına Apo C-II ve E'yi dolaşımda HDL'den almaktadır (23).

Bağırsak hücresindeki ŞM sentezinde rol alan mekanizma benzer şekilde karaciğer hücrelerinde VLDL için gerçekleşmektedir. VLDL'nin esas apolipoproteini olan Apo B-100'ün ribozomlarda sentezi gerçekleştikten sonra endoplazmik retikulumda yapısına MTTP aracılığıyla endojen lipidler aktarılır. Golgide ise VLDL'ye TG ve apolipoproteinler eklenmeye devam ederek VLDL oluşur ve buradan sistemik dolaşıma salgılanır. Ekstrahepatik dokularda kapiller endotelial yüzeyde bulunan LPL, VLDL yapısındaki Apo C-II ile aktifleştirilir ve yapısındaki TG'ler parçalanmaya başlar. Parçalanma sonucunda açığa çıkan yağ asitleri dokulara, gliserol ise karaciğere alınarak metabolize edilir (23).

İçeriğindeki TG miktarı azalan ve boyutu bir miktar küçülen VLDL'nin Apo C'ye olan ilgisi azalır. Apo C, HDL'nin yapısına geri döner. Geride kalan bu moleküle IDL ya da VLDL kalıntı lipoproteini denir (23).

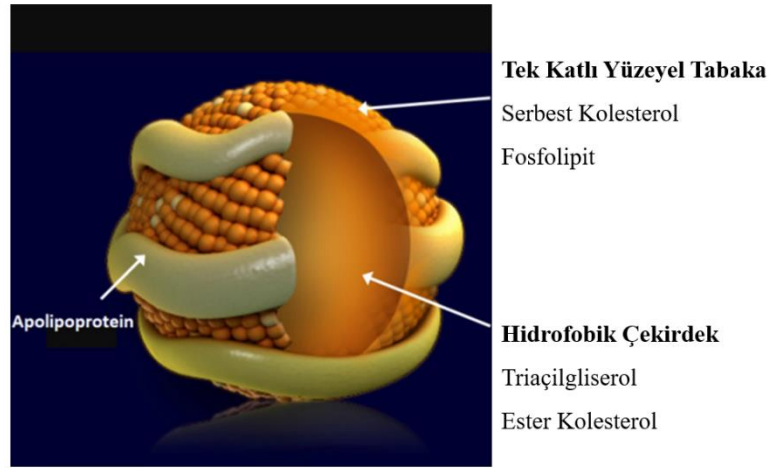
2.1.3. Ara Dansiteli Lipoproteinler (IDL)

IDL partikülünün çapı 25-35 nm olup dansitesi 1.006-1.019 g/mL'dir. Elektroforezde göç yeri yavaş pre-β bandıdır (23). Yapısında %89 oranında lipid, %11 oranında protein

bulundurur (29). Yapısındaki lipid içeriğinin yaklaşık %20-50'sini TG, %20-40'ını kolesterol ve %15-25'i FL'dir (23). Yapısının protein kısmında Apo B-100 ve Apo E içerir. Apo E ile LDL ve LRP reseptörlerine bağlanarak ŞM kalıntılarına benzer şekilde karaciğer tarafından dolaşımdan uzaklaştırılır. ŞM kalıntılarının büyük bir kısmı karaciğer tarafından dolaşımdan uzaklaştırılırken (25), IDL partiküllerinin yaklaşık yarısı uzaklaştırılabilir (23,25). IDL partiküllerindeki TG hepatik lipaz tarafından hidrolize edilir ve bu durum yapısındaki TG içeriğini giderek azaltır (25). Ayrıca dolaşımda geriye kalan IDL'nin yapısındaki Apo E, HDL'ye aktararak LDL oluşur (23).

2.1.4. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL)

LDL'nin esas apoproteini Apo B-100'dür (9). Kandaki total kolesterolün yaklaşık %60-70'i LDL ile taşınır (23). Yapısında yaklaşık %79 oranında lipid, %21 oranında ise protein bulundurmaktadır (29). Yapısında bulundurduğu lipid içeriğinin %40-50 sini kolesterol, %20-25'ini FL ve %5-15'ini TG oluşturur. Dansitesi 1.019-1.063 g/mL, partikül çapı ise 18-25 nm'dir. Elektroforezde göç yeri β bandıdır (23). LDL'nin partikül yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir (30).



Şekil 1. LDL partikülünün yapısı

2.1.4.1. LDL Metabolizması

Vücuttaki günlük kolesterol ihtiyacının yarısından fazlasının kaynağı endojen sentezdir, geri kalanı ise diyetle dışardan alınmaktadır. İnsanlarda kolesterolün yaklaşık %10'u karaciğer ve bağırsakta sentezlenir. Lipoproteinler arasında en fazla oranda kolesterol

içeren LDL' dir (29). LDL kan kolesterolünün yarısından fazlasını taşımaktadır ve plazma yarı ömrü ortalama 2-3 gündür (23). Diyet ile alınan ester kolesterolün hidrolizi ile serbest kolesterol oluşur ve diğer lipitlerle birlikte bağırsaklardan emilir. Serbest kolesterol emildikten sonra %80-90' ı bağırsak mukozasında uzun zincirli yağ asitleri ile esterleşir. Sentezlenen ve diyetle alınan kolesterol ŞM yapısına katılır. Şilomikron yapısında bulundurduğu kolesterolün %95'ini ŞM kalıntıları halinde karaciğere iletir. Karaciğer üzerindeki fazla kolesterol VLDL yapısına katılır. VLDL dolaşıma salgılanarak sırayla IDL ve LDL'ye dönüşür (29). LDL'nin %70-75'i LDL reseptörleri yoluyla karaciğere alınır. Geri kalanı ise ekstrahepatik dokulara LDL reseptör aracılı endositoz yoluyla alınarak yıkılır (23).

National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III) LDL-K sınıflandırması (31)

<100 mg/dL = Optimal
100-129 mg/dL = Optimal üzeri
130-159 mg/dL = Sınırdan yüksek
160-189 mg/dL = Yüksek
>190 mg/dL = Çok yüksek

NCEP ATP III risk kategorilerine göre LDL-K hedefleri (31)

Koroner Kalp Hastalığı (KKH) veya KKH eşdeğeri: LDL-K <100 mg/dL

0-1 risk faktörü * = LDL-K <160 mg/dL

2 veya daha fazla risk faktörü * = LDL-K <130 mg/dL

2.1.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)

HDL boyutu en küçük ve dansitesi en yüksek olan lipoprotein partikülüdür. Başlıca karaciğer ve bağırsakta sentezlenir. Heterojen bir yapıya sahiptir. Dansite farklılığına göre HDL₂ ve HDL₃ olmak üzere iki küresel HDL partikülü vardır (9). Bunlardan HDL₂'nin çapı 10-20 nm, dansitesi 1.063-1.125 g/mL, HDL₃'ün ise çapı 5-10 nm, dansitesi 1.125-1.210 g/mL'dir. HDL₂ yapısında %33 protein %67 lipid içerirken, HDL₃ %57 protein %43 lipid içermektedir (29). HDL'nin elektroforezde göç yeri alfa bandıdır (23). Yapısında bulunan apoproteinlerin %70'ini Apo A-I oluşturmaktadır. Ayrıca HDL partikülleri dolaşımda apoproteinler için bir depo olarak görev görmektedir (22).

HDL'nin esas görevinden birisi ters kolesterol taşınımı ile periferik hücrelerdeki kolesterol dengesini sağlamaktır. HDL hücrelerde bulunan fazla kolesterol miktarının düzenlenmesini birkaç yol ile gerçekleştirir. Serbest kolesterolün hücre dışı sıvıda HDL'ye

bağlanması ardından HDL partikülünde bulunan lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) enzimiyle EK'ya dönüştürülerek lipoproteinin içinde kalır. Bu enzim Apo AI ile aktive edilir. Lesitin kolesterol açıl transferaz enzimi tarafından EK oluşumunun gerçekleşmesi HDL'nin hücre membranlarından daha fazla serbest kolesterol almasını sağlamaktadır. HDL, önce HDL₃'e sonrasında ŞM ve VLDL'den Apo C-I, C-II, C-III, fosfolipit ve Apo E'yi yapısına alarak HDL₂'ye dönüşmektedir. HDL₂ çöpçü (scavenger) reseptör tip B1 (SR-B1) ve diğer mevcut reseptörler aracılığıyla karaciğere kolesterolü direkt olarak verebilir veya EK'larını karaciğere ulaştırması için ŞM ve VLDL kalıntılarına aktarabilir. HDL'deki kolesterolün yaklaşık yarısı ise önce kolesterol ester transfer protein (CETP) ile LDL'ye aktarılır ve karaciğere LDL reseptör yoluyla alınır. Karaciğere ulaşan kolesterol ise ya direkt olarak ya da safra asitlerine dönüştürülerek safraya atılır (9).

2.1.6. Diğer Lipoprotein Fraksiyonları

Lipoprotein (a): Lp (a) partikülleri, Apo B-100'e Apo (a)'nın disülfid bağıyla bağlanmasıyla oluşan LDL benzeri partiküllerdir. Lp (a) yapısında bulundurduğu Apo (a) kısmındaki tekrarlayan peptid dizilerinin sayısındaki farklılıktan dolayı boyut ve dansite bakımından heterojenite göstermektedir (9). Lp (a)'nın karaciğerde sentezlendiği bilinmektedir (32). Dansitesi 1.05-1.12 g/mL, çapı 25 nm olup elektroforezde göç yeri pre-β bandıdır (23). LDL'ye kıyasla yapısında daha çok lipid bulundurur bu nedenle boyutu daha büyüktür (9).

Plazma lipoprotein (a) düzeyleri bireyler arasında farklılık göstermektedir (9). Lp (a)'nın düzeylerindeki bu farklılıktan otozomal dominant kalıtım sorumludur. Plazmada bulunduğu düzeyler ile KKH, serebrovasküler hastalık riski ilişkilidir (32).

Yüksek Lp (a) düzeyleri (>30 mg/dL) koroner kalp hastalığı riskini artırır. Lp (a) yapısındaki tekrarlayan protein dizileri plazminojen ile çok benzerlik göstermektedir. Plazminojen ise fibrinin yıkımı yoluyla pıhtının parçalanmasını sağlayan plazminin öncüsüdür. Lp (a)'nın endotel ve fibrinde bulunan bağlanma bölgeleri için plazminojenle yarıştığı böylece pıhtılaşmayı tetiklediği düşünülmektedir. Lp (a), ölçümündeki zorluklar, bireyler arası değişkenliğin fazla olması ve kandaki seviyelerini düşürmede etkili spesifik tedavilerinin yetersiz olması sebebiyle kullanımı sınırlıdır. KKH için güçlü aile hikayesi olan bireylerde özellikle LDL kolesterol yüksekliği gibi bilinen risk faktörü yoksa Lp (a) partikül varlığı akılda tutulmalıdır (9).

2.2. Ateroskleroz ve LDL

2.2.1. Tanım

Ateroskleroz, arterlerin duvar kalınlığının arttığı ve esnekliğini kaybettiği; yapısında lipid, fibroblast, makrofaj, düz kas hücreleri bulunan, arterlerin intima tabakasında plak oluşumu yaparak sonrasında ilerleyici darlığa, tıkanmalara sebebiyet veren ve arterlerin antitrombotik özelliklerinde bozulmaya yol açan kronik inflamatuvar bir hastalıktır (23). Multifaktöriyel bir hastalıktır. Hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabet, enfeksiyonlar ve sigara gibi birçok etken risk faktörü olarak tanımlanmıştır (33). Yüksek LDL kolesterol düzeyleri ateroskleroz gelişiminde en önemli risk faktörüdür (34). Yapılan birçok randomize klinik çalışmalar ile LDL kolesterolün ateroskleroz etiyolojisindeki rolü kesin olarak doğrulanmıştır (35).

2.2.2. Ateroskleroz Patogenezi'nde Hipotezler

Aterogenez gelişimini açıklamak için zaman içerisinde ileri sürülen hipotezlerden en kabul görenleri şu şekildedir:

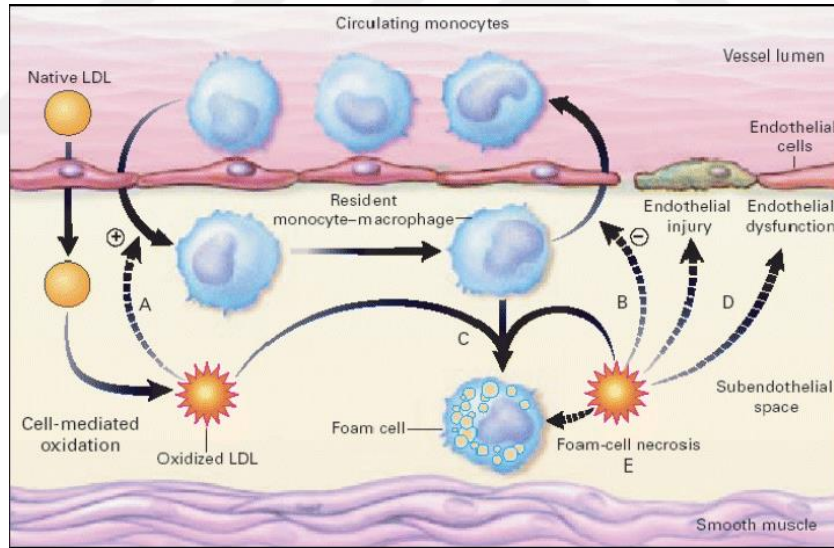
1-Hasar (İnjury)'a Karşı Yanıt Hipotezi: Bu hipoteze göre ateroskleroz, endotel hasarına karşı arter duvarındaki kronik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanır. Hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara, hemodinamik faktörler, toksinler, virüsler, immün reaksiyonlar endotelin kronik hasarına neden olmaktadır. Bu faktörlerin etkisiyle endotel permeabilitesi, lökosit, monosit, trombosit gibi hücrelerin adezyonu ve tromboza yatkınlık artar. Kronik hiperlipidemi varlığında özellikle yüksek kolesterol içeriğine sahip olan LDL, endotelial permeabilitenin ve transsitozisin arttığı bölgenin intima tabakasında toplanır. Lezyon içinde bulunan LDL okside olur. Kandaki monositler intimaya göç ederek makrofajlara dönüşür, okside LDL makrofajlar tarafından çöpçü reseptörler aracılığıyla alınır ve köpük hücreleri oluşur. Okside LDL, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımı uyarır ve lezyonlara daha fazla monosit toplanmasına neden olur. Ayrıca aktive olmuş trombosit, makrofaj ve endotel hücrelerinden salınan sitokinler düz kas hücrelerinin media tabakasından intima tabakasına göçünü sağlar. İntima tabakasında düz kas hücreleri proliferer olur ve ekstrasellüler matriks salgılanması sonucu kollajen ve proteoglikan birikimi gerçekleşir. Bu durum aterosklerotik lezyonun ilerleyici özellik göstermesine sebep olur (36).

2- LDL Oksidasyon Hipotezi: Bu hipoteze göre, LDL'nin oksidasyonu aterosklerozun erken döneminde gerçekleşir. Aslında aterosklerozun zeminini oluşturmaktadır. Okside

LDL'nin (oxLDL), in vitro köpük hücre oluşumunu tetiklediği gözlemlenmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen kanıtlar hipoteze destek verir niteliktedir. Okside LDL in-vivo olarak inflamatuvar sitokin, kemokin ve adezyon moleküllerini salgılatır. Endotel hücreleri ve monositleri uyarır. Daha sonra makrofajlardan köpük hücreye oluşumuna ve aterosklerotik lezyonların ilerlemesine kadar birçok basamakta proaterojenik etki gösterir (37).

Okside LDL, kemotaksisini uyarıp subendotelyal alana geçişine neden olduğu monositlerin bu alandan çıkışını da engelleyerek köpük hücre oluşumunu tetiklemiş olur. Oluşan köpük hücreleri okside LDL birikimiyle nekrotik hale gelir (38).

Dolaşımdaki okside LDL miktarı, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık riskinin belirlenmesinde önemli bir biyobelirteçtir (37,39). Ayrıca artan okside LDL düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklar için prognostik bir gösterge olduğu da belirtilmektedir (39). Aterosklerozun oksidasyon hipotezi Şekil 2' de gösterilmiştir (38).



Şekil 2. Aterosklerozun oksidatif modifikasyon hipotezi.

LDL Oksitlenmiş Bileşenleri: LDL oksidasyonunda iki aşama olduğu düşünülmektedir. İlk aşama, lezyon alanında monosit birikimi gerçekleşmeden öncedir. LDL'nin yapısında bulunan Apo B'de kısmi değişiklik vardır ve süreç LDL yapısında bulunan lipidlerin oksitlenmesiyle sonuçlanır. İkinci aşama, monositlerin lezyon alanına toplanması, makrofaja dönüşmesi ve oksidatif etkinin artmasıyla başlar. LDL yapısında bulunan lipidler daha fazla okside olur. LDL'nin yapısındaki protein kısımda farklılaşma

meydana gelir. Bu durum LDL reseptörleri tarafından tanınmayı azaltıp çöpçü reseptörler ve/veya okside LDL reseptörleri tarafından tanınmayı artırır. Reseptör tarafından tanınırlığın değişmesi, hücre içi kolesterol düzeyi ile kontrolü sağlanamayan reseptörler aracılığıyla LDL'nin hücre içine alınmasına ve burada fazla miktarda kolesterol birikmesine neden olur. Kolesterol biriken bu hücreler köpüklü bir sitoplazmaya sahiptirler ve köpük hücreleri olarak adlandırılırlar; bu hücreler arteriyel yağlı çizgilerdeki ayırt edici özelliştir (40).

LDL'nin oksidasyonu hücre dışı ve hücre içi alanda meydana gelen bir süreçtir. Bu oksidatif süreç sonunda oluşan modifiye LDL partikülleri kemotaktik, sitotoksik ve immünojenik etki gösterir (41).

2.2.3. Patogenez

Hiperkolesterolemi, ateroskleroz oluşumunda etkisi olan önemli bir risk faktörüdür. Dolayısıyla tedavi hedefinde esas alınır (42,43). Hiperkolesterolemide ilk aşamada gerçekleşen olay endotel hücrelerinden ICAM-1 (intersellüler adhesion molecule-1), VCAM-1 (vasküler cell adhesion molecule-1) gibi adezyon molekülleri ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1)'in salgılanmasıdır. Böylece monositler endotel tabakasını aşarak subendotelyal alana geçerler. Yapılan çalışmalarda monosit/makrofaj ve T-lenfositlerin endotel hücreleri ve düz kas hücreleri ile etkileşimi sonucu aterosklerotik lezyonların oluştuğu görülmüştür. Arter duvarında inflamasyon gelişimini başlatan; oxLDL, mekanik hasar, immünolojik, toksik veya enfeksiyöz etkenler (Chlamydia enfeksiyonu, herpes virüsler) olduğu düşünülmektedir. Bu faktörler endotel hücrelerinin yüzey özelliğini değiştirir ve endotel tarafından LDL alımını kolaylaştırır (44). LDL'nin endotelden alındıktan sonra okside olması ateroskleroz gelişim sürecini başlatan asıl etkindir (45). Okside LDL, MCP-1 salgılanmasını uyararak çok sayıda monositin endotel hücre yüzeyine ilerlemesine neden olurken, makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) uyarısıyla da makrofaj oluşumunu artırır ve köpük hücreye dönüşüm gerçekleşir. oxLDL, makrofaj yüzeyinde LDL'nin bağlanamadığı çöpçü reseptörler ve CD 36 reseptörlerine bağlanabilir; ancak bu reseptörler LDL reseptörünün aksine hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından kontrol edilemez. Bundan dolayı subendotelyal tabakada yerleşmiş olan makrofajlar oxLDL'yi düzensiz şekilde içlerine alarak köpük hücrelerini oluşturur (22,44,46,47). Köpük hücreleri TNF α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler üretir (48). Bu sitokinler düz kas hücrelerinin göç etmesinde rol oynar (23). İnflamasyonun

aterosklerotik plağın başlaması ve ilerlemesinde önemli bir yeri vardır (49). T lenfositlerin aterom plağında yer alması ateroskleroz oluşumunda inflamasyonla beraber immün yanıtın da etkili olduğunu göstermektedir. T lenfositlerden salgılanan IFN γ (interferon gama) ve TGF β inflamasyon, düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve intima tabakasına göçü artırır. IFN γ aynı zamanda kolajen sentezini inhibe ederek fibröz kapsülün sağlamlığını da azaltmaktadır. IL-1 glikoprotein yapıda bir sitokin olup monosit, makrofaj, köpük hücresi ve endotel hücresinden salgılanır. Monositlerin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyarır ve düz kas hücre proliferasyonunu artırır. Ayrıca prokoagülan aktivite göstermektedir. Makrofaj, lenfosit, endotel ve düz kas hücrelerinden salgılanan IL-6'da trombositleri aktive ederek prokoagülan etki gösterir. Ayrıca düz kas hücrelerinin çoğalmasını hızlandırır. MCP-1 ve IL-8 birer kemokindir. MCP-1 makrofaj, endotel hücresi ve düz kas hücresinden salgılanırken; IL-8 lezyon alanındaki aktive makrofajlardan salgılanır. MCP-1 ve IL-8 monosit ve T hücrelerinin endotele göç edip tutunmasında rol oynar. IL-8 aynı zamanda düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve intima tabakasına göçünü sağlar. Akut faz reaktanı olan C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, serum amiloid-A aterosklerozla ilişkilidir (23). Ateroskleroz, damardaki kronik inflamatuvar bir durum olduğundan inflamasyonla ilişkili çok sayıda biyobelirtecin ateroskleroz ve kardiyovasküler riskin belirlenmesinde önemli yeri vardır. CRP, kardiyovasküler olaylar için kullanılan etkisi kanıtlanmış inflamatuvar biyobelirteçlerden biridir (50). Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık gelişiminde CRP doğrudan rol oynamaktadır (51). Yapılan çalışmalar, yüksek CRP düzeylerinin ASKVH riskinde artışla ilişkili olduğunu göstermiştir (51,52).

CRP, vasküler endotelin glikokaliksine zarar verir, endotelin-1 (ET-1) düzeyini artırıp nitrik oksit (NO) düzeyini azaltarak endotel disfonksiyonuna neden olur. Böylece endotel proaterojenik etkenlere duyarlı hale gelir. Damar duvarına inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu intima tabakasına göçünü ve ekstraselüler matriks sentezini artırır. Makrofajların LDL'yi hücre içine almasını kolaylaştırarak köpük hücre oluşumunu tetikler. Endotel hücreleri ve makrofajlardaki metalloproteinazları aktive eder, aterosklerotik plakta yeniden şekillenme meydana getirir, plağın stabilitesini azaltır ve plakta rüptür riski artar. CRP ayrıca endotel hücreleri, mononükleer hücreler ve düz kas hücrelerinden doku faktörü salgılanmasını artırılarak trombin oluşumunu hızlandırır, Trombositlerin endotele adezyonunu artırır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1'i uyararak fibrinolitik etkiyi azaltır. Tüm bu etkiler sonucunda tromboza yatkınlık artar. Vasküler hücreleri uyararak reaktif oksijen radikali oluşumunu hızlandırır,

oksidatif stresi artırır. Aterosklerotik lezyonlardaki köpük hücreler proinflamatuvar ortam oluşturur, sitokin ve CRP salgılanmasını uyarır. Salgılanan CRP'nin kendisi de çeşitli sitokinleri (IL-1, IL-2, TNF α) salgılatarak inflamasyonu sürdürür ve bir kısır döngü meydana gelir (53).

Aterosklerotik plaklarda büyümenin ilerlemesiyle unstabil plaklar meydana gelir (23). Unstabil plakların hacminin yaklaşık yarısını geniş lipit çekirdek, inflamatuvar hücreler, düz kas hücreleri ve kolajenden oldukça fakir ince fibröz kapsül oluşturur. Lipid çekirdeğin etrafında bulunan makrofajlardan salgılanan metalloproteinazlar fibröz kapsülde bulunan kolajeni yıkıma uğratar. Aktive olmuş makrofajlardan salgılanan IL-1 β , TNF α ve T lenfositlerden salgılanan IFN- γ birlikte etki göstererek düz kas hücrelerinin ölümüne sebep olur. Buna sekonder olarak da ekstraselüler matriks yapımı azalır. Tüm bu olaylar neticesinde fibröz kapsül zayıflayarak yırtılır. Hasarlı fibröz başlığa sahip plak prokoagülan maddeler, kanın hücresel elemanları ve pıhtılaşma faktörleriyle karşılaştığında ise trombüs oluşur (46).

Ateroskleroz intima tabakasına yerleşir ve aterosklerotik lezyonlar üç aşamada görülür:

Yağlı çizgilenme: Köpük hücrelerinin intima tabakasında birikmesiyle gerçekleşir. Erken yaşlarda gözlenebilen aterosklerotik lezyondur. Damar lümeninde kan akımı yönünde sarı çizgiler şeklinde görülürler. Kan LDL düzeyi azalınca lezyona giren lipid miktarı azalırken lezyondan çıkan lipid miktarı artar, böylece yağlı çizgilenmede gerileme görülür. Tersine bir durum olursa da lezyon ilerleme gösterir (46).

Fibröz plak: Lümene doğru büyüyen beyaz renkli lezyonlardır. İçerisinde lipit çekirdek, düz kas hücreleri, makrofajlar, köpük hücreleri, T lenfositler ve ekstraselüler matriks elemanları bulunur. Olgunlaşan aterom plağındaki lipit çekirdek fibröz başlık ile örtülüdür. Fibröz başlığı medya tabakasından intima tabakasına göç eden düz kas hücreleri ve bu hücrelerin ürettikleri bağ dokusu elemanları (kolajen, elastin, proteoglikan ve glikozaminoglikanlar) oluşturur. Fibröz başlıkta düz kas hücreleri tarafından ekstraselüler matriks yapımı sürdürülürken, bir taraftan da makrofajlarda bulunan proteinazlarla bağ dokusu yıkımı devam eder. Bu yapım ve yıkım birçok sitokinin kontrolündedir. Fibröz plaklar damar lümenini ciddi bir şekilde daraltsalar dahi sağlam kaldıkları sürece önemli klinik durumlara yol açmazlar. Plaktaki fibröz başlık ne kadar kalınsa plak o kadar stabildir.

Lipitler ve inflammatuar hücrelerden zengin ve ince fibröz kapsülle çevrili plaklar ise hasara uğrama riski yüksek plaklardır (46).

Komplike lezyonlar: Hematom, hemoraji ya da trombüs içeren plaklardır. Komplike olmaya yatkın plaklara kararsız (unstable) plak denir. Fibröz başlığı hasara uğramış plak prokoagülan maddeler, kandaki hücresel elemanlar ve pıhtılaşma faktörleri ile etkileşerek trombüs oluşumunu tetikler. Plak rüptürü ve trombüs oluşumu akut koroner sendrom gibi klinik olayların meydana gelmesine neden olur. Aterom plağın rüptüre olması için damar lümenini ciddi şekilde daraltması gerekmez. Lümeni önemli miktarda daraltmayan unstabil plaklar da rüptüre olabilir (46).

2.2.4. Ateroskleroz Risk Faktörleri

Majör Risk Faktörleri (54)

Değiştirilebilir Risk Faktörleri

- ✓ Dislipidemi
- ✓ Hiperkolesterolemi
- ✓ HDL kolesterol düşüklüğü (<40 mg/dL) (55).
- ✓ Hipertansiyon
- ✓ Sigara
- ✓ Diabetes Mellitus

Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

- ✓ Yaş (Erkek ≥ 45 , Kadın ≥ 55) (55).
- ✓ Cinsiyet
- ✓ Genetik

Minör Risk Faktörleri (54).

- ✓ Hipertrigliseridemi.
- ✓ Fiziksel aktivite azlığı.
- ✓ Obezite.
- ✓ Stresli kişilik yapısı.

Yeni Risk Faktörleri (54).

- ✓ Koagulasyon eğilimini arttıran faktörler
Fibrinojen.

Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1).

Hiperhomosisteinemi.

Lipoprotein (a) yüksekliği.

F-VII, F-VIII, V-WF yüksekliği.

✓ İnflamasyon göstergeleri (fibrinojen, CRP, Cu, Fe, IL-6, TNF- α gibi)

2.2.5. Toplam Kardiyovasküler Risk Tahmini LDL-K'nın Tedavide Önemi

Bir bireyde belirli bir zaman diliminde aterosklerotik kardiyovasküler olay gelişme olasılığı kardiyovasküler risk anlamına gelmektedir. Bu riskin tahmin edilmesinde önlenebilen ve önlenemeyen risk faktörlerinin birlikte etkisi ise toplam kardiyovasküler hastalık riskini ifade eder (56,57).

Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığın önlenmesiyle ilgili kılavuzlar toplam KVH riskin değerlendirilmesini önermektedir. Çoğu kılavuz bir risk değerlendirme sistemi kullanmaktadır. Avrupa kılavuzları kardiyovasküler hastalıkların önlenmesine ilişkin klinik uygulamada SCORE sisteminin kullanılmasını önermektedir. Böylece kardiyovasküler hastalık açısından yüksek risk taşıyan toplumlarda 10 yıllık ölümcül kardiyovasküler hastalık risk tahmini yapılabilmektedir. Türkiye yüksek riskli ülkeler (KVH'ya bağlı mortalite oranı $\geq 150/100000$) arasında olduğu için ESC ve EAS kılavuzlarında bulunan SCORE risk hesaplama sistemini kullanmaktadır (57).

LDL-K, ASKVH önlenmesinde önemli bir hedeftir (5). NCEP kılavuzunda da belirtildiği gibi tedavi kararlarının temelini oluşturur (9). Tedavi kararı verilirken ASKVH risk hesaplaması yapılmasa dahi belirli bir LDL-K hedef değeri (≥ 190 mg/dL) esas alınır. ASKVH risk sınıflandırması yapıldığında ise risk gruplarına göre belirlenmiş hedef değerlere dikkat edilir veya LDL-K düzeyinin en az %50 oranında azaltılması planlanır (5,8). Bu yüzden LDL-K düzeylerinin doğru ölçümü kritik öneme sahiptir (8,9).

Toplam kardiyovasküler risk sınıflarına göre LDL-K düzeylerinde hedef yaklaşım şekilleri Tablo 1'de belirtilmiştir (57).

Tablo 1. Toplam kardiyovasküler risk ve LDL kolesterol düzeylerine göre yaklaşım şekilleri

10 yıllık ölümcül ASKVH riski		Serum LDL Kolesterol Düzeyi (mg/dL)						
		<55	56-59	70-99	100-115	116-189	≥ 190	
PRİMER KORUMA	<%1 Düşük Riskli	Yaşam tarzı önerileri					Yaşam tarzı önerileri. Kontrol edilemezse ilaç düşünülür	Yaşam tarzı önerileriyle beraber ilaç başlanır
	%1-4 Orta Riskli	Yaşam tarzı önerileri				Yaşam tarzı önerileri. Kontrol edilemezse ilaç düşünülür	Yaşam tarzı önerileriyle beraber ilaç başlanır	
	%5-9 Yüksek Risk	Yaşam tarzı önerileri		Yaşam tarzı önerileri. Kontrol edilemezse ilaç düşünülür	Yaşam tarzı önerileriyle beraber ilaç başlanır			
	≥ %10 Çok Yüksek Risk	Yaşam tarzı önerileri	Yaşam tarzı önerileri. Kontrol edilemezse ilaç düşünülür	Yaşam tarzı önerileriyle beraber ilaç başlanır				
SEKONDER KORUMA	Çok Yüksek Risk	Yaşam tarzı önerileri. Kontrol edilemezse ilaç düşünülür	Yaşam tarzı önerileriyle beraber ilaç başlanır					

2.3. LDL-K Ölçüm Yöntemleri

2.3.1. Elektroforez

Elektroforezle ayırım lipoproteinlerin toplam yük ve büyüklüklerine göre yapılır (9). Ayırımı yapılacak maddede olması gereken temel özellik yükü olmasıdır; ancak yük dışında ağırlığı da elektroforez üzerindeki hareketi etkiler. Elektroforez için elektriksel alan, yüklü parçacık ve hareketin gerçekleşeceği ortam olması gerekir. Daha öncelerde destek ortamı olarak nişasta sık kullanılıyordu. Günümüzde ise klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan destek ortamları agaroz jel, selüloz asetat plak, poliakrilamid jeldir (58).

Lipoproteinler, yapısında bulunan proteinlerden kaynaklanan yükten dolayı elektroforezde anoda doğru ilerler. İçerdikleri elektriksel yüke, molekül ağırlıklarına ve sisteme uygulanan elektrik akım şiddetine göre farklı mesafelere göç edip farklı kalınlıklarda bantlar oluştururlar. Böylece birbirlerinden ayrılırlar (59). Oluşan bu bantlar Sudan Red 7B, Oil Red O, Sudan Black B gibi boyalarla boyanır ve dansitometride okunur. Böylece moleküllerin yüzdeleri ve miktarları belirlenir (58,59).

Lipoproteinlerin lipofilik boyalarla esas boyanan kısımları TG'lerin yapısında bulunan ester bağları ve ester kolesteroldür. Fosfolipitler ve serbest kolesterol ise boyayı almaz. Lipofilik boyalar belirli bir lipid sınıfına spesifite göstermediğinden, elektroforez kantitatif bir yöntem olarak kullanılamaz (60).

2.3.2. Ultrasantrifugasyon

1950'li yıllarda kullanılmaya başlayan ultrasantrifugasyonun farklı çeşitleri bulunmaktadır (60). Sodyum bromür (NaBr) veya potasyum bromür (KBr) gibi tuzlarla örnek yoğunluğu ayarlandıktan sonra lipoproteinlerde yoğunluk farkına göre ayırım yapılır. 1.006 kg/L dansitede ultrasantrifugasyona tabi tutulur (61). 109000 x g (39000 rpm)'de 18 saat boyunca ultrasantrifugasyon yapıldıktan sonra dansitesi 1.006 kg/L'den az olan ve zengin TG içeriğine sahip VLDL ve şilomikron en üst tabakada yüzer ve buradan uzaklaştırılır. LDL, HDL, IDL ve Lp (a) ise infranatanтта kalır, KBr eklenerek bu kez dansite 1.063 kg/L'ye ayarlanır. Ultrasantrifugasyonun tekrarlanmasıyla LDL supernatanтта kalır ve kolesterol içeriği ölçülerek LDL-K düzeyi saptanır (60,61).

Ultrasantrifugasyon, uzun süren dolayısıyla zaman alıcı bir işlemdir. Farklı ekipman ve tecrübeli teknisyen gerektirir. Bu işlem için örnek miktarının da fazla olmasına ihtiyaç vardır. Labil yapıda olan lipoproteinler, yüksek tuz konsantrasyonu ve santrifugal

kuvvetlerden etkilenerek değişime uğrayabilir (61). Bu nedenlerle ultrasantrifugasyon özellikle araştırma laboratuvarlarında kullanılmaktadır (60,61). Ultrasantrifugasyon, referans yöntemin temelini oluşturur ve klasik karşılaştırma yöntemi olarak kabul edilir (61).

2.3.3. β Kantifikasyon

LDL kolesterol miktarının tespiti için geliştirilen ve en sık kullanılan altın standart referans yöntemdir. Beta terimi LDL'nin elektroforezdeki hareketine karşılık gelmektedir (9). β kantifikasyon, ultrasantrifugasyon ve polianyonla çökeltme işlemlerini birleştiren bir yöntemdir (9,55). Örnek 10°C'de 1.006 kg/L dansitede 18 saat boyunca 105.000 x g'de ultrasantrifüj edilir. VLDL, şilomikronlar üst tabakada yüzer ve "tube slicing" ile ayrılır. LDL, HDL, IDL ve Lp (a) ise infranatansta kalır (9,55). İnfranatanstaki Apo B içeren IDL, Lp(a) ve LDL'yi presipitasyona uğratmak için heparin-Mn ²⁺ kullanılır. Sonrasında Total kolesterol ve HDL-K'nın içeriği Abell-Kendall yöntemi kullanılarak ölçülür (60,61). İnfranatanstan ölçülen toplam kolesterol (TK) ile HDL'den ölçülen kolesterolün farkı hesaplanarak LDL-K bulunur (55).

Pahalı bir yöntem olması, yoğun emek gerektirmesi ve yalnızca lipit konusunda uzmanlaşmış laboratuvarlarda yapılabilmesi nedeniyle rutin kullanım için uygun değildir (9).

2.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi

Lipoprotein alt sınıflarının NMR ile spektroskopik analizi lipoproteinlerin fiziksel olarak ayrılmasını gerektirmediğinden, geleneksel yöntemler olan elektroforez veya ultrasantrifugasyondan daha etkilidir. Klinik kullanım açısından esas önemi ise lipoprotein partikülleriyle ilgili ilk kez direkt veri elde edilebilmesidir (62).

NMR yöntemi, lipoprotein miktar tayinini kolesterol veya apolipoproteinlerin ölçümüne dayandırmaz. Farklı büyüklükteki lipoprotein alt sınıflarından yayılan karakteristik sinyalleri esas alarak ölçüm yapar. Her bir lipoprotein alt sınıfından alınan sinyallere ise partikül içinde bulunan lipitlerdeki terminal metil gruplarının toplam sayısı etki eder. Partikül çekirdeğinde bulunan EK ve TG'lerden her biri üç metil grubu, yüzey tabakasında bulunan FL ve serbest kolesterol iki metil grubu katkısında bulunur. Lipoprotein partikülleri içinde bulunan toplam metil grubu sayısı yalnızca partikül çapına bağlıdır. Ester kolesterol ve TG miktarlarındaki kısmi değişiklik, lipitlerin yağ açıl zincirlerinin doymamışlık derecesi, FL bileşeni gibi durumlardan etkilenmez. Her bir lipoprotein alt

sınıfına ait metil gruplarının gönderdiği NMR sinyali lipoproteinlerin konsantrasyonu için direkt bir ölçüdür (62).

NMR ile açlık plazma ölçümü yapılırken lipoproteinlerin on beş alt sınıfına ait sinyal amplitüdüleri oluşur. Partikül çapları, lipid bileşimleri bağımsız olarak ölçülür ve alt sınıflara ayırım yapılır. Oluşan alt sınıflara ait referans veriler partikül konsantrasyon birimi (nmol/L) ya da kolesterol ve triağılglicerol kütle konsantrasyon birimlerine (mg/dL) dönüştürülerek ifade edilir. Aynı zamanda VLDL, LDL ve HDL'nin ortalama partikül boyutları hesaplanır. Klinik kullanımını kolaylaştırmak için NMR ile elde edilen lipoprotein alt sınıflarının bazıları büyük, orta ve küçük VLDL, LDL ve HDL konsantrasyonları oluşturacak şekilde gruplandırılır (62).

2.3.5. LDL Kolesterol Ölçümünde Kullanılan Direkt Yöntemler

Birinci Jenerasyon Yöntemler (Kimyasal presipitasyon yöntemleri)

LDL partikülleri, heparin (pH 5.12'de), polivinilsülfat, spesifik olmayan amfipatik polimerler veya dekstran sülfat gibi belirli reaktiflerle çöktürülür. LDL-K serumdaki total kolesterol ile süpernatanttaki (LDL olmayan) kolesterol arasındaki fark alınarak hesaplanır (60,61).

Presipitasyon yöntemleri kolay ve pratik bir yöntem olan Friedewald hesaplamasının yerini alamamıştır. Bu yöntemin kesinlik, doğruluk veya özgüllük açısından önem arz ettiğine dair yeterli kanıt yoktur. Serbest yağ asitlerinin (> 2 mmol/L) ortamda bulunması ve >400 mg/dL serum TG düzeyleri presipitasyon yöntemlerini olumsuz etkilemektedir (60,61).

İkinci Jenerasyon Yöntemler

İmmunoseparasyon yöntemi ile direkt LDL-K ölçümü 1994 yılında kullanıma girmiştir. Bu yöntemde insan apolipoprotein A-I ve E'ye karşı keçi poliklonal antikoru ile kaplanmış polistiren lateks boncuklar içeren reaktifler kullanılmaktadır (60,61). Bu reaktifler artık dağıtımda değildir (61).

Antikorlar ŞM'ler, HDL, VLDL ve IDL'yi ortamdan uzaklaştırır ve LDL-K'nın direkt olarak ölçülmesini sağlar (60,61).

İmmunoseparasyon yöntemi LDL'ye kısmi olarak spesifiktir, β -kantitatif ölçüm yöntemi ile çoğunlukla uyum sağlamaktadır; ancak hipertrigliseridemik örneklerde kısmen VLDL saptanmıştır. Lp (a)'nın %75'i ölçülebilmüş, IDL kolesterol ise saptanamamıştır. Bu

durumlar immunoseparasyon yöntemi ile β -kantitatif ölçüm arasındaki farkı oluşturmaktadır (60,61).

Üçüncü Jenerasyon Yöntemler (Homojen Yöntemler)

LDL tayini için yeni nesil homojen yöntemlerin kullanılmasına 1998 yılında Japonya'da başlanmıştır. LDL ölçümünde spesifiteyi arttırmak için LDL dışındaki lipoprotein sınıflarının bloke edilmesini veya solübilizasyonunu sağlayan deterjan ve kimyasal ajanlar kullanılır ve LDL düzeyi enzimatik olarak ölçülür (60,61).

Homojen LDL ölçüm yöntemlerinin bir avantajı otomasyon özelliğinin olmasıdır. Diğer avantajları ise iyi bir zamanlamaya sahip olması ve sıcaklığın kontrol edilebiliyor olmasıdır. Ayrıca otomatik pipetleme ile presizyon artmaktadır (60,61). Homojen yöntemler, analitik performansı iyileştirme ve NCEP Uzman Panelinin önerilerini karşılama potansiyeline sahiptir. Hesaplama yöntemlerinin yerini alabilmek için performans ve maliyet bakımından avantaja sahip olmalıdırlar (61). Tüm firmalar, klinik kimya analizörlerine kolayca uyarlanabilen iki reaktif içeren reaktif setleri üretmektedir (60,61).

Ticari olarak kullanılabilir hale gelmiş beş homojen yöntem ve ölçüm prensipleri şu şekilde özetlenmiştir (60,61):

Kyowa Medex

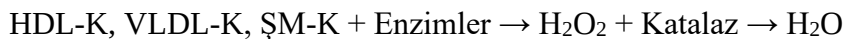
- HDL-K, VLDL-K ve ŞM'ler surfaktanlarla bloke edilir.
- LDL-K enzimler ve surfaktanlar ile solubilize edilir $\rightarrow$ Kolesterol + H_2O_2
- $2 H_2O_2 + 4-AA + HSDA + Enzim \rightarrow$ renkli ürün

Daichi

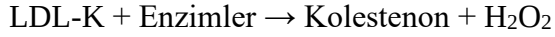
- Surfaktan 1 + Enzimler sadece HDL-K, VLDL-K ve ŞM-K ile reaksiyona girerler.
- LDL dışı kolesterolden oluşan peroksidler, peroksidaz ile reaksiyona girer $\rightarrow$ renksiz ürün oluşur.
- LDL-K + Surfaktan 2 + coupler + Enzimler $\rightarrow$ Renkli ürün

Wako

- LDL-K + Koruyucu reaktif LDL'yi enzimatik reaksiyonlardan korur.

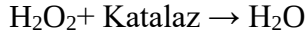


- LDL-koruyucu reaktif + Deproteksiyon Yapan Reaktif $\rightarrow$ LDL

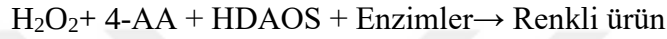
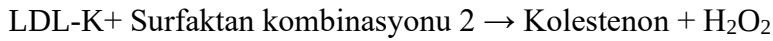


Denka Seiken

- LDL dışı lipoprotein fraksiyonları + Surfaktan Kombinasyonu 1 + Enzimler $\rightarrow$ Kolestenon + H_2O_2



- Katalaz + Azid $\rightarrow$ İnhibisyon



International Reagents Corporation

- LDL + Calixarene $\rightarrow$ LDL-Calixarene solubl kompleksi



- LDL-K + β -NAD + Enzimler (CE2) $\rightarrow$ Kolestenon hidrazon + β -NADH

AA: 4-aminoantipirin, CE: Kolesterol Esteraz, HSDA: N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5 dimetoksianilin, sodyum tuzu, HDAOS: N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5-dimetoksianilin.

2.3.6. LDL Kolesterol Ölçümünde Kullanılan İndirekt Hesaplama Yöntemleri

LDL-K ölçümünde indirekt yöntem olarak kullanılan denklemler hem düşük maliyetlidir hem de kullanımı kolaydır. En yaygın kullanılan Friedewald denklemidir (9,63). LDL-K hesaplamada önerilen yeni nesil denklemlerden en güçlü ve kullanışlı olduğu görülenler Martin Hopkins ve Sampson denklemleridir (11).

Hesaplamalı LDL-K ölçümünde kullanılan literatürdeki denklemler Tablo 2'de belirtilmiştir (64).

Tablo 2. Literatür taramasıyla elde edilen LDL-K denklemleri

	Yıl	Formül	Ülke	Örnek Sayısı (n)	LDL-K Ölçüm Yılı	LDL-K Referans Metod
Friedewald	1972	$TK - (HDL-K) - (TG/5)$	Amerika Birleşik Devletleri	448	Belirsiz	β -kantifikasyon
DeLong	1986	$TK - (HDL-K) - (0.16 \times TG)$	Kuzey Amerika	6,610	1972–1975	Ultrasantrifugasyon
Rao	1988	$[(4.7 \times TK) - (4.364 \times HDL-K) - TG] / 4.487$	Kuveyt	196	Belirsiz	β kantifikasyon
Hattori	1998	$(0.94 \times TK) - (0.94 \times HDL-K) - (0.19 \times TG)$	Japonya	2,179	1992–1996	Ultrasantrifugasyon
Puavilai	2004	$TK - (HDL-K) - (TG/6)$	Tayland	1,079	Rapor Edilmemiş	Rapor Edilmemiş
Anandaraja	2005	$(0.9 \times TK) - [0.9 \times (TG/5)] - 28$	Hindistan	2,008	1998	Direkt Metod (Beckman)
Teerakanchana	2007	$(0.91 \times TK) - (0.634 \times HDL-K) - (0.111 \times TG) - 6.755$	Tayland	1,016	2004–2005	Direkt Metod
Ahmadi	2008	$TK/1.19 + TG/1.9 - (HDL-K / 1.1) - 38$	İran	230	2002–2003	Direkt Metod (Technicon)
Saiedullah	2009	$TK - (TG/5) - (HDL-K) + 15.3 (TG/TK) - 2.4$	Bangladeş	Belirsiz	Rapor Edilmemiş	Rapor Edilmemiş

	Yıl	Formül	Ülke	Örnek Sayısı (n)	LDL-K Ölçüm Yılı	LDL-K Referans Metod
Chen	2010	$(0.9 \times TK) - (0.9 \times HDL-K) - (0.1 \times TG)$	Çin	2,180	Rapor Edilmemiş	Direkt Metod (Roche)
Vujovic	2010	$TK - (HDL-K) - (TG/6.85)$	Sırbistan	2,053	2007–2008	Direkt Metod (Kyowa Medex)
Cordova	2013	$0.7516 \times (TK - HDL-K)$	Brezilya	10,664	2000–2002	Direkt Metod (Wako)
Martin/Hopkins	2013	$TK - (HDL-K) - (TG / \text{ayarlanabilir faktör})$	Amerika Birleşik Devletleri	1,350, 908	2009–2011	Vertical Auto Profile Ultrasantrifugasyon (Atherotech)
Dansethakul	2015	$(0.9955 \times TK) - (0.9853 \times HDL-K) - (0.1998 \times TG) + 7.1449$	Tayland	1,786	2008	Direkt Metod (Roche)
Lee & Hu	2015	$(TK \times 0.75) - 25$	Çin	21,689	2010–2014	Direkt Metod (Wako)
Rasouli	2017	$(0.75 \times TK) - (0.5 \times HDL-K) - (0.1 \times TG)$	İran	310	Rapor Edilmemiş	Direkt Metod (Pars Azmon Inc)
Orejon,Ricra,Huallapa	2017	$(0.974 \times TK) - (0.160 \times TG) - (0.968 \times HDL-K) + 5.361$	Peru	4,644	2015	Direkt Metod (Siemens)
Ghasemi	2018	$TK - (HDL-K) - (TG/4)$	İran	5,030	2012–2015	Direkt Metod (Pars Azmon Inc)
Ephraim	2018	$TK - (HDL-K) - (TG/4)$	Gana	1,518	2016–2017	Direkt Metod

	Yıl	Formül	Ülke	Örnek Sayısı (n)	LDL-K Ölçüm Yılı	LDL-K Referans Metod
Bauer	2020	$TK - (HDL-K) - (TG/7.98)$	Almanya	3,514	2014–2019	Direkt Metod (Roche)
Molavi	2020	$(0.97 \times TK) - (0.93 \times HDL-K) - (0.19 \times TG)$	İran	3,844	2015	Rapor Edilmemiş
Sampson	2020	$(TK/0.948) - (HDL-K/0.971) - (TG/8.56) + (TG \times Non-HDL-K/2140) - (TG^2/16100) - 9.44$	Amerika Birleşik Devletleri	8,656	1976–1999	β kantifikasyon
Choi	2021	$TK - (0.87 \times HDL-K) - (0.13 \times TG)$	Kore	4,562	2017–2018	Direkt Metod (Roche)

2.3.6.1. Friedewald Denklemi

1972'de LDL-K tahmininde Friedewald formülü geliştirilmiştir. Bu çalışma açık numunelerinde ve 448 sağlıklı bireyde yapılmıştır. Karşılaştırma için referans yöntem olan β - kantifikasyon kullanılmıştır. Ultrasantrifugasyon, β - kantifikasyon ve direkt LDL-K ölçüm yöntemlerine kıyasla az maliyetli olması ve daha kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle dünya çapında klinik uygulama kılavuzlarına girmiş ve yaklaşık yarım asırdır kullanılmaktadır (65).

TK'nın üç ana lipoprotein sınıfı (HDL, LDL ve VLDL) arasında dağılması ve VLDL'nin dolaşımdaki TG'lerin çoğunu taşıyor olmasından dolayı ölçülen toplam TG düzeylerinden VLDL-K'nın tahmin edilmesi Friedewald hesaplama yönteminin prensibini oluşturur (65).

$$VLDL-K = TG/5 \text{ (mg/dL için) veya } TG/2,2 \text{ (mmol/L için)}$$

$$\text{LDL-K} = \text{TK} - (\text{HDL-K}) - (\text{VLDL-K}).$$

Bu yöntem klinik laboratuvarlarda en yaygın kullanılan yöntemdir. β -kantifikasyonun yöntemi gibi Friedewald denklemiyle tahmin edilen LDL-K'da, IDL-K ve Lp (a) konsantrasyonlarını içermektedir (65).

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar Friedewald formülünün kullanılmasını kısıtlayan bazı durumlar ortaya koymuştur. ŞM'lerde TG'ler fazla oranda bulunduğu için serumda ŞM varlığı, VLDL-K'nın olduğundan yüksek hesaplanmasına bunun sonucu olarak LDL-K'nın gerçek değerinin altında hesaplanmasına yol açacaktır. Bu nedenle Friedewald formülü için alınan örneklerde en az 8- 12 saatlik açlık olması gerekmektedir. Ayrıca Tip III hiperlipoproteinemisi veya disbetalipoproteinemisi olan hastalarda kalıntı lipoproteinlerin birikmesi ve kolesterol/TG oranının artması sebebiyle VLDL-K olduğundan daha az hesaplanacağından LDL-K ise gerçek değerinden daha fazla tahmin edilecektir (65). Yüksek TG konsantrasyonlarında, VLDL-K'nın tahmininde TG/5 uygun değildir. Çünkü bu tür örnekler aynı zamanda ŞM, ŞM kalıntıları veya VLDL kalıntıları da içermektedir. Bunların tümü ise daha yüksek triaçilgliserol/kolesterol oranlarına sahiptir. Dolayısıyla TG/5 oranının kullanılması VLDL-K'yı olduğundan yüksek, yine LDL-K'yı olduğundan düşük hesaplayacaktır (55). β -kantifikasyon yöntemiyle en iyi uyum gösteren TG konsantrasyonları 200 mg/dL'nin altında olan örneklerdir. Triaçilgliserol düzeyleri 200-400 mg/dL'yken denklemin güvenilirliği önemli ölçüde azalmaktadır. Bu nedenle hesaplamanın yalnızca TG düzeyleri 400 mg/dL'nin altında olan örnekler için yapılması önerilmiştir. Bundan dolayı birçok çalışma, Friedewald denkleminin güvenilirliğini artırmak için alternatif TG çarpanlarının belirlenmesine odaklanmıştır (65). LDL-K düzeyi özellikle <70 mg/dL olan hastalarda da LDL-K'yı gerçek değerinden daha düşük tahmin etmektedir (16).

2.3.6.2. Martin Hopkins Denklemi

1.350.908 gibi çok geniş bir çalışma grubundan geliştirilmiştir. Grubun farklı yaş, cins, etnik köken ve dislipidemik bireyleri içermesi çalışmayı oldukça güçlendirmiştir. Kolesterol konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında kullanılan yöntem BQ ile kuvvetli ilişki gösteren dikey spin yoğunluk gradyan ultrasentrifüjlemedir (66).

2013 yılında yayımlanan Martin ve arkadaşlarının çalışması, standart lipid profilinden LDL-K hesaplanmasında TG/VLDL-K oranı için ayarlanabilir bir faktör kullanarak daha doğru bir denklem üretmeyi ve bunu vertikal otomatik profil ultrasentrifugasyon yöntemiyle doğrulamayı amaçlamıştır (66).

Martin ve arkadaşlarının oluşturduğu denklem şu şekildedir (66):

$$\text{LDL-K} = \text{TK} - (\text{HDL-K}) - (\text{TG/ayarlanabilir faktör})$$

Farklı aralıklardaki TG ve Non-HDL K düzeyleri dikkate alınarak TG/VLDL-K oranı için ayarlanabilir bir faktör uygulanmıştır. Sonuç olarak Tablo 3'te gösterildiği gibi 180 hücreli bir tablo oluşturulmuş ve daha sonra Martin Hopkins ismi verilen yeni bir denklem üretilmiştir. 180 hücreli tablo yaklaşımının, otomatik laboratuvar raporlama sistemine uygulanabileceği belirtilmiştir (66).

Oluşturulan bu denklemin; özellikle yüksek TG ve <70 mg/dL LDL-K düzeyleri için yaptığı LDL-K hesaplamalarında Friedewald denklemine göre daha doğru tahminde bulunduğu gösterilmiş ve bu durumun büyük avantaj sağladığı belirtilmiştir (66). TG düzeyleri 400 mg/dL'nin altında olan hastalar için doğrulanmıştır (66,67).

Martin Hopkins denklemi için geliştirilen 180 hücreli tablo genişletilerek daha fazla hücre bulunduran tablolar oluşturulmuştur (66). Bu yeni tablolara göre düzenlenen Extended (genişletilmiş) Martin Hopkins denklemi 400–799 mg/dL TG düzeyleri için LDL-K hesaplaması sağlamaktadır (67).

Aynı zamanda 2018 yılı Amerikan Kardiyoloji Koleji ve Amerikan Kalp Derneği, KVVH risk biyobelirteçleri ile ilgili yeni kılavuzlarında düşük LDL-K düzeyleri için hesaplama yöntemi olarak Martin Hopkins denklemi kullanılmasını önermektedir (68).

Non-HDL kolesterol ve triağılglycerol düzeylerine göre TG/VLDL-K oranının medyan değerleri Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Non-HDL kolesterol ve triaçilgliserol düzeylerine göre TG/VLDL-K oranının medyan değerleri

Triglyceride Levels, mg/dL ^a	Non-HDL-C, mg/dL					
	<100	100-129	130-159	160-189	190-219	≥220
7-49	3.5	3.4	3.3	3.3	3.2	3.1
50-56	4.0	3.9	3.7	3.6	3.6	3.4
57-61	4.3	4.1	4.0	3.9	3.8	3.6
62-66	4.5	4.3	4.1	4.0	3.9	3.9
67-71	4.7	4.4	4.3	4.2	4.1	3.9
72-75	4.8	4.6	4.4	4.2	4.2	4.1
76-79	4.9	4.6	4.5	4.3	4.3	4.2
80-83	5.0	4.8	4.6	4.4	4.3	4.2
84-87	5.1	4.8	4.6	4.5	4.4	4.3
88-92	5.2	4.9	4.7	4.6	4.4	4.3
93-96	5.3	5.0	4.8	4.7	4.5	4.4
97-100	5.4	5.1	4.8	4.7	4.5	4.3
101-105	5.5	5.2	5.0	4.7	4.6	4.5
106-110	5.6	5.3	5.0	4.8	4.6	4.5
111-115	5.7	5.4	5.1	4.9	4.7	4.5
116-120	5.8	5.5	5.2	5.0	4.8	4.6
121-126	6.0	5.5	5.3	5.0	4.8	4.6
127-132	6.1	5.7	5.3	5.1	4.9	4.7
133-138	6.2	5.8	5.4	5.2	5.0	4.7
139-146	6.3	5.9	5.6	5.3	5.0	4.8
147-154	6.5	6.0	5.7	5.4	5.1	4.8
155-163	6.7	6.2	5.8	5.4	5.2	4.9
164-173	6.8	6.3	5.9	5.5	5.3	5.0
174-185	7.0	6.5	6.0	5.7	5.4	5.1
186-201	7.3	6.7	6.2	5.8	5.5	5.2
202-220	7.6	6.9	6.4	6.0	5.6	5.3
221-247	8.0	7.2	6.6	6.2	5.9	5.4
248-292	8.5	7.6	7.0	6.5	6.1	5.6
293-399	9.5	8.3	7.5	7.0	6.5	5.9
400-13975	11.9	10.0	8.8	8.1	7.5	6.7

2.3.6.3. Sampson Denklemi

2020 yılında yayımlanan Sampson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Sampson denklemi olarak isimlendirilen özellikle >400 mg/dL üzerinde TG ve/veya düşük LDL-K düzeyleri için LDL-K'nin daha doğru hesaplanmasını sağlamak amacıyla yeni bir denklem geliştirilmiştir. Bu denklem, TG düzeyleri 800 mg/dL'ye kadar olan hastalarda LDL-K hesaplamasını Friedewald denkleminin 400 mg/dL'ye kadar olan TG seviyelerinde yaptığı gibi doğru bir şekilde hesaplar. Böylece hipertrigliseridemi olan hastaların (400-800 mg/dL) LDL-K için yanlış tedavi gruplarına kategorize edilmesini %35 daha azaltmaktadır (69).

LDL-K denkleminin doğruluğunu arttırmak için öncelikle Denklem 1 adı verilen VLDL-K hesaplama denklemi geliştirilmiştir. Geniş bir TG (38-3162 mg/dL) ve Non-HDL-

K (53-734 mg/dL) değeri aralığına sahip ve β -kantifikasyon yöntemi ile ölçümü gerçekleştirilmiş örneklerin test sonuçları kullanılmış ve iki değişkenli ikinci dereceden denklem açığa çıkartılmıştır. Özellikle hipertrigliseridemik hastalarda bu denklem ile hesaplanan VLDL-K düzeyinin Friedewald veya Martin denklemlerinden daha doğru olduğu belirtilmiştir. LDL-K'yı hesaplamak için ise denklem 1 ile aynı terimleri içeren denklem 2 geliştirilmiştir (69).

Sampson ve arkadaşlarının geliştirdiği denklemler (69):

$$\text{VLDL-K (Denklem 1)} = \text{TG}/8.59 + \text{TG} \times (\text{Non-HDL-K}/2250) - (\text{TG}^2/16500)$$

$$\text{LDL-K (Denklem 2)} = \text{TK}/0.948 - ((\text{HDL-K}/0.971) - (\text{TG}/8.56 + \text{TG} \times (\text{Non-HDL-K}/2140) - (\text{TG}^2/16100)) - 9.44$$

Geliştirilen LDL-K denklemi total kolesterolden VLDL-K ve HDL-K çıkarılması bakımından Friedewald denklemine benzemektedir; ancak geliştirilen bu denklemde her terim için farklı kat sayı kullanılarak β kantifikasyon yöntemiyle daha iyi bir uyum göstermesi sağlanmıştır (69).

Sampson ve arkadaşları hipertrigliseridemi (TG seviyesi ≤ 800 mg/dL) ve/veya düşük LDL-K düzeylerinde ölçüm için daha doğru bir LDL-K denklemi geliştirdiklerini ve bu denklemin aynı zamanda normolipidemisi olan hastalar için de iyi bir performans gösterdiğini belirtmişlerdir (69).

Ayrıca laboratuvar bilgi sistemleri tarafından otomatik olarak LDL-K hesaplamada kullanılabilecek bir denklem olduğu rapor edilmiştir (69).

Yaklaşık 50 yıllık Friedewald denklemindeki eksiklikleri azaltmak amaçlı geliştirilen modern formüller içerisinde en doğru sonuç veren ve güvenilir olan Martin Hopkins ve Sampson denklemi ön plana çıkmaktadır. Bu formüllerin özelliği VLDL-K'nın hesaplamada farklı formülsel öneriler sunmasıdır. Bu formüller özellikle plazma TG düzeylerinden çok etkilenmekte bu nedenle farklılık göstermektedir. Bu çalışmadaki amacımız VLDL-K ölçümünün direk yapıldığı NMR sistemini kullanarak bu formüllerin farklı lipid düzeylerindeki değişimini dolayısıyla LDL-K hesaplamasına etkisini ortaya koymaktadır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

Çalışmada kullanılan laboratuvar malzemeleri ve cihazlara ait bilgiler Tablo 4'te belirtilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan laboratuvar malzemeleri ve cihazlar

Kullanılan Cihaz ve Laboratuvar Malzemeleri	Üretici Firma
Santrifüj Cihazı	Eppendorf Centrifuge 5810
-80 Derin Dondurucu	Thermo Electron Corporation
AU 5800 otoanalizör	Beckman Coulter
NMR Spektroskopi	Bruker Avance Neo 600 Mhz NMR Cihazı (Bruker Biospin, Ettlingen, Germany)

3.2. Yöntem

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Biyokimya ABD yürütülmüştür. Çalışmanın yürütülmesi için Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan 2023/39 protokol numarası ile onay alındı (Bkz. Etik Kurul Onayı). Çalışma kapsamında TTU-2024-15848 proje kodu ile Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminden, Uzmanlık Tez Proje (BAP06) desteği alındı.

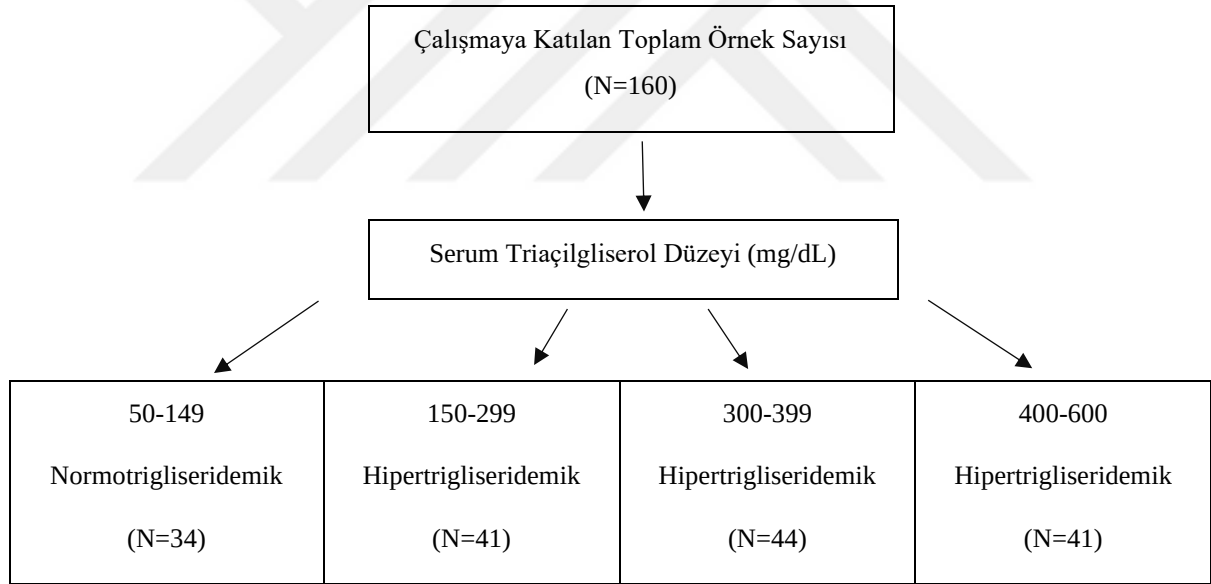
3.2.1. Çalışma Grubu

Çalışma grubu farklı TG ve LDL-K düzeylerine göre, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda işlemi bitmiş gecelik açlığı takiben alınmış serum örneklerinden elde edildi.

Çalışma grubumuz Şekil 3'te gösterildiği gibi 19-88 yaş arası 63 kadın, 97 erkek ve TG düzeyi 50-149 mg/dL (N=34) olan normotrigliseridemik; 150-299 mg/dL (N=41), 300-399 mg/dL (N=44) ve 400-600 mg/dL (N=41) arasında olan hipertrigliseridemik 160 kişiden oluşturuldu. Ayrıca tüm gruplar içinde direkt yöntemle ölçüldüğünde LDL-K düzeyi <100

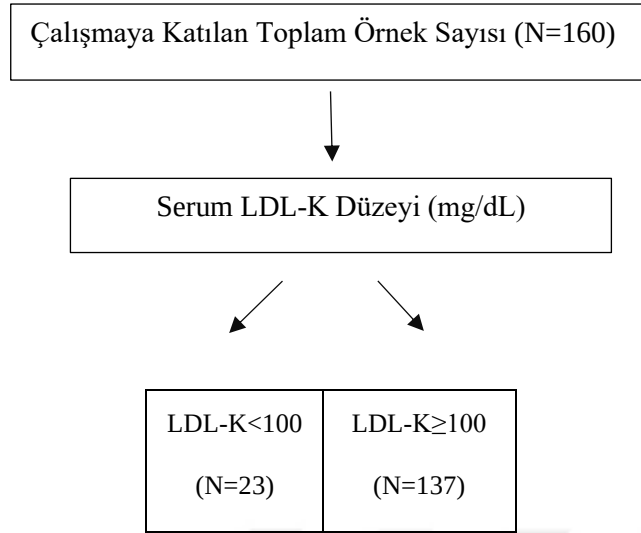
mg/dL olan 23 kişi ve >100 mg/dL olan 137 kişiden oluşturuldu. Çalışma grubu 1 Mart-1 Eylül 2024 tarihleri arasında KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'ndaki işlemleri bitmiş artık örnek havuzundan elde edildi. Hastaların sabah 8.30-10.00 arasında ön kollarından serum için 5 mL serum separatör jelli biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri 30 dakika bekletildikten sonra 3000 rpm (revolutions per minute)'de 10 dakika 4°C santrifüj edildi. Hastaların rutin testleri çalışıldıktan sonra TG düzeylerine göre farklı gruplar oluşturuldu. Örneklerin TG düzeylerinin farklı olmasına, serum indeksleri değerlendirildikten sonra hemolizli ve ikterik olmamasına dikkat edildi. Elde edilen serum ve plazma örnekleri 1.5 mL kapaklı tüplerde alikotlanarak ayrıldı ve biyokimyasal ölçümler yapıldıktan sonra NMR spektrofotometri ile ölçüm yapılabildiği kadar -80°C'de saklandı.

Çalışma grubunun TG düzeylerine göre dağılımı Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Triaçilgliserol düzeylerine göre çalışma grubu dağılımı

Direkt yöntem ile elde edilen ölçüm sonuçları dikkate alınarak LDL-K düzeyi <100 mg/dL ve ≥100 mg/dL olmak üzere oluşturulan gruplar Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Direkt LDL-K düzeylerine göre çalışma grubu

3.2.2. Lipit Seviyelerinin Ölçümü

Çalışmada kullanılan biyokimyasal parametreler; TK, TG, HDL-K, LDL-K Karadeniz Teknik Üniversitesi Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda ölçüldü. Ölçüm için laboratuvarında bulunan Beckman Coulter marka AU 5800 (Shizuoka, Japonya) model otoanalizör kullanıldı. Total kolesterol ölçümü için reaktif lot numarası 2620; enzimatik kolorimetrik test (kolesterol oksidaz-CHO), TG ölçümü için reaktif lot numarası 2629; enzimatik kolorimetrik test (lipaz/glisero1 kinaz), HDL-K ölçümü için reaktif lot numarası 2413; enzimatik kolorimetrik test, LDL-K ölçümü reaktif lot numarası 2557; enzimatik kolorimetrik test yöntemi kullanıldı. Biyokimyasal parametrelerin ölçümünde cihazların orijinal kitleri kullanıldı ve testler günlük iç kalite kontrolleri takiben çalışıldı. Tablo 5'de gösterildiği gibi çalışılan testlere ait toplam izin verilebilir hata değerleri NCEP toplam izin verilebilir hata sınırı ($TK \leq 9$, $TG \leq 15$, $HDL-K \leq 12$, $LDL-K \leq 12$) içerisindeydi. LDL-K ölçümünde ayrıca Friedewald, Martin Hopkins ve Sampson denklemleri kullanıldı.

Çalışılan testlere ait laboratuvar toplam hata değerleri ve NCEP toplam izin verilebilir hata değerleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Çalışılan testlere ait laboratuvar toplam hata değerleri ve NCEP toplam izin verilebilir hata sınır değerleri

	Çalışılan Laboratuvarın %CV, Bias			NCEP İzin Verilebilir Toplam Hata Değerleri
	Toplam Hata (TAE) Değerleri			
	% CV	Bias (%)	TAE(%)	NCEP (%)
TK	2	3,1	6,3	9
TG	3,1	3,3	8,2	15
HDL-K	2,8	1,9	6,5	12
LDL-K	2,7	4,1	8,5	12

*Laboratuvara ait iç kalite kontrol % CV, dış kalite kontrol % Bias ve Toplam Hata ($1.65 \times \% CV + \text{Bias}$) değerleri, numunelerin toplandığı Mart-Eylül 2024 tarihlerine ait internal ve eksternal kalite kontrollerden alınmıştır.

3.2.3. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi

Acıbadem Üniversitesi Laboratuvarları'nda bulunan Bruker Avance Neo 600 Mhz Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopi cihazında gerçekleştirildi.

Lipoprotein Parametrelerinin Analizi;

Lipoprotein alt fraksiyonları, dolaşımdaki lipoproteinlerin detaylı bir resmini sunan Bruker IVDr Lipoprotein Alt Sınıf Analizi (B.I.LISA) yazılımı (Bruker BioSpin) kullanılarak otomatik olarak kantitatif hale getirildi. Yazılım serumda VLDL, IDL, LDL ve HDL olmak üzere 4 ana lipoprotein sınıfının; VLDL 1–5, LDL 1–6 ve HDL 1–4 şeklindeki 15 lipoprotein alt sınıfının ve diğer lipidlerin (toplam kolesterol, serbest kolesterol, triağılglicerol ve fosfolipitler) konsantrasyonlarını sağlar. Ayrıca, apolipoprotein (Apo-A1, Apo-A2 ve Apo-B) seviyeleri, 12 adet hesaplama ile elde edilmiş parametreler (LDL-K/HDL-K ve Apo-B/Apo-A1 oranları) ve VLDL, IDL, LDL ve LDL 1–6 partikül sayıları olmak üzere toplamda 112 lipoprotein alt fraksiyonu elde edilir. Bu parametreler içinde sadece tez için gerekli olanlar kullanılmıştır.

NMR spektroskopisi analizleri, 5 mm BBI probu ile donatılmış ve 5°C'ye ayarlanmış Bruker SampleJet robot soğutma sistemi ile donatılmış Bruker Avance Neo 600 MHz NMR cihazı (Bruker Biospin, Ettlingen, Germany) üzerinde gerçekleştirildi. NMR

spektrofotometresi, örneğe hidrojen (^1H) gibi belirli atomların çekirdeklerinin manyetik alanla hizalanmasını sağlayan güçlü bir manyetik alan uygular. Daha sonra, hizalanmış çekirdeklerin belirli bir frekansta hareket etmesine sebep olan radyo frekans darbesi gerçekleştirir. Oluşan devinim, spektrofotometre tarafından algılanır ve NMR spektrumu olarak kaydedilen bir sinyal üretir. NMR veri toplama sırasında, IVDr protokolünü takiben su bastırmalı standart tek boyutlu NMR deneyi kullanılıp solvent bastırmalı (pp: noesygppr1d) standart tek boyutlu (1D) deneyler, 32 tarama (+4 sahte tarama), 98k veri noktası, 4.0 saniyelik gevşeme gecikmesi ve 30 ppm'lik bir spektral genişlik ile elde edilmiştir. Spektral veriler, Bruker Topspin 3.6.2 ve ICON NMR kullanılarak otomasyonda işlenmiştir.

Her bir numune setinin analizinden önce, sıcaklık regülasyonu, ERETIC (Electronic Reference To access In vivo Concentrations) kantifikasyonu ve manyetik alan homojenliği için şiming kontrol etmek ve düzeltmek amacıyla üç standart numune ile kalite kontrolü gerçekleştirilmiştir. ERETIC yöntemi, mutlak konsantrasyonların belirlenmesi için kullanılabilen bir elektronik cihaz tarafından sentezlenen bir referans sinyali sağlar. Bu yöntem, ^1H yüksek çözünürlüklü NMR analizinde kantitatif ölçüm için kullanılan IVDr referans sinyalidir. ERETIC faktörü, ERETIC sinyalinden otomatik olarak oluşturulur ve her numune için QuantFactorSample adlı bir xtensible markup language (XML) dosyasına kaydedilir. Ölçüm, referans bileşiklerden elde edilen standart eğriler kullanılarak yapılmış ve sonuçlar konsantrasyon değerleri olarak ifade edilmiştir.

300 μL serum, 300 μL tampon (%20 D_2O), 0,075 M Na_2HPO_4 , %0,04 bakteriyostatik sodyum azit, 4,6 mM 3-(trimetilsilil)-2,2,3,3-tetradeteropropanoik asit (TSP- d_4) ile power Hidrojen (pH) 7,4'te karıştırıldı ve 5 mm NMR tüplerine aktarıldı. NMR analizleri, 5 mm Double Resonance Broadband (BBI) prob ile donatılmış Bruker Avance Neo Ultrashield Plus 600 megahertz (MHz) spektrometrede Bruker BioSpin gerçekleştirildi. NMR spektrumları, tek boyutlu nükleer Overhauser etkisi spektroskopisi (1D-NOESY) ve 2 boyutlu J çözümü analiz (2D J-Res) deneyleri kullanılarak kaydedildi. NMR deneylerinin başarısı, shim kalitesi (örneğin, alanin dubletinin $\sim 1,5$ ppm'de hat genişliği $< 1,5$ Hz, hat genişlemesi dahil), artık su sinyalinin boyutu (örneğin, konsantrasyon eşdeğeri < 30 mmol/L) temel alınarak değerlendirildi; kalite gereksinimlerini karşılamayan örnekler ise ilgili alikotun kalan materyalinden hazırlandı.

3.2.4. Friedewald Denklemi ile LDL-K Hesaplanması

LDL-K hesaplanmasında kullanılan Friedewald denklemi aşağıdaki gibidir (65):

$$\text{LDL-K} = \text{TK} - (\text{HDL-K}) - (\text{VLDL-K})$$

$$\text{VLDL-K} = \text{TG}/5$$

3.2.5. Martin Hopkins Denklemi ile LDL-K Hesaplanması

Martin Hopkins denklemi ile LDL-K hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (66):

$$\text{LDL-K} = \text{TK} - (\text{HDL-K}) - (\text{VLDL-K})$$

$$\text{VLDL-K} = \text{TG} / \text{ayarlanabilir faktör (180 hücreli tablo)}$$

3.2.6. Extended (Genişletilmiş) Martin Hopkins Denklemi ile LDL-K Hesaplanması

Extended Martin Hopkins denklemi ile LDL-K hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (66,67):

$$\text{LDL-K} = \text{TK} - (\text{HDL-K}) - (\text{VLDL-K})$$

$$\text{VLDL-K} = \text{TG} / \text{ayarlanabilir faktör (240 hücreli tablo)}$$

3.2.7. Sampson Denklemi ile LDL-K Hesaplanması

Sampson denklemi ile LDL-K hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (69):

$$\text{LDL-K} = \text{TK}/0.948 - \text{HDL-K}/0.971 - (\text{TG}/8.56 + \text{TG} \times (\text{Non-HDL-K}/2140) - (\text{TG}^2/16100)) - 9.44$$

$$\text{VLDL-K} = \text{TG}/8.59 + \text{TG} \times (\text{Non-HDL-K}/2250) - (\text{TG}^2/16500)$$

3.3. Çalışmada Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada kullanılan verilerin istatistiksel analizleri Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) IBM SPSS 23.0 (Lisans: KTÜ) paket programı üzerinden yapıldı. Parametrelerin normal dağılıma uyup uymadığı “Kolmogorov-Smirnov Testi” ile değerlendirildi. Bağımsız grupların değerlendirilmesinde; üç veya daha fazla grubun karşılaştırılması normal dağılım göstermişse One Way Anova testi, normal dağılım göstermemişse Kruskal Wallis testi uygulandı. Bu grupların ikili karşılaştırmaları normal dağılıma uyuyorsa Student t testi, uymuyorsa Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren değerler mean (ortalama) $\pm$ SD (standart sapma), normal dağılım göstermeyenler ise median (ortanca) ve IQR [interquartile range, çeyreklik dilimler]

minumum ve maksimum değerleri (min,max) şeklinde verildi. p değeri <0.05 anlamlı kabul edildi. Ölçüm yöntemleri arasındaki ilişkinin derecesinin belirlenmesinde veriler normal dağılıma uyuyorsa pearson; normal dağılıma uymuyorsa sperman korelasyon testi kullanıldı. Yöntemlerin birbirleriyle ilişkisi ayrıca Regresyon analizi ve Blant Altman analiziyle değerlendirildi.

LDL Kolesterol ölçümünde kullanılan referans yöntem ve diğer yöntemlere ait ölçüm sonuçları arasındaki ilişkiyi incelemek için Python programlama dili ve ilgili kütüphaneler (ör. NumPy, Pandas, Matplotlib, Seaborn ve scikit-learn) kullanıldı.

Regresyon ve Blant Altman analizleri Google Colab ortamında gerçekleştirildi. Google Colab, Python kodlarını çalıştırmak ve veri analizi yapmak için kullanılan, bulut tabanlı bir Jupyter Notebook ortamıdır. Kullanıcılara ücretsiz olarak GPU/TPU (Graphics Processing Units/ Tensor Processing Units) desteği ve çevrimdışı kurulum gerektirmeden çalışabilme imkanı sunar. Colab, özellikle veri bilimi, makine öğrenimi ve büyük veri analizleri gibi alanlarda yaygın olarak kullanıldığından dolayı tercih edildi. İlk olarak, veriler Pandas kullanılarak işlendi ve TG düzeylerine göre renk kategorileri belirlendi.

Regresyon analizi için Lineer Regresyon analizi kullanılarak bağımsız değişken (x) ile bağımlı değişken (y) arasındaki ilişki modellendi ($y=ax+b$). Modelin performansını değerlendirmek için, R^2 , RMSE (Root Mean Square Error; Kök Ortalama Kare Hatası) ve MAD (Mean Absolute Difference: Ortalama Mutlak Sapma) metrikleri kullanıldı. Bu metrikler;

R^2 (Belirleme Katsayısı): Modelin bağımlı değişkendeki toplam varyansın ne kadarını açıkladığını gösteren bir ölçümdür; 1'e yakın değerler modelin iyi bir uyum sağladığını gösterir.

RMSE (Root Mean Square Deviation (Kök Ortalama Kare Hatası)): Tahmin edilen değerler ile gerçek değerler arasındaki farkların karesinin ortalamasının kareköküdür; düşük bir değer, modelin hata oranının az olduğunu gösterir.

MAD (Ortalama Mutlak Sapma): Tahminler ile gerçek değerler arasındaki farkların mutlak değerlerinin ortalamasıdır ve modelin tahminlerdeki sapma büyüklüğünü ifade eder.

Modelden elde edilen regresyon denklemi, R^2 değeri ve hata metrikleri grafik üzerinde görselleştirildi; ayrıca TG düzeylerine göre renkli dağılımlar scatter plot ile detaylandırıldı.

Blant Altman analizi, referans yöntem ve diğer ölçüm yöntemlerine ait sonuçlar arasındaki uyumu değerlendirmek için yapıldı. Analiz, Python dilinde NumPy, Pandas, Matplotlib ve Seaborn kütüphaneleri kullanılarak gerçekleştirildi.

Blant Altman grafiği oluşturulurken, X ekseninde, referans ölçüm yöntemi olduğunda referans yönteme ait ölçüm değerleri bulunmaktadır. Y ekseninde, karşılaştırılan yöntemler arasında yüzde farklar hesaplanmıştır. Yüzde farklar (karşılaştırılan iki ölçüm yöntemi arasındaki ölçüm sonuçlarının farkı/referans ölçüm yönteminin sonucu) $\times 100$ formülü ile elde edildi. Farkların ortalaması ve 1.96 standart sapma sınırları, veri üzerindeki uyumsuzlukları görselleştirmek için kullanıldı. TG düzeylerine göre veriler renk kodlarına ayrıldı ve grafikte TG seviyelerine özgü dağılım detaylandırıldı. Bu analiz, iki ölçüm yöntemi arasındaki sistematik farkları ve uyum sınırlarını değerlendirmek amacıyla yapıldı.

4- BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Toplam çalışma grubuna ait antropometrik ölçüler ve lipit/lipoprotein düzeyleri Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6. Çalışma grubunun yaş, cinsiyet ve lipit düzeyleri

Özellikler	
N	160
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	63/97
Yaş	46±13
(Min-Max)	(19-88)
TK, mg/dL	218±48
TG, mg/dL	308.5 [166-404]
HDL-K, mg/dL	48±15
Non HDL-K, mg/dL	170±45
dLDL-K, mg/dL	138 [109-164]
LDL _F	107 [83-134]
LDL _M	125 [106-150]
LDL _{eM}	123 [102-149]
LDL _S	113 [94-140]

Toplam çalışma grubu ve farklı TG düzeylerine göre ayrılan alt gruplardaki lipit ve lipoprotein değerleri Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Triaçilgliserol düzeylerine göre çalışma alt grup lipit değerleri

Triaçilgliserol Düzeyleri, mg/dL					
mg/dL	Toplam Çalışma Grubu	Alt Gruplar			
	50-600 (N=160)	50-149 (N=34)	150-299 (N=41)	300-399 (N=44)	400-600 (N=41)
TG	218 ± 48 308.5 [166-404]	186 ± 43 100 [76-129]	210 ± 43 210 [182-264]	239 ± 44 349 [316-376]	229 ± 47 458 [428-493]
HDL-K	48 ± 15	59 ± 15	51 ± 13	44 ± 13	40 ± 13
dLDL-K	138 [109-164]	116 [96-157]	142 [97-160]	144 [104-175]	132 [92-175]

Toplam çalışma grubu içinde direkt LDL Kolesterol düzeyleri <100 mg/dL ve ≥ 100 mg/dL olarak ayrılan iki gruba ait lipit değerleri Tablo 8’de belirtilmiştir.

Tablo 8. Çalışma grubunun direkt LDL kolesterol düzeyleri <100 ve ≥ 100’de lipit değerleri

mg/dL	dLDLK, mg/dL	
	<100 (N=23)	≥100 (N=137)
Total Kolesterol	151 [141-175]	223 [196-258]
TG	259 [96-408]	311 [173-402]
HDL-K	42 ± 15	49 ± 15
dLDL-K	85 [77-93]	144 [124-167]

Otoanalizörde direkt ölçülen enzimatik/kolorimetrik yöntemle ait TK, TG ve HDL-K düzeyleri ile NMR yöntemiyle ölçülen TK, TG ve HDL-K düzeyleri Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Direkt (Enzimatik-Kolorimetrik) yöntem ve NMR yöntemiyle elde edilen TK, TG ve HDL-K değerleri

	Enzimatik-Kolorimetrik Yöntem N=160	NMR Yöntemi N=160	P
(mg/dL)			
TK	218±48 (124-367)	239±50 (139-392)	<0.05
TG	308.5 [166-404] (50-596)	308.6 [161-416] (51-608)	0.78
HDL-K	44 [38-57] (19-92)	47 [42-53] (27-91)	0.127

Toplam çalışma grubunda enzimatik kolorimetrik yöntem ve NMR yöntemiyle elde edilen TG ve HDL-K ölçüm değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi, TK değerleri arasında ise anlamlı fark mevcuttu. Ancak NMR yöntemi referans yöntem olarak alınıp iki yöntem arasındaki % fark hesaplandığında (%8.8) NCEP toplam izin verilebilir hata değerinin (%9) altında olduğu görüldü.

Tablo 10’da toplam çalışma grubu ve farklı TG alt gruplarında NMR ile diğer yöntemlere ait VLDL-K düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırmaları gösterilmiştir.

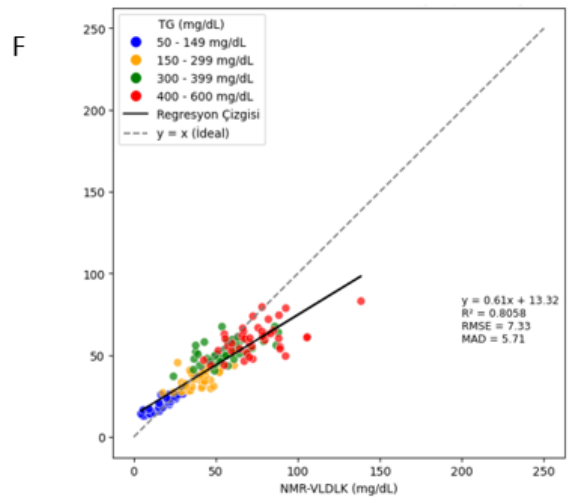
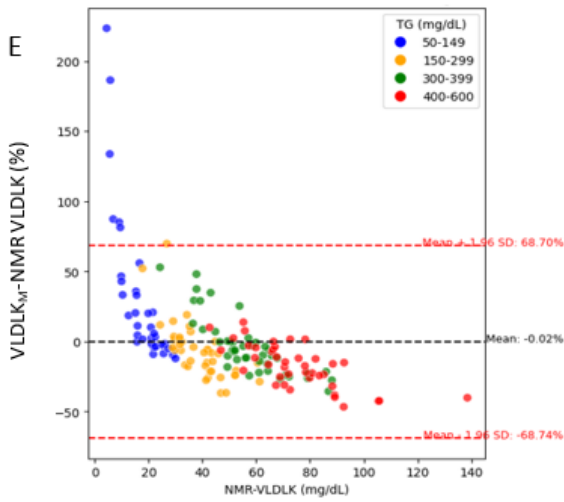
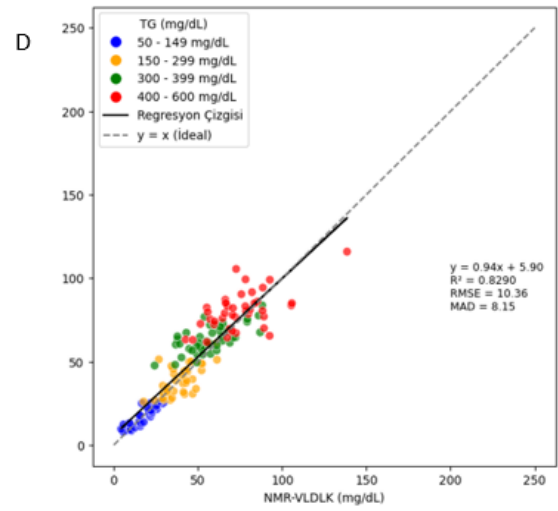
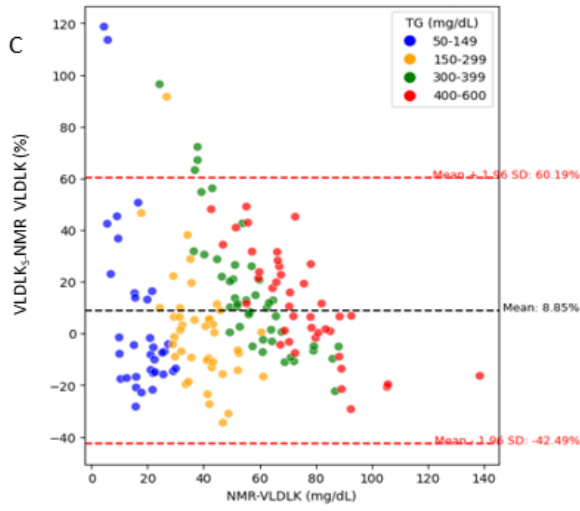
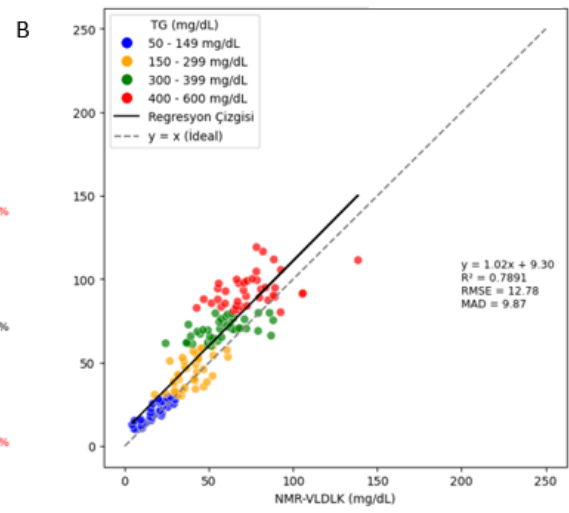
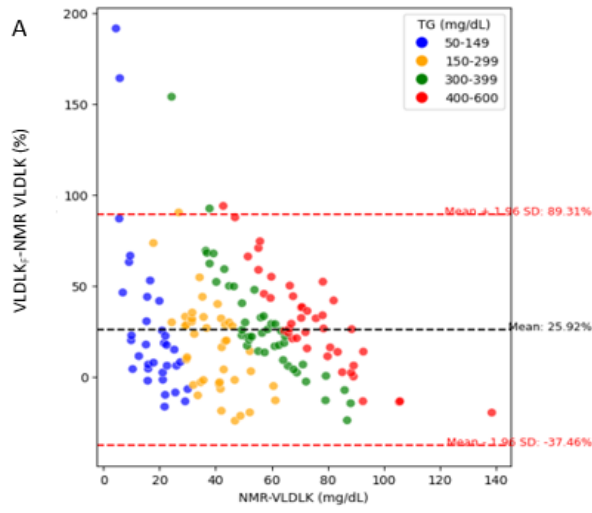
Tablo 10. Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDLK yöntemi ve diğer yöntemlere ait VLDL-K değerleri

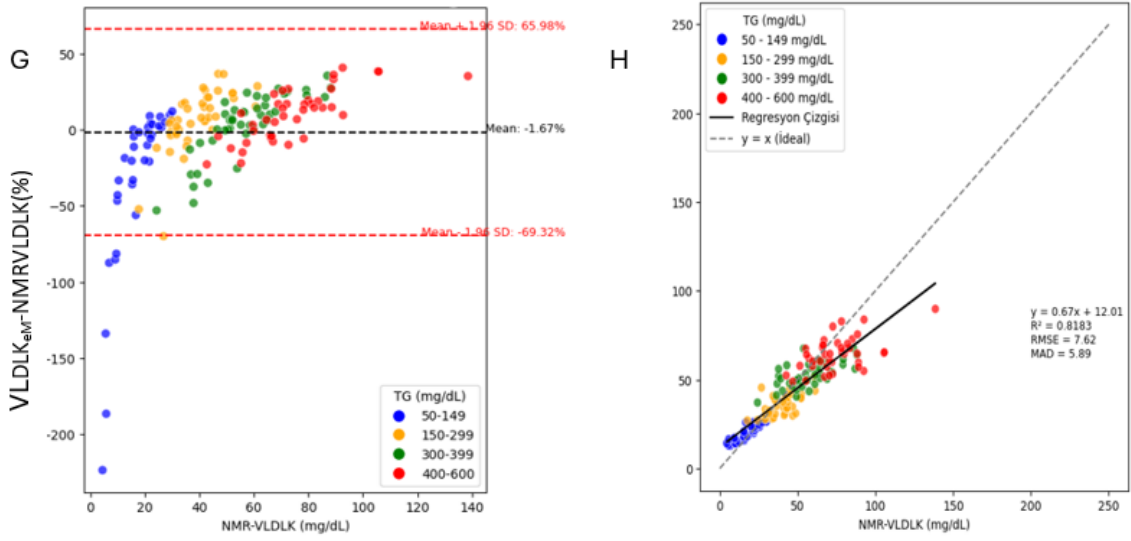
TG Düzeyleri mg/dL	NMR- VLDLK	VLDLK _F	VLDLK _S	VLDLK _M	VLDLK _{eM}
50-600 (N=160)	47 [29-66] (4-139)	62 [33-81] ^a (10-119)	55 [28-72] ^b (8-116)	45 [29-56] ^{b,c} (13-83)	46 [29-59] ^{b,c} (13-90)
50-149 (N=34)	17 [10-22] (4-30)	20 [15-26] (10-30)	18 [12-22] (8-26)	21 [16-24] (13-26)	21 [16-24] (13-26)
150-299 (N=41)	41 [32-44] (18-61)	42 [36-53] ^a (30-60)	37 [31-45] ^b (26-61)	34 [30-40] ^{a,b} (27-51)	34 [30-40] ^{a,b} (27-51)
300-399 (N=44)	56 [49-65] (24-88)	70 [63-75] ^a (60-80)	62 [58-69] ^{a,b} (48-84)	52 [48-58] ^{b,c} (37-68)	52 [48-58] ^{b,c} (37-68)
400-600 (N=41)	72 [65-84] (43-139)	92 [86-99] ^a (80-119)	80 [72-85] ^{a,b} (62-116)	60 [53-65] ^{a,b,c} (44-83)	65 [58-70] ^{a,b,c,d} (49-90)

a; NMR-VLDLK'dan farklı b; VLDLK_F 'den farklı c; VLDLK_S 'den farklı d; VLDLK_M 'den farklı, p<0.05 anlamlı kabul edildi.

Farklı TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemler arasındaki karşılaştırmalar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; Extended Martin (VLDLK_{eM}), Martin (VLDLK_M) ve Sampson (VLDLK_S) denklemi sırasıyla NMR yöntemine en yakın değerler elde eden yöntemler oldu ve sonuçlar NMR yönteminden anlamlı farklılık göstermedi. 50-149 mg/dL TG alt grubunda bütün yöntemlerin, NMR yöntemiyle ve birbirleri arasında anlamlı farklılık göstermediği saptandı. 150-299 mg/dL TG alt grubunda sadece VLDLK_S ile NMR yöntemi arasında anlamlı fark tespit edilmezken 300-399 mg/dL alt grubunda ise NMR yöntemine en yakın sonuç gösteren VLDLK_M ve VLDLK_{eM} yöntemi olarak NMR yöntemiyle anlamlı farklılık göstermedi. 400-600 mg/dL alt grubunda bütün yöntemlerin NMR'dan anlamlı fark gösterdiği tespit edildi.

Farklı TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 5'te ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 11'de gösterilmiştir.





A; VLDLKF-NMR-VLDLK Blant Altman Grafiği.
C; VLDLKS-NMR-VLDLK Blant Altman Grafiği.
E; VLDLKM-NMR-VLDLK Blant Altman Grafiği.
G; VLDLKeM-NMR-VLDLK Blant Altman Grafiği.

B; VLDLKF-NMR-VLDLK Regresyon Grafiği.
D; VLDLKS-NMR-VLDLK Regresyon Grafiği.
F; VLDLKM-NMR-VLDLK Regresyon Grafiği.
H; VLDLKeM-NMR-VLDLK Regresyon Grafiği.

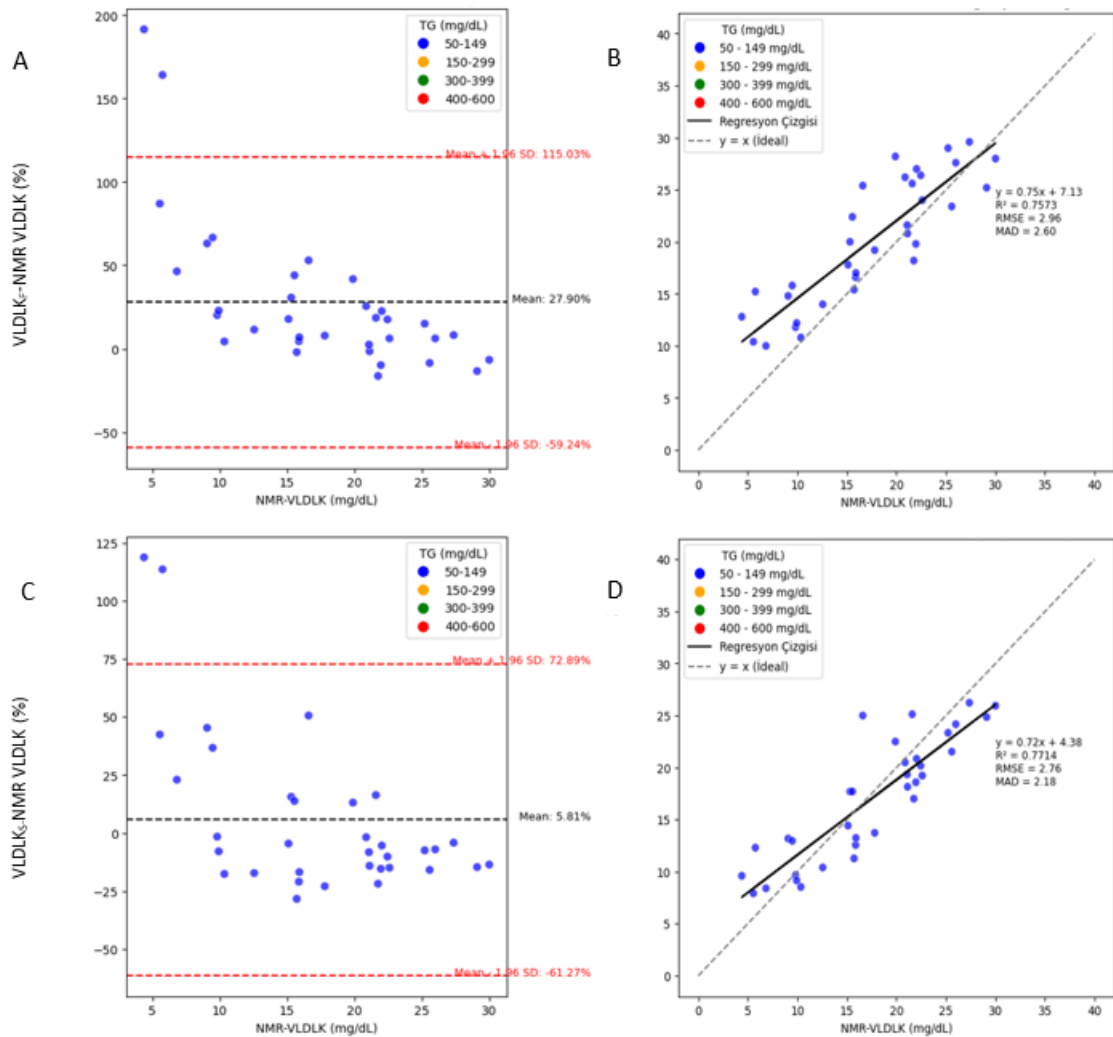
Şekil 5. Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

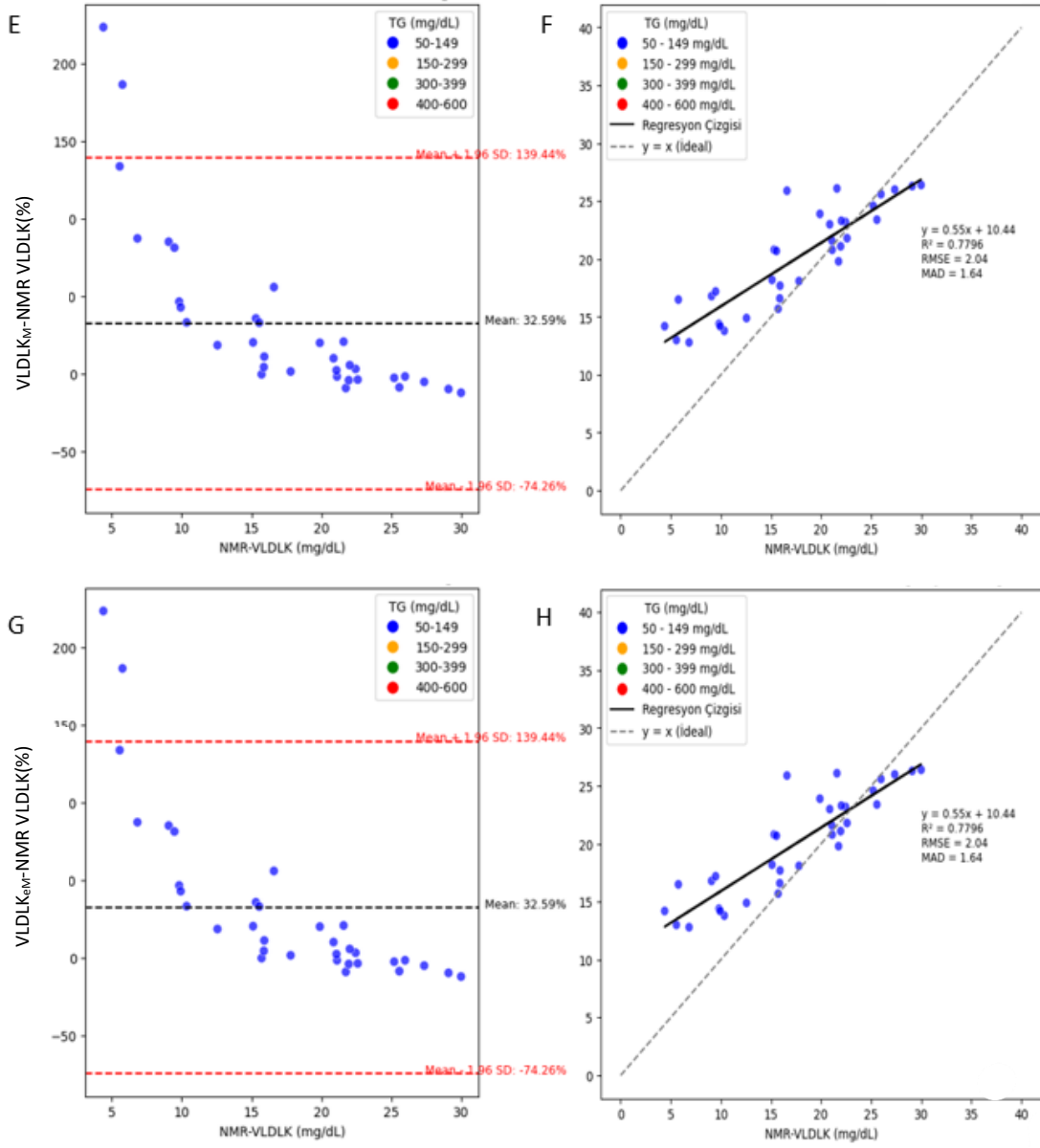
Tablo 11. Farklı TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi
		(%Fark)				Güven Aralıkları
NMR- VLDLK	VLDLKF	25.92	0.7891	12.78	9.87	y=1.02x + 9.30 [0.93-1.1][4.8-13.7]
	VLDLKS	8.85	0.8290	10.36	8.15	y=0.94x + 5.90 [0.87-1.00] [2.26-9.52]
	VLDLKM	-0.02	0.8058	7.33	5.71	y=0.61x + 13.32 [0.56-0.66] [10.7-15.8]
	VLDLKeM	1.67	0.8183	7.62	5.89	y=0.67x + 12.01 [0.61-0.71] [9.33-14.67]

Şekil 5’ de toplam çalışma grubunda VLDL-K grafikleri değerlendirildiğinde Blant Altman grafiğinde NMR yöntemiyle en az fark gösterenin VLDLK_M (%-0.02) olduğu ve bunu sırasıyla VLDLK_{eM} (%1.67), VLDLK_S (%8.85) ve VLDLK_F (%25.92) yöntemlerinin takip ettiği saptandı. Regresyon Grafikleri’nde NMR yöntemiyle kıyaslandığında R² değeri en yüksek olan yöntem VLDLK_S (0.8290)’ydi ve bunu VLDLK_{eM} (0.8183), VLDLK_M (0.8058), VLDLK_F (0.7891) yöntemlerinin izlediği tespit edildi. RMSE değerinin azdan çoğa doğru sıralamasının VLDLK_M (7.33), VLDLK_{eM} (7.62), VLDLK_S (10.36), VLDLK_F (12.78) şeklinde olduğu saptandı. MAD değerlerindeki sıralamanın ise VLDLK_M (5.71), VLDLK_{eM} (5.89), VLDLK_S (8.15), VLDLK_F (9.87) şeklinde olduğu görüldü.

50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 6’da ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 12’de gösterilmiştir.





A; VLDL_{KF}-NMR VLDLK Blant Altman Grafiği.
 C; VLDL_{KS}-NMR VLDLK Blant Altman Grafiği.
 E; VLDL_{KM}-NMR VLDLK Blant Altman Grafiği.
 G; VLDL_{KEM}-NMR VLDLK Blant Altman Grafiği.

B; VLDL_{KF}-NMR VLDLK Regresyon Grafiği.
 D; VLDL_{KS}-NMR VLDLK Regresyon Grafiği.
 F; VLDL_{KM}-NMR VLDLK Regresyon Grafiği.
 H; VLDL_{KEM}-NMR VLDLK Regresyon Grafiği.

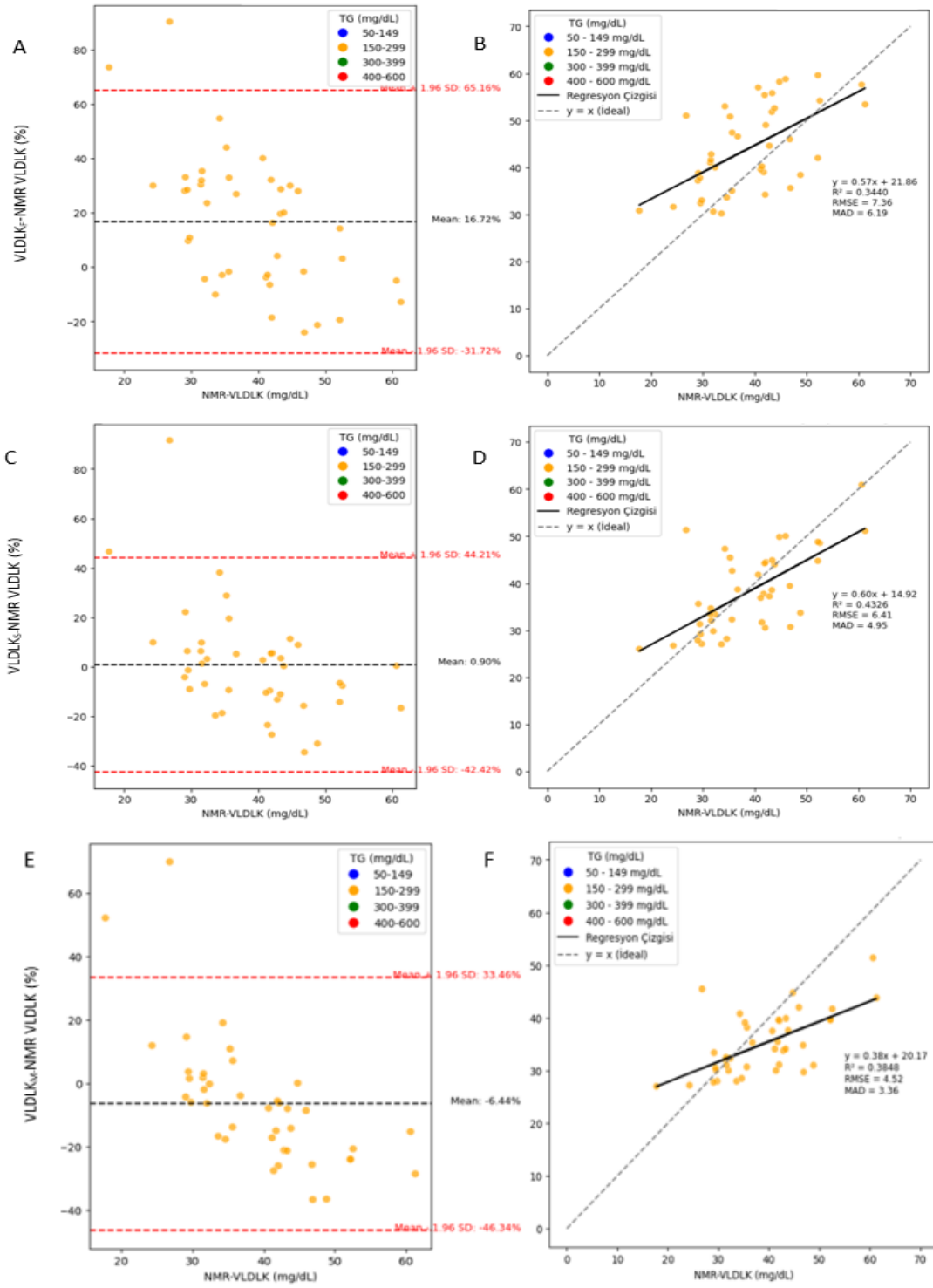
Şekil 6. 50-149 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

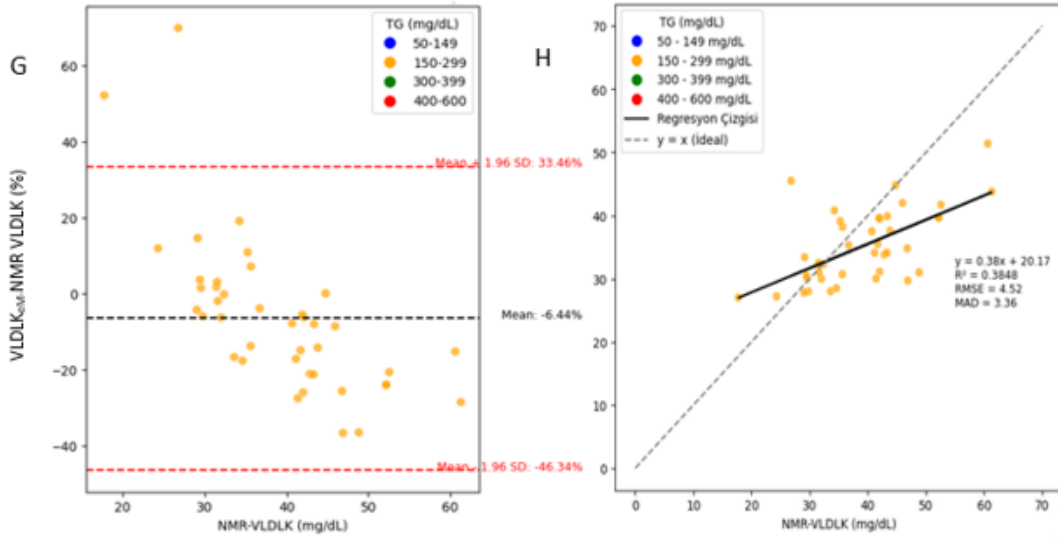
Tablo 12. 50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi
		Altman				Güven Aralıkları
		(%Fark)				
NMR- VLDLK	VLDLK _F	27.90	0.7573	2.96	2.6	y= 0.75x + 7.13 [0.59-0.89][4.28-9.97]
	VLDLK _S	5.81	0.7714	2.76	2.18	y= 0.72x + 4.38 [0.58-0.86][1.72-7.02]
	VLDLK _M	32.59	0.7796	2.04	1.64	y= 0.55x + 10.44 [0.44-0.65][8.47-12.40]
	VLDLK _{eM}	32.59	0.7796	2.04	1.64	y= 0.55x + 10.44 [0.44-0.65][8.47-12.40]

Şekil 6’da 50-149 mg/dL TG alt grubunda VLDL-K için grafikler değerlendirildiğinde; Blant Altman grafiğinde NMR yöntemine göre farkın azdan çoğa doğru sıralanışının VLDLK_S (%5.81), VLDLK_F (%27.90), VLDLK_{eM} (%32.59), VLDLK_M (% 32.59) şeklinde olduğu görüldü. Regresyon Grafikleri NMR yöntemiyle kıyaslandığında R² değerlerini sırasıyla VLDLK_M (0.7796), VLDLK_{eM}, (0.7796), VLDLK_S (0.7714), VLDLK_F (0.7573) yöntemlerinin izlediği saptandı. RMSE değerlerinde ise sırayı VLDLK_M (2.04), VLDLK_{eM} (2.04), VLDLK_S (2.76), VLDLK_F (2.96) yöntemlerinin takip ettiği görüldü. MAD değerlerinin ise sırasıyla VLDLK_M (1.64), VLDLK_{eM} (1.64), VLDLK_S (2.18), VLDLK_F (2.60) şeklinde olduğu saptandı.

150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 7’de ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 13’te gösterilmiştir.





A; VLDL_{KF}-NMR VLDL_K Blant Altman Grafiği.
C; VLDL_{KS}-NMR VLDL_K Blant Altman Grafiği.
E; VLDL_{KM}-NMR VLDL_K Blant Altman Grafiği.
G; VLDL_{KeM}-NMR VLDL_K Blant Altman Grafiği.

B; VLDL_{KF}-NMR VLDL_K Regresyon Grafiği.
D; VLDL_{KS}-NMR VLDL_K Regresyon Grafiği.
F; VLDL_{KM}-NMR VLDL_K Regresyon Grafiği.
H; VLDL_{KeM}-NMR VLDL_K Regresyon Grafiği.

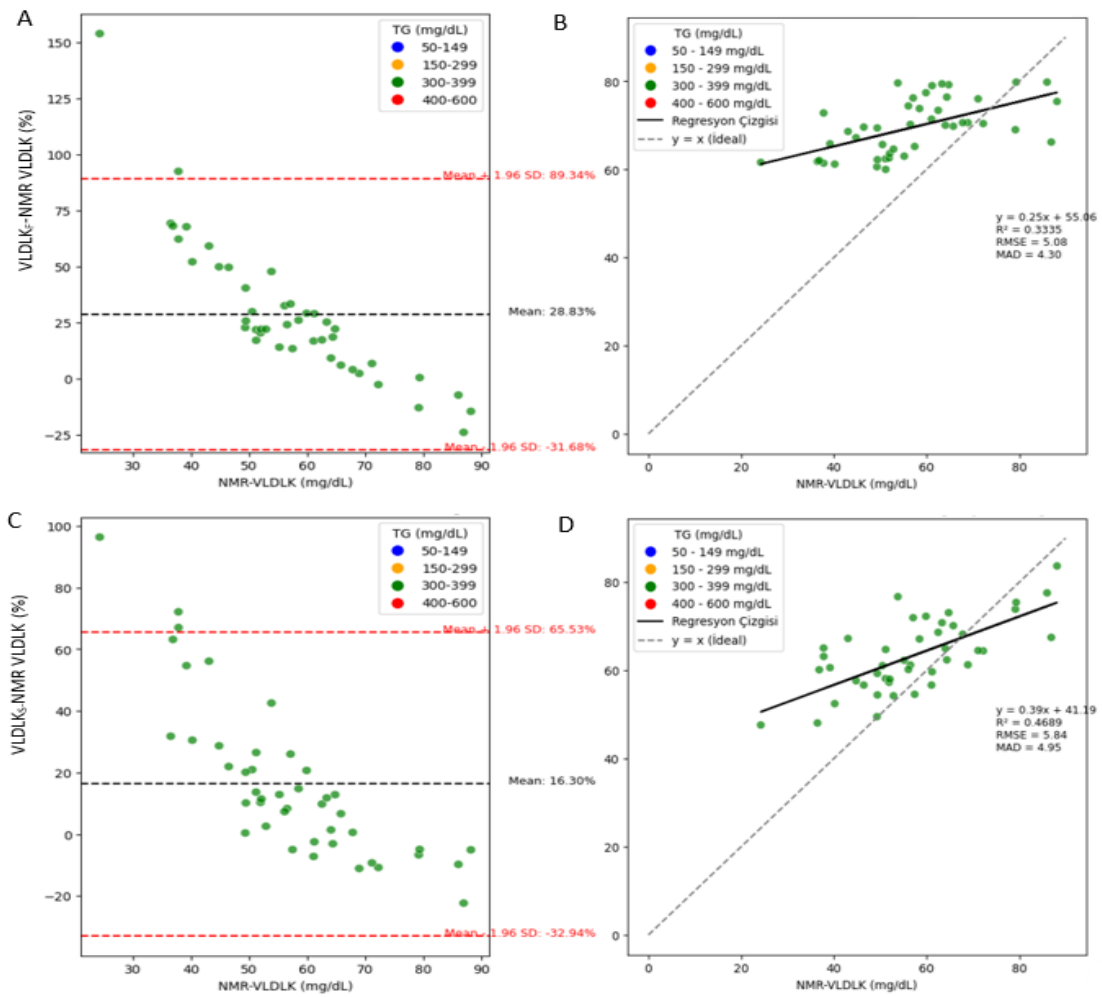
Şekil 7.150-299 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL_K ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

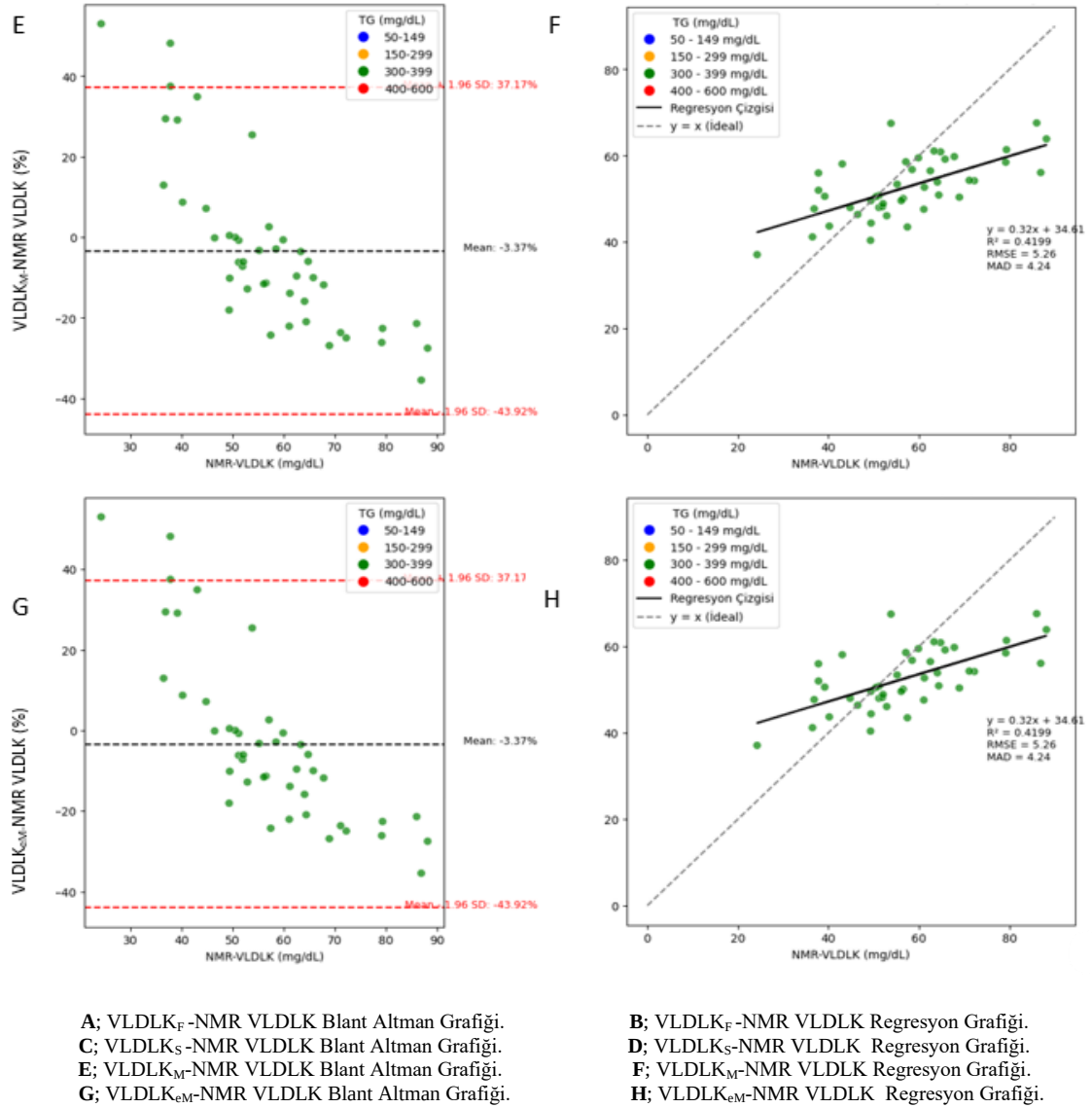
Tablo 13. 150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR-VLDL_K ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi
		Altman				Güven Aralıkları
		(%Fark)				
NMR-VLDL _K	VLDL _{KF}	16.72	0.3440	7.36	6.19	y = 0.57x + 21.86 [0.31-0.82][11.63-32.09]
	VLDL _{KS}	0.90	0.4326	6.41	4.95	y = 0.60x + 14.92 [0.37-0.82][6.01-23.82]
	VLDL _{KM}	-6.44	0.3848	4.52	3.36	y = 0.38x + 20.17 [0.22-0.54][13.88-26.45]
	VLDL _{KeM}	-6.44	0.3848	4.52	3.36	y = 0.38x + 20.17 [0.22-0.54][13.88-26.45]

Şekil 7’de 150-299 mg/dL TG alt grubunda VLDL-K için NMR yöntemine kıyasla diğer yöntemlerin grafikleri değerlendirildiğinde, Blant Altman grafiğinde NMR yöntemiyle en az fark gösteren VLDLK_S (%0.90)’ydi ve sırayı VLDLK_{eM} (%-6.44), VLDLK_M (%-6.44), VLDLK_F (%16.72) yöntemlerinin izlediği görüldü. R² değerlerinin çoktan aza doğru VLDLK_S (0.4326) VLDLK_M (0.3848), VLDLK_{eM} (0.3848) ve VLDLK_F (0.3440) şeklinde olduğu saptandı. RMSE değerleri VLDLK_M (4.52), VLDLK_{eM} (4.52), VLDLK_S (6.41), VLDLK_F (7.36) olarak bulundu. MAD değerleri ise VLDLK_M (3.36), VLDLK_{eM} (3.36), VLDLK_S (4.95), VLDLK_F (6.19) şeklinde azdan çoğa doğru sıralama gösterdi.

300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 8’de ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 14’te gösterilmiştir.





Şekil 8. 300-399 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

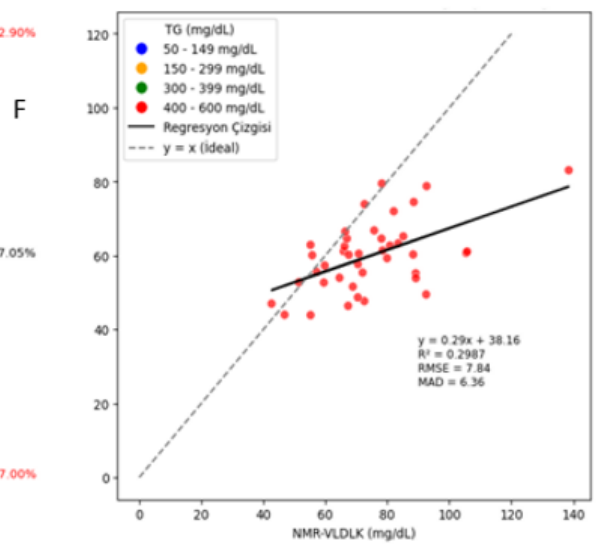
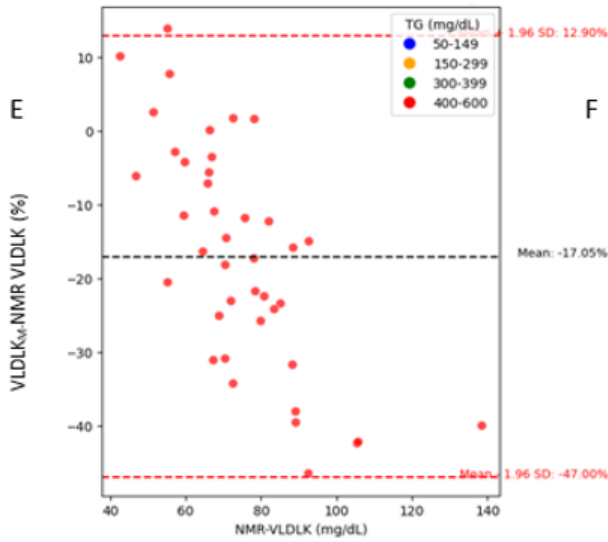
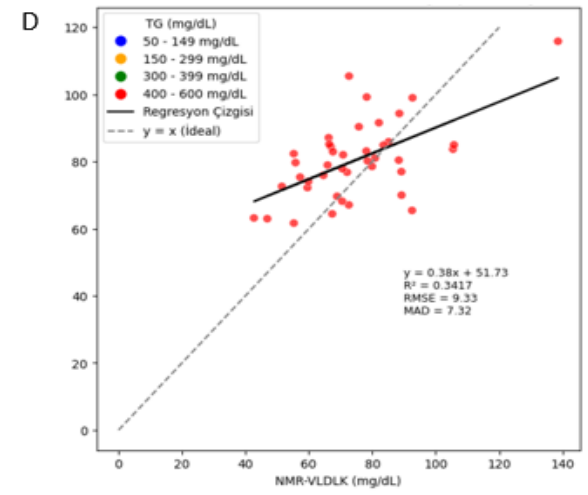
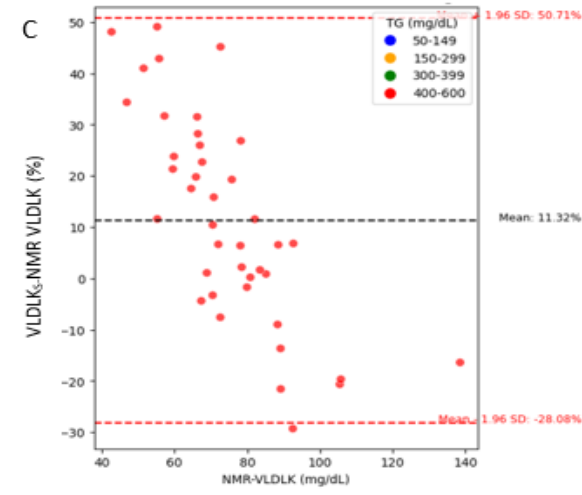
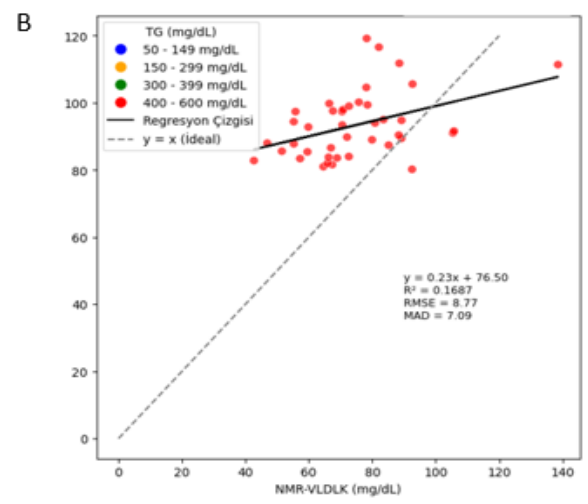
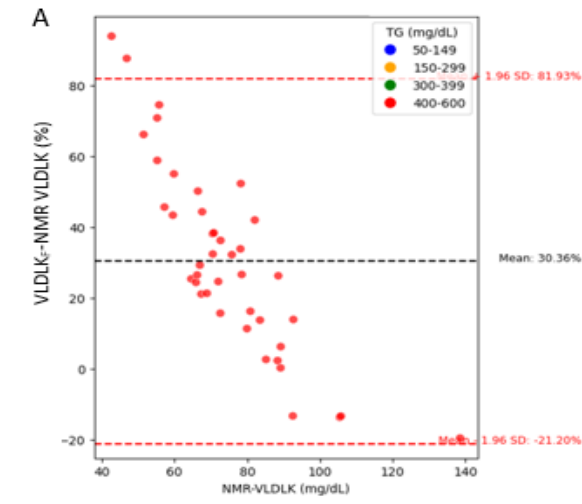
Şekil 8’de 300-399 mg/dL TG alt grubunda VLDL-K için grafikler değerlendirildiğinde Blant Altman grafiğinde NMR VLDLK yöntemiyle diğer yöntemler arasındaki fark sırasının VLDL_{K_M} (%-3.37), VLDL_{K_{E_M}} (%-3.37), VLDL_{K_S} (%16.3), VLDL_{K_F} (% 28.83) şeklinde olduğu görüldü. Regresyon Grafikleri R² değerlerinin çoktan aza doğru sıralanışının VLDL_{K_S} (0.4689), VLDL_{K_M} (0.4199), VLDL_{K_{E_M}}, (0.4199) VLDL_{K_F} (0.3335) şeklinde olduğu görüldü. RMSE değerlerinin sıralanışının VLDL_{K_F} (5.08), VLDL_{K_M} (5.26), VLDL_{K_{E_M}} (5.26), VLDL_{K_S} (5.84) şeklinde olduğu saptandı. MAD

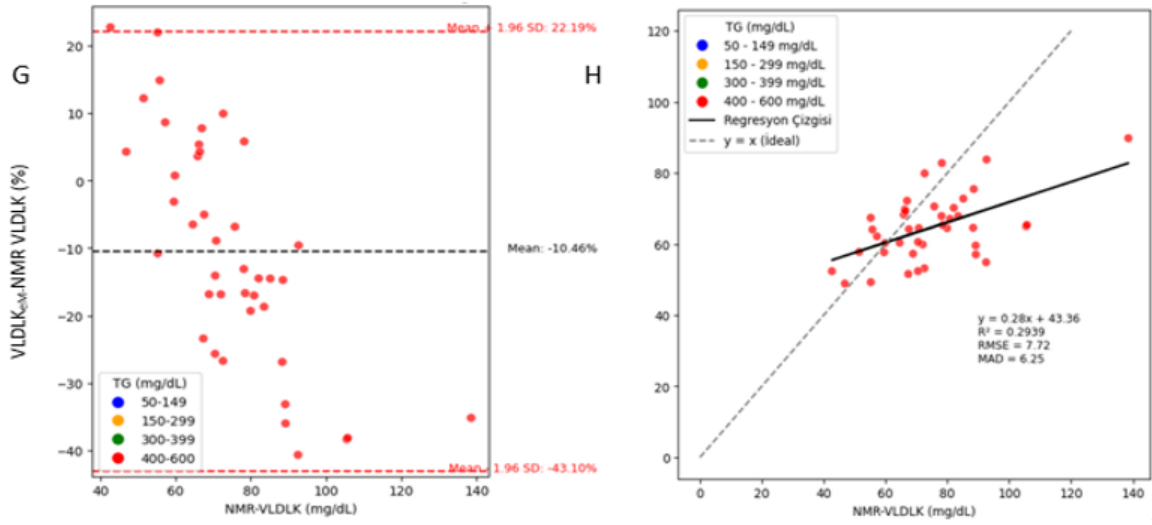
değerlerinde ise NMR yöntemiyle fark sırasının VLDLK_M (4.24), VLDLK_{eM} (4.24), VLDLK_F (4.30), VLDLK_S (4.95) şeklinde olduğu görüldü.

Tablo 14. 300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

	Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi Güven Aralıkları
NMR- VLDLK	VLDLK _F	28.83	0.3335	5.08	4.30 y= 0.25x + 55.06 [0.14-0.36][48.49-61.62]
	VLDLK _S	16.30	0.4689	5.84	4.95 y= 0.39x + 41.19 [0.26-0.51][33.64-48.74]
	VLDLK _M	-3.37	0.4199	5.26	4.24 y= 0.32x + 34.61 [0.20-0.43][27.80-41.40]
	VLDLK _{eM}	-3.37	0.4199	5.26	4.24 y= 0.32x + 34.61 [0.20-0.43][27.80-41.40]

400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR-VLDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 9'de ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 15'te gösterilmiştir.





A; VLDL_F-NMR VLDL Blant Altman Grafiği.
C; VLDL_S-NMR VLDL Blant Altman Grafiği.
E; VLDL_M-NMR VLDL Blant Altman Grafiği.
G; VLDL_{eM}-NMR VLDL Blant Altman Grafiği.

B; VLDL_F-NMR VLDL Regresyon Grafiği.
D; VLDL_S-NMR VLDL Regresyon Grafiği.
F; VLDL_M-NMR VLDL Regresyon Grafiği.
H; VLDL_{eM}-NMR VLDL Regresyon Grafiği.

Şekil 9. 400-600 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-VLDL ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

Şekil 9'da 400-600 mg/dL alt grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR VLDL yöntemiyle fark sırasının azdan çoğa doğru VLDL_{eM} (%-10.46), VLDL_S (%11.32), VLDL_M (-17.05), VLDL_F (%30.36) şeklinde olduğu görüldü. Regresyon Grafikleri'nde NMR VLDL yöntemiyle denklemler kıyaslandığında R² değerlerinin çoktan aza doğru VLDL_S (0.3417), VLDL_M (0.2987), VLDL_{eM}, (0.2939) ve VLDL_F (0.1687) sırasını izlediği saptandı. RMSE değerleri azdan çoğa VLDL_{eM} (7.72), VLDL_M (7.84), VLDL_F (8.77), VLDL_S (9.33) şeklinde sıralama gösterdi. MAD değerleri ise sırasıyla VLDL_{eM} (6.25), VLDL_M (6.36), VLDL_F (7.09), VLDL_S (7.32) olarak saptandı.

Tablo 15. 400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR VLDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

	Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi Güven Aralıkları
NMR- VLDLK	VLDLK _F	30.36	0.1687	8.77	7.09 y= 0.23x + 76.50 [0.06-0.38][64.05-88.93]
	VLDLK _S	11.32	0.3417	9.33	7.32 y= 0.38x + 51.73 [0.21-0.55][38.50-64.96]
	VLDLK _M	-17.05	0.2987	7.84	6.36 y= 0.29x + 38.16 [0.14-0.43][27.03-49.28]
	VLDLK _{eM}	-10.46	0.2939	7.72	6.25 y= 0.28x + 43.36 [0.14-0.42][32.41-54.31]

Tablo 16’da farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemlere ait ölçüm değerlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir.

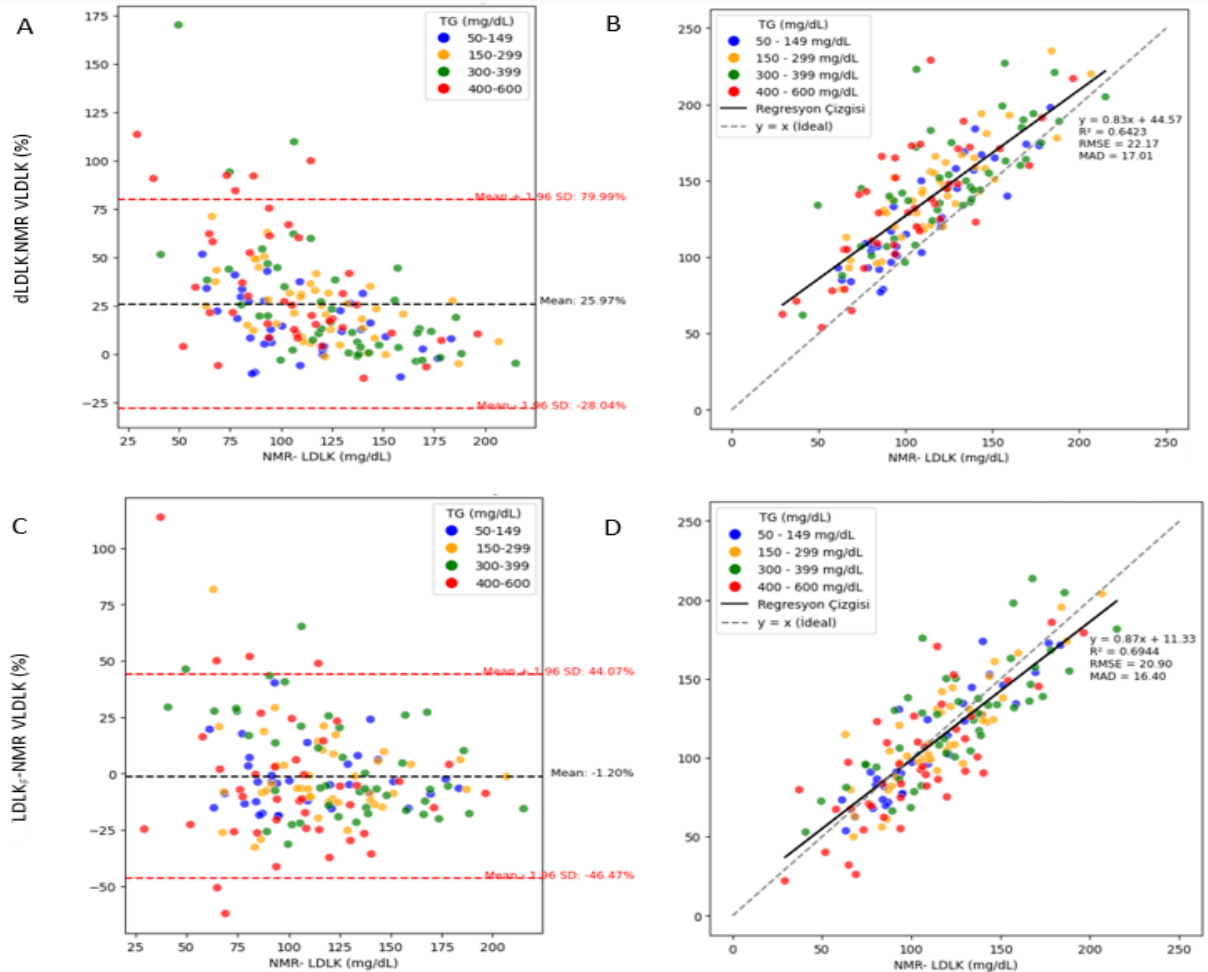
Tablo 16. Triasilgliserol düzeylerine göre NMR-LDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemlere ait ölçüm değerleri

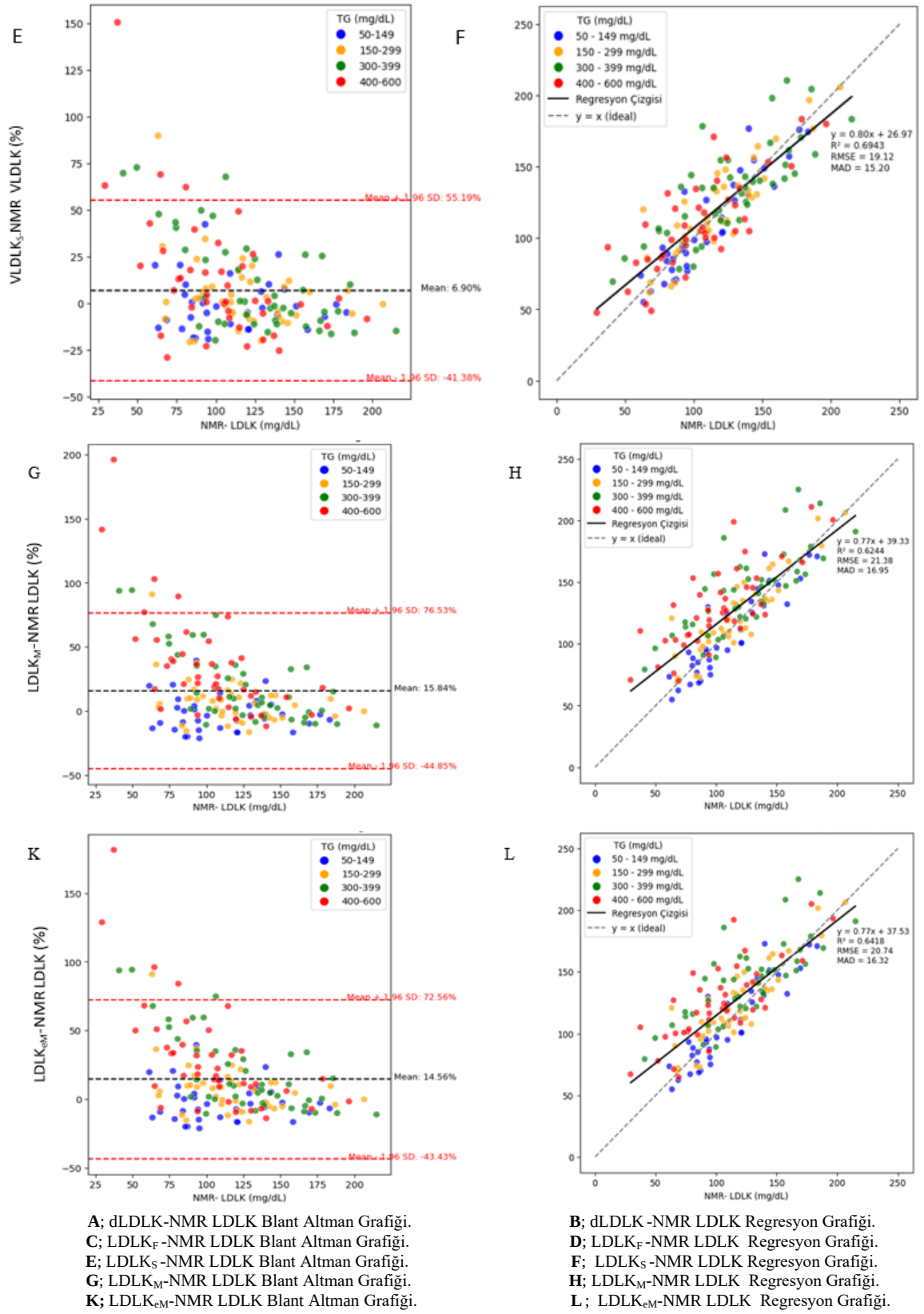
TG Düzeyleri (mg/dL)	NMR-LDLK	LDLK _F	LDLK _S	dLDLK	LDLK _M	LDLK _{eM}
50-600 (N=160)	114±36 (29 -215)	111.4±38 (22 -214)	119±35 (48-210)	139±37 ^{a,b,c} (54 -235)	127±35 ^{a,b,c,d} (55-225)	126±35 ^{a,b,d} (55-225)
50-149 (N=34)	98 [85-135] (61-183)	97 [78-134] (54-174)	98 [80-136] (55-177)	116 [100-157] (77-198)	96 [80-133] (55-173)	96 [80-133] (55-173)
150-299 (N=41)	117±33 (63-207)	115±35 (50-204)	121±33 (62-206)	143±33 ^{a,b,c} (79-235)	124±32 ^d (70-206)	124±32 ^d (70-206)
300-399 (N=44)	126±5.8 (41-215)	126±5.7 (53-214)	133±5 (70-210)	151±6 ^{a,b,c} (62-227)	143±5 ^{a,b} (79-225)	143±5 ^{a,b} (79-225)
400-600 (N=41)	103±36 (29-197)	96±39 (22-186)	109±33 (48-183)	133±41 ^{a,b,c} (54-229)	129±33 ^{a,b,c} (70-211)	125±32 ^{a,b,c} (65-205)

a; NMR-LDLK’dan farklı **b;** LDLK_F ‘den farklı **c;** LDLK_S’den farklı **d;** dLDLK’dan farklı **e;** LDLK_M’den farklı **f;** LDLK_{eM}’den farklı, p<0.05 anlamlı kabul edildi.

Tablo 16'daki farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemlere ait ölçüm değerlerinin karşılaştırılması istatistiksel olarak değerlendirildiğinde toplam çalışma grubunda sırasıyla LDLK_F ve LDLK_S yöntemlerinin NMR-LDLK'ya en yakın sonucu elde ederek istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği bulundu. 50-149 mg/dL TG alt grubunda bütün yöntemler NMR-LDLK yönteminden ve kendi aralarındaki ikili karşılaştırmalarında anlamlı fark saptanmadı. 150-299 mg/dL alt grubunda sırasıyla LDLK_F, LDLK_S, LDLK_M, LDLK_{eM} yöntemleri NMR LDL-K yöntemine en yakın değeri elde ederek anlamlı fark göstermedi. 300-399 mg/dL ve 400-600 mg/dL alt gruplarına bakıldığında LDLK_F ve LDLK_S yöntemleri NMR LDL-K yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 10'da ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 17'de gösterilmiştir.





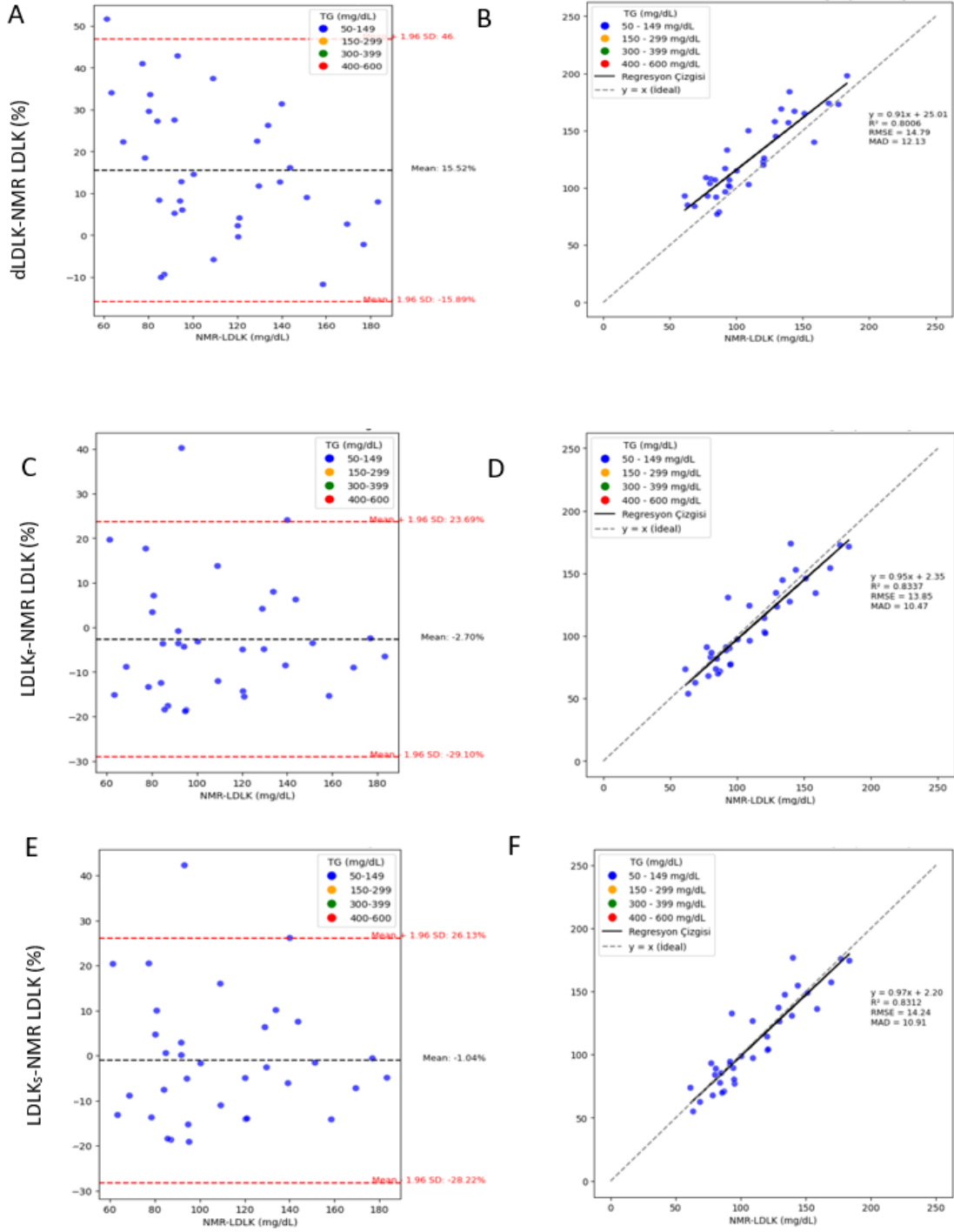
Şekil 10. Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

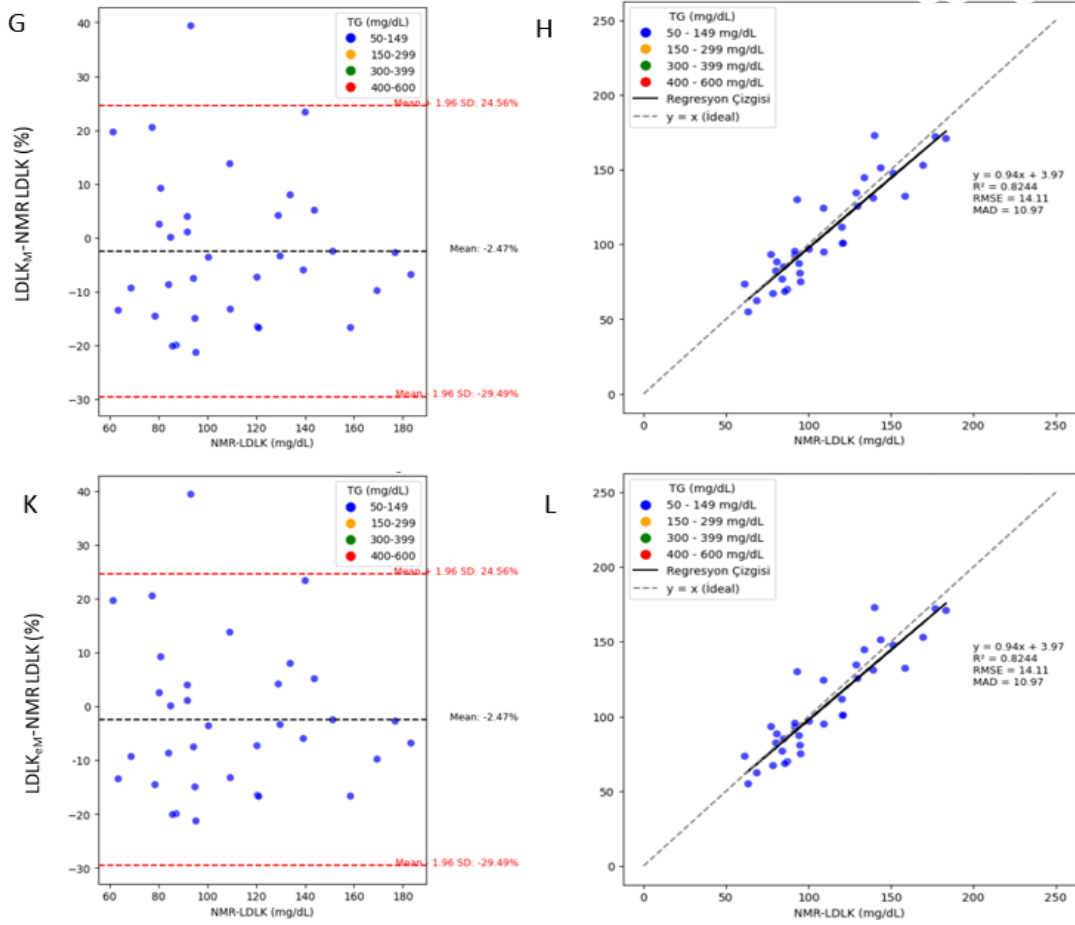
Tablo 17. Farklı TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman (%Fark)	R²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
	dLDLK	25.97	0.6423	22.17	17.01	y=0.83x + 44.57 [0.72-0.92] [32.97-56.16]
	LDLK_F	-1.20	0.6944	20.90	16.40	y=0.87x + 11.33 [0.78-0.96] [0.40-22.26]
NMR- LDLK	LDLK_S	6.90	0.6943	19.12	15.20	y=0.80x + 26.97 [0.71-0.88] [16.96-36.96]
	LDLK_M	15.84	0.6244	21.38	16.95	y=0.77x + 39.33 [0.67-0.85] [28.15-50.52]
	LDLK_{eM}	14.56	0.6418	20.74	16.32	y=0.77x + 37.53 [0.68-0.86] [26.68-48.38]

Şekil 10 ‘da toplam çalışma grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK yöntemiyle kıyaslandığında yöntemler arası farkın azdan çoğa doğru sıralanışı LDLK_F (%-1.20), LDLK_S (%6.90), LDLK_{eM} (%14.56), LDLK_M (%15.84) ve dLDLK (%25.97) şeklinde bulundu. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK yöntemiyle kıyaslandığında R² değerleri LDLK_F (0.6944), LDLK_S (0.6943), dLDLK (0.6423), LDLK_{eM} (0.6418), LDLK_M (0.6244) şeklinde çoktan aza doğru sıralama gösterdi. RMSE değerleri en az olan LDLK_S (19.12) yöntemi olup sırayı LDLK_{eM} (20.74), LDLK_F (20.9), LDLK_M (21.38), dLDLK (22.17)’nin izlediği görüldü. MAD değerlerinde ise azdan çoğa doğru fark LDLK_S (15.20) LDLK_{eM} (16.32), LDLK_F (16.40), LDLK_M (16.95), dLDLK (17.01) yöntemi şeklinde bulundu.

50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 11’de ve grafiklere ait % fark, R^2 , RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 18’de gösterilmiştir.





A; dLDLK -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
C; LDLK_F -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
E; LDLK_S -NMR -LDLK Blant Altman Grafiği.
G; LDLK_M -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
K; LDLK_{eM} -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.

B; dLDLK -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
D; LDLK_F -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
F; LDLK_S -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
H; LDLK_M -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
L; LDLK_{eM} -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.

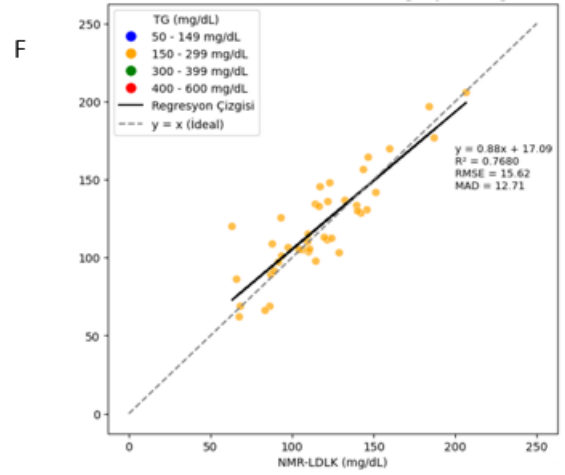
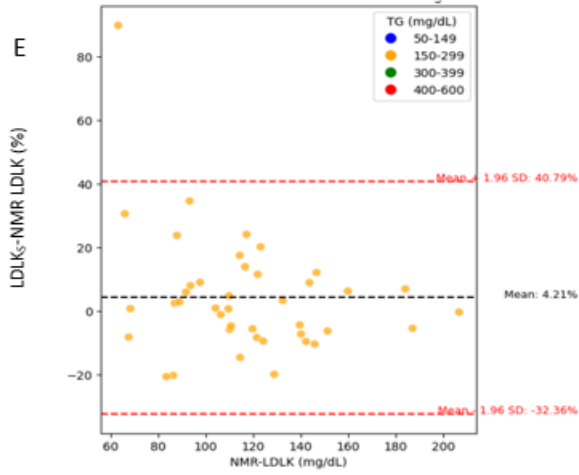
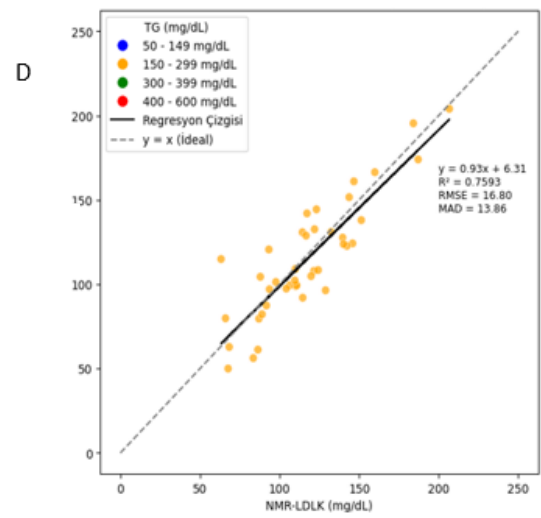
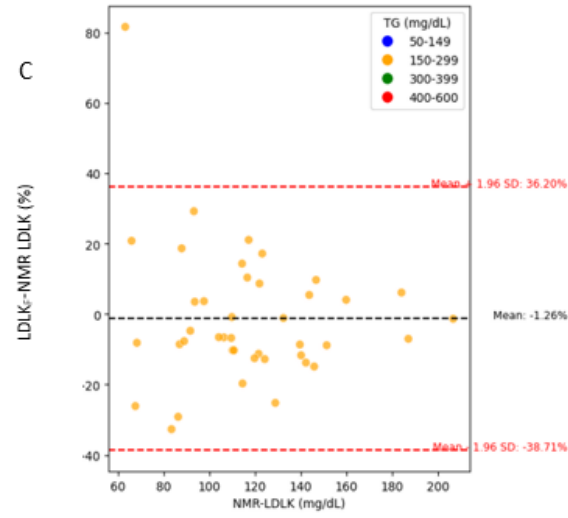
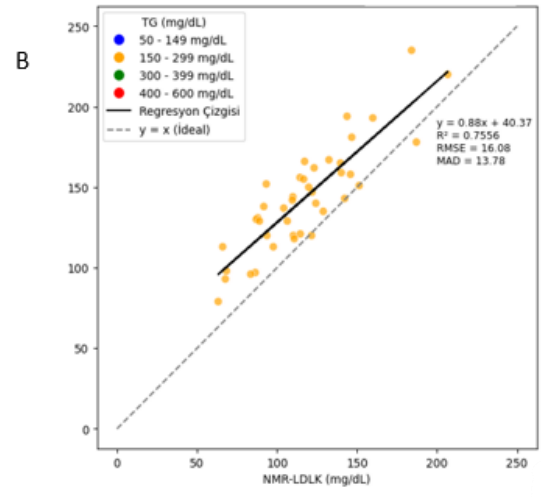
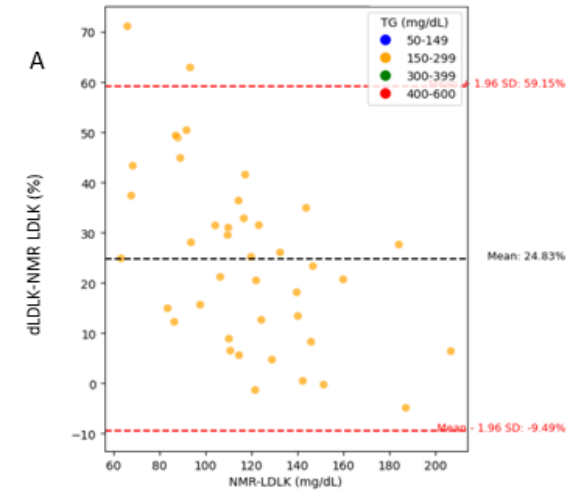
Şekil 11. 50-149 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

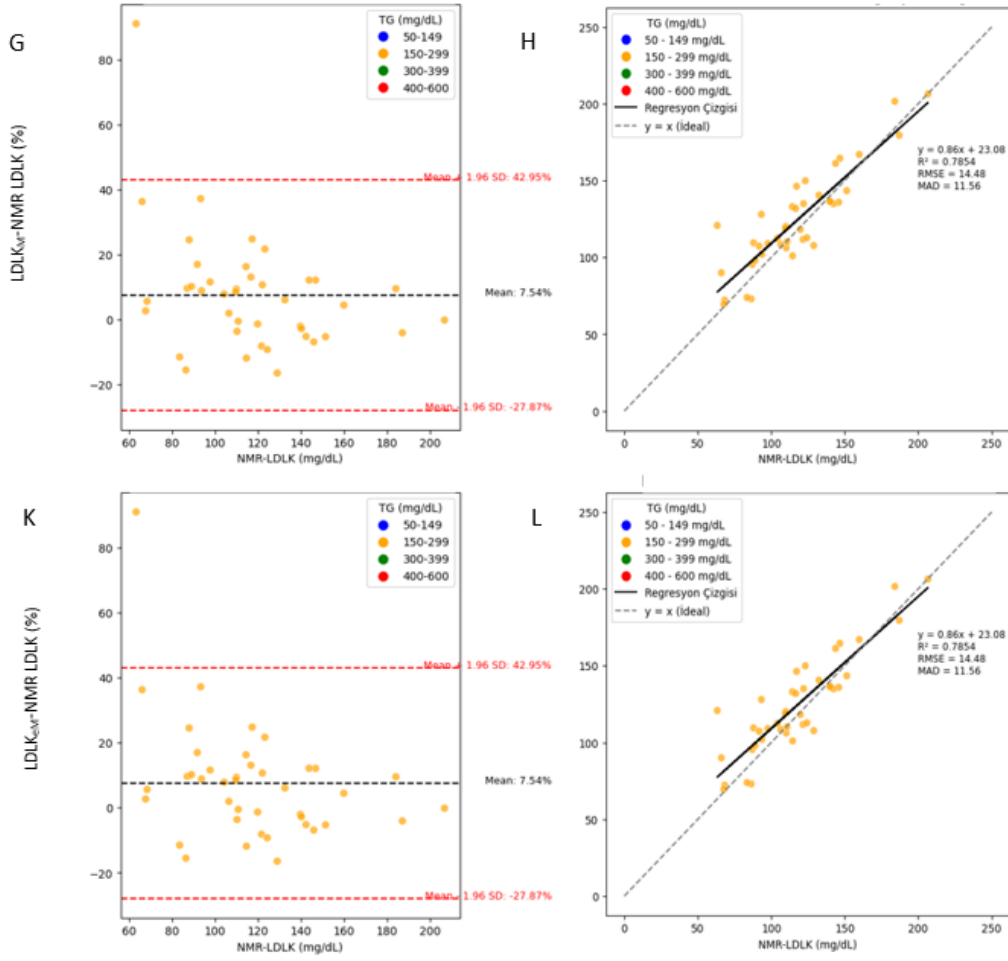
Şekil 11’de 50-149 mg/dL TG alt grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK yöntemiyle farkın azdan çoğa doğru sıralanışının LDLK_S (%-1.04), LDLK_{eM} (%-2.47), LDLK_M (%-2.47), LDLK_F (%-2.70), dLDLK (%15.52) şeklinde olduğu görüldü. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK yöntemiyle kıyaslandığında R² değerleri en yüksek yöntem LDLK_F (0.8337) oldu ve bunu sırasıyla LDLK_S (0.8312), LDLK_{eM}, LDLK_M (0.8244) ve dLDLK (0.8006) yöntemin izlediği tespit edildi. RMSE değerleri azdan çoğa doğru LDLK_F (13.85), LDLK_M, LDLK_{eM} (14.11), LDLK_S (14.24), dLDLK (14.79) olacak şekilde saptandı. MAD değerlerine bakıldığında en az farkın LDLK_F (10.47) yönteminde olduğu bunu sırasıyla LDLK_S (10.91), LDLK_M (10.97), LDLK_{eM} (10.97), dLDLK (12.13) yöntemin takip ettiği görüldü.

Tablo 18. 50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemleri ve Güven Aralığı
	dLDLK	15.52	0.8006	14.79	12.13	y=0.91x + 25.01 [0.74-1.07] [6.24-43.77]
	LDLK_F	-2.70	0.8337	13.85	10.47	y=0.95x + 2.35 [0.79-1.10][-15.22-19.92]
NMR- LDLK	LDLK_S	-1.04	0.8312	14.24	10.91	y=0.97x + 2.20 [0.81-1.12][-15.87-20.26]
	LDLK_M	-2.47	0.8244	14.11	10.97	y=0.94x + 3.97 [0.78-1.09][-13.92-21.87]
	LDLK_{eM}	-2.47	0.8244	14.11	10.97	y=0.94x + 3.97 [0.78-1.09][-13.92-21.87]

50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 12’de ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 19’da gösterilmiştir.





A; dLDLK -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
 C; LDLK_F -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
 E; LDLK_S -NMR -LDLK Blant Altman Grafiği.
 G; LDLK_M -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
 K; LDLK_{EM} -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.

B; dLDLK -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 D; LDLK_F -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 F; LDLK_S -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 H; LDLK_M -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 L; LDLK_{EM} -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.

Şekil 12. 150-299 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

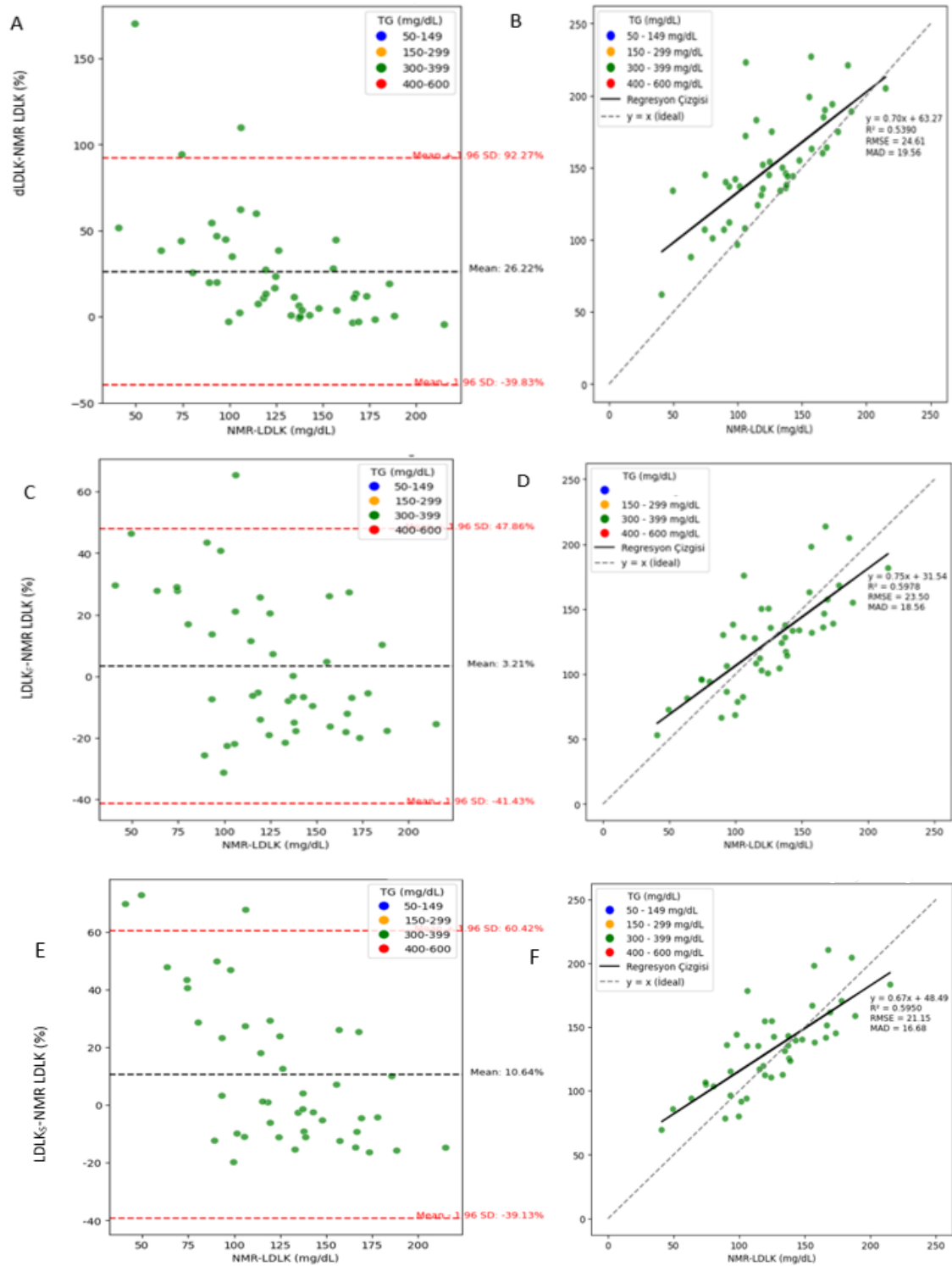
Şekil 12, 150-299 mg/dL triaçilgliserol alt grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK yöntemiyle en az fark gösteren LDLK_F (%-1.26) yöntemi oldu bu sırayı LDLK_S (%4.21), LDLK_M (%7.54), LDLK_{EM} (%7.54), dLDLK (%24.83) yöntemin izlediği görüldü. Regresyon Grafikleri'nde NMR LDLK yöntemiyle kıyaslandığında R^2 değerinin çoktan aza doğru sıralanışının LDLK_M (0.7854), LDLK_{EM} (0.7854), LDLK_S (0.7680), LDLK_F (0.7593) ve dLDLK (0.7556) şeklinde olduğu görüldü. RMSE değerleri en az olan LDLK_M, LDLK_{EM} (14.48) olup bunu sırayla LDLK_S (15.62), dLDLK (16.08), LDLK_F (16.80) yöntemlerinin izlediği tespit edildi. MAD değerlerinde ise

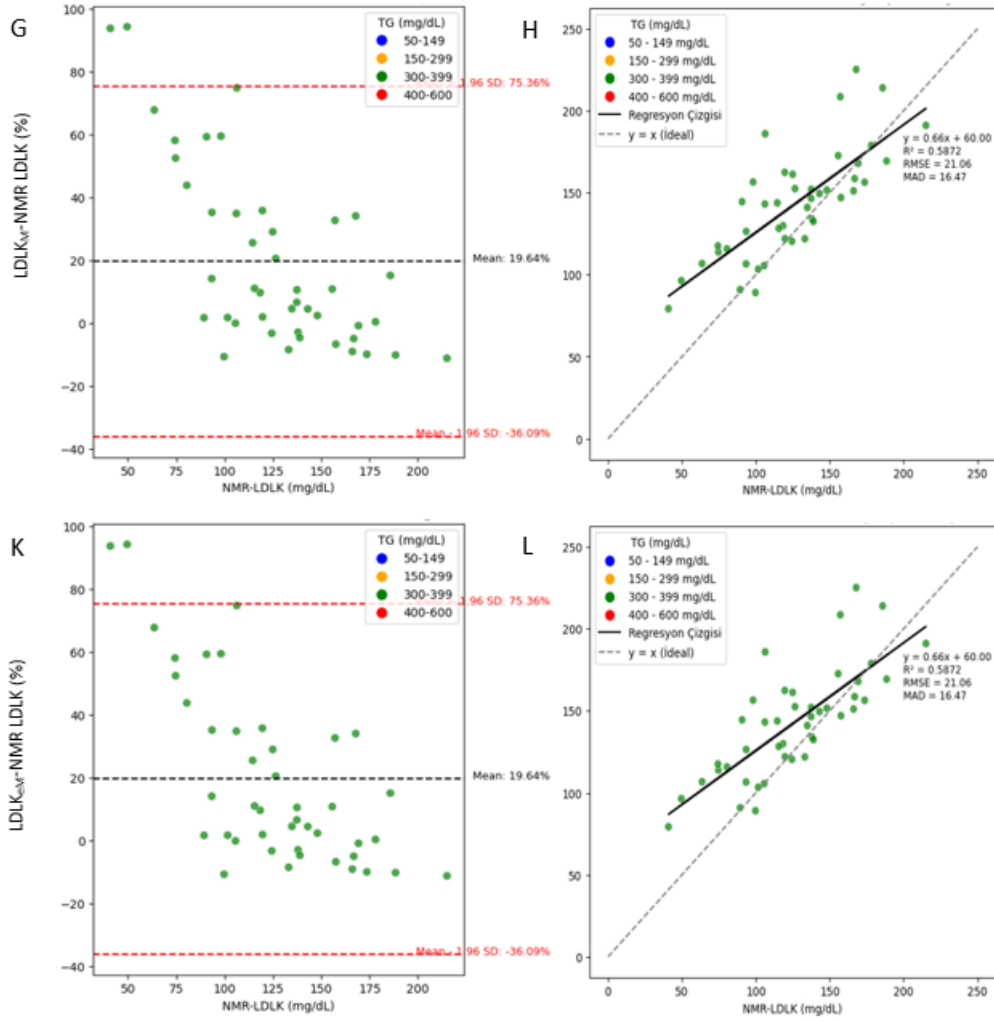
azdan çoğa farkın sıralanışının LDLK_M (11.56), LDLK_{eM} (11.56), LDLK_S (12.71) dLDLK (13.78), LDLK_F (13.86) şeklinde olduğu saptandı.

Tablo 19. 150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
NMR- LDLK	dLDLK	24.83	0.7556	16.08	13.78	y=0.88x + 40.37 [0.71-1.03][20.71-60.03]
	LDLK _F	-1.26	0.7593	16.80	13.86	y=0.93x + 6.31 [0.75-1.09][-14.23-26.84]
	LDLK _S	4.21	0.7680	15.62	12.71	y=0.88x + 17.09 [0.72-1.03][-2.00-36.17]
	LDLK _M	7.54	0.7854	14.48	11.56	y=0.86x + 23.08 [0.71-1.00][5.37-40.78]
	LDLK _{eM}	7.54	0.7854	14.48	11.56	y=0.86x + 23.08 [0.71-1.00][5.37-40.78]

300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 13'te ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 20'de gösterilmiştir.





A; dLDLK -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
C; LDLK_F -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
E; LDLK_S -NMR -LDLK Blant Altman Grafiği.
G; LDLK_M -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
K; LDLK_{eM} -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.

B; dLDLK -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
D; LDLK_F -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
F; LDLK_S -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
H; LDLK_M -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
L; LDLK_{eM} -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.

Şekil 13. 300-399 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

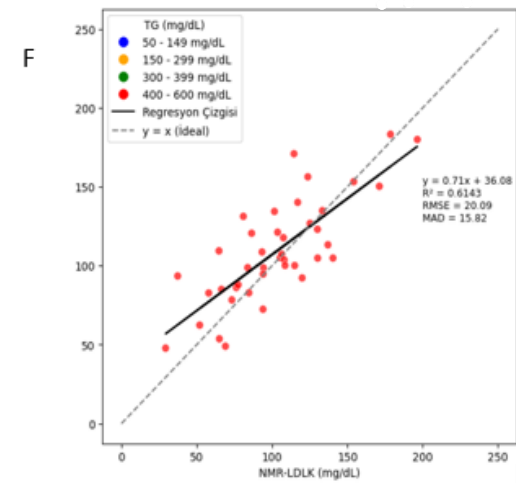
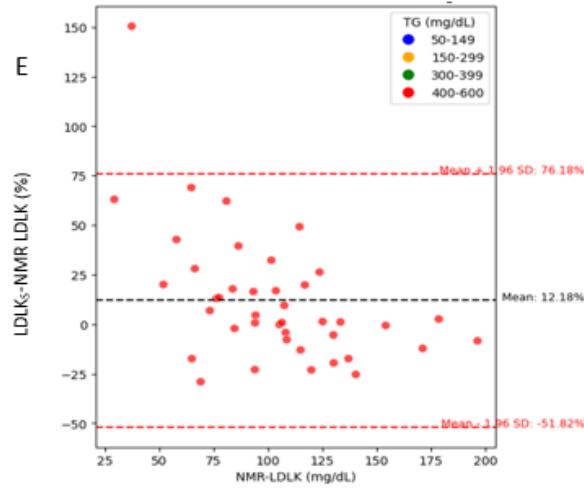
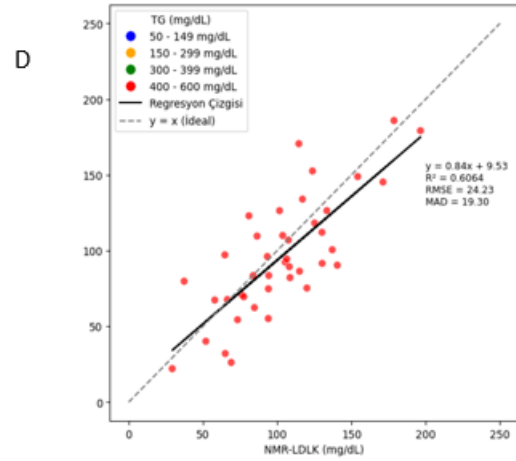
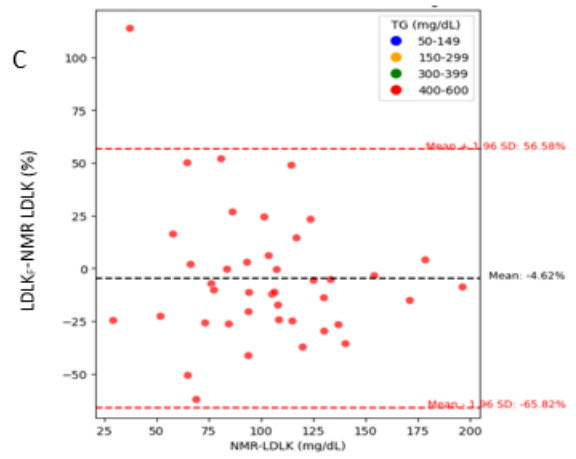
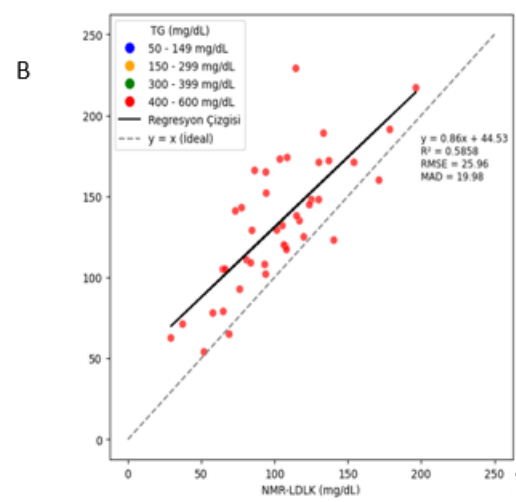
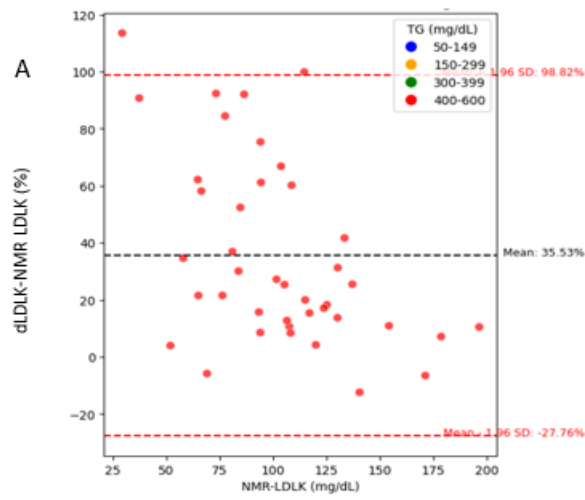
Şekil 13'te 300-399 mg/dL triaçilgliserol alt grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK yöntemiyle fark azdan çoğa doğru LDLK_F (%3.21), LDLK_S (%10.64), LDLK_M (%19.64), LDLK_{eM}, (%19.64), dLDLK (%26.22) yöntem olacak şekilde bulundu. Regresyon Grafikleri'nde NMR-LDLK yöntemiyle kıyaslandığında R^2 değerleri en yüksek olan yöntem LDLK_F (0.5978) oldu ve bu yöntemi sırasıyla LDLK_S (0.5950), LDLK_M (0.5872), LDLK_{eM} (0.5872), dLDLK (0.5390) yönteminin takip ettiği görüldü. RMSE değerlerine bakıldığında NMR-LDLK yönteminin azdan çoğa doğru izlediği sıranın LDLK_M, LDLK_{eM} (21.06), LDLK_S (21.15), LDLK_F

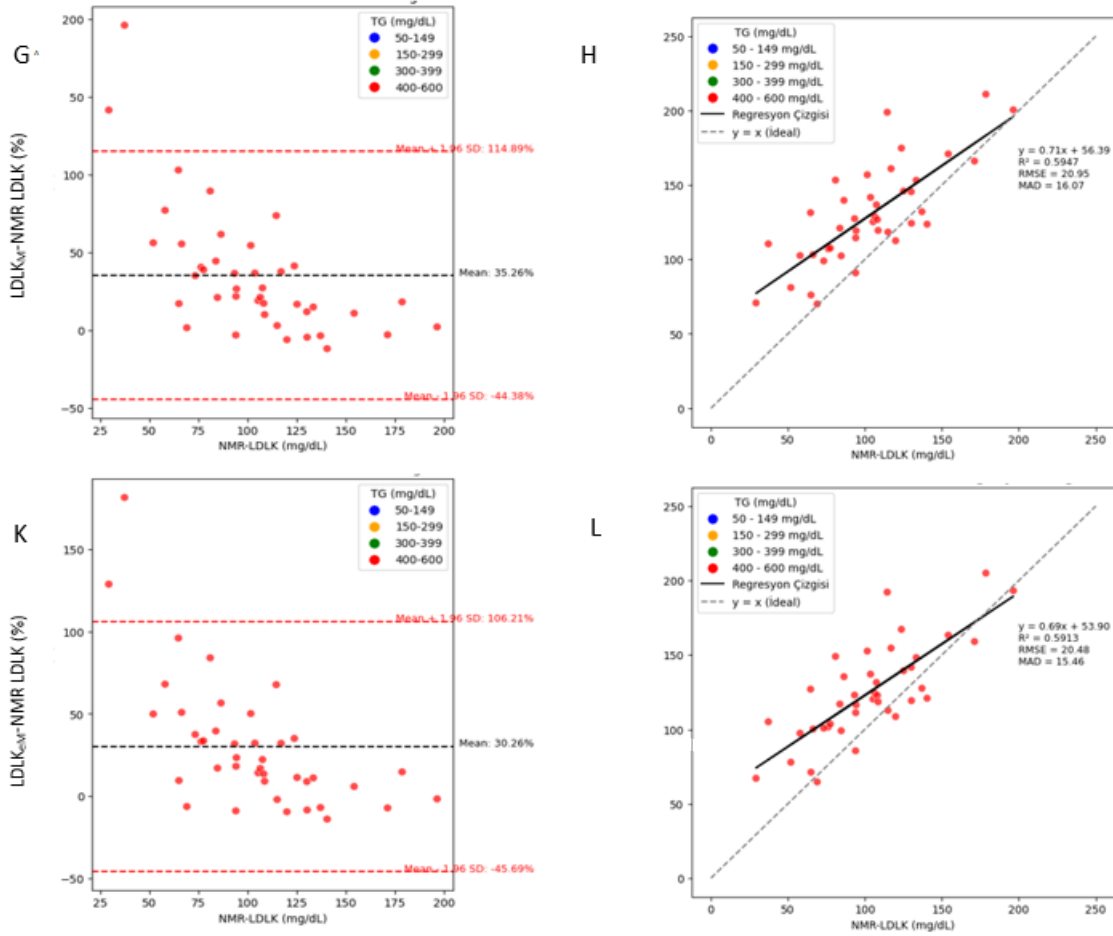
(23.50), dLDLK (24.61) şeklinde olduğu bulundu. MAD değerleri incelendiğinde NMR-LDLK yöntemiyle fark sırasının LDLK_M, LDLK_{eM} (16.47), LDLK_S (16.68), LDLK_F (18.56), dLDLK (19.56) şeklinde olduğu saptandı.

Tablo 20. 300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
NMR- LDLK	dLDLK	26.22	0.5390	24.61	19.56	y=0.70x + 63.27 [0.49-0.89][36.95-89.58]
	LDLK _F	3.21	0.5978	23.50	18.56	y=0.75x + 31.54 [0.55-0.94][6.41-56.66]
	LDLK _S	10.64	0.5950	21.15	16.68	y=0.67x + 48.49 [0.49-0.84][25.86-71.10]
	LDLK _M	19.64	0.5872	21.06	16.47	y=0.66x + 60.00 [0.48-0.82][37.47-82.52]
	LDLK _{eM}	19.64	0.5872	21.06	16.47	y=0.66x + 60.00 [0.48-0.82][37.47-82.52]

400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 14'te ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 21'de gösterilmiştir.





A; dLDLK -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
 C; LDLK_F -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
 E; LDLK_S -NMR -LDLK Blant Altman Grafiği.
 G; LDLK_M -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.
 K; LDLK_{eM} -NMR-LDLK Blant Altman Grafiği.

B; dLDLK -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 D; LDLK_F -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 F; LDLK_S -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 H; LDLK_M -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.
 L; LDLK_{eM} -NMR-LDLK Regresyon Grafiği.

Şekil 14. 400-600 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK ile Diğer Yöntemlere ait blant altman Grafikleri

Şekil 14, 400-600 mg/dL triaçilgliserol alt grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK yöntemiyle en az fark gösteren LDLK_F (%-4.62) yöntemi oldu. Bunu sırasıyla LDLK_S (%12.18), LDLK_{eM}, (%30.26), LDLK_M (%35.26), dLDLK (%35.53) yöntemin izlediği görüldü. Regresyon Grafikleri'nde NMR-LDLK yöntemiyle kıyaslandığında R^2 değeri en yüksek olan yöntem LDLK_S (0.6143)'ydi ve bunu LDLK_F (0.6064), LDLK_M (0.5947), LDLK_{eM} (0.5913), dLDLK (0.5858) yöntemin izlediği bulundu. NMR-LDLK yöntemiyle kıyaslandığında azdan çoğa doğru RMSE değerlerinin LDLK_S (%20.09), LDLK_{eM} (20.48), LDLK_M (20.95), LDLK_F (24.23), dLDLK (25.96) şeklinde olduğu saptandı. MAD değerlerinde ise NMR-LDLK yöntemiyle fark

sırasının LDLK_{eM} (15.46), LDLK_S (15.82), LDLK_M (16.07), LDLK_F (19.30), dLDLK (19.98) şeklinde olduğu görüldü.

Tablo 21. 400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR LDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

	Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
dLDLK	35.53	0.5858	25.96	19.98	y=0.86x + 44.53 [0.62-1.10][18.93-70.12]
LDLK_F	-4.62	0.6064	24.23	19.30	y=0.84x + 9.53 [0.62-1.06][-14.35-33.41]
LDLK_S	12.18	0.6143	20.09	15.82	y=0.71x + 36.08 [0.52-0.89][16.27-55.89]
LDLK_M	35.26	0.5947	20.95	16.07	y=0.71x + 56.39 [0.52-0.90][35.73-77.04]
LDLK_{eM}	30.26	0.5913	20.48	15.46	y=0.69x + 53.90 [0.50-0.87][33.71-74.09]

Tablo 22’de farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemlere ait ölçüm değerlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir.

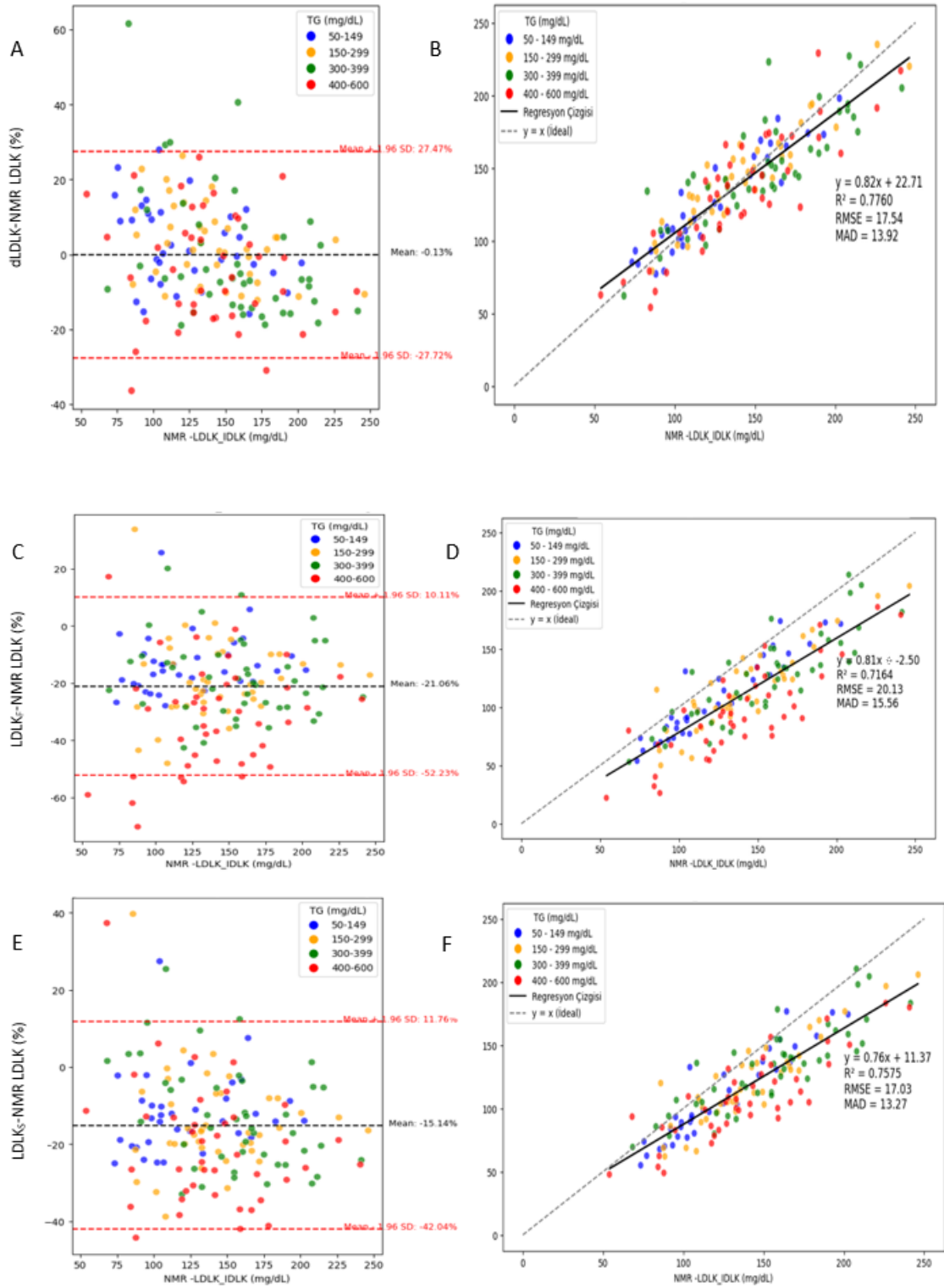
Tablo 22. Triaçilgliserol düzeylerine göre NMR-LDLK+IDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemler arasındaki ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması

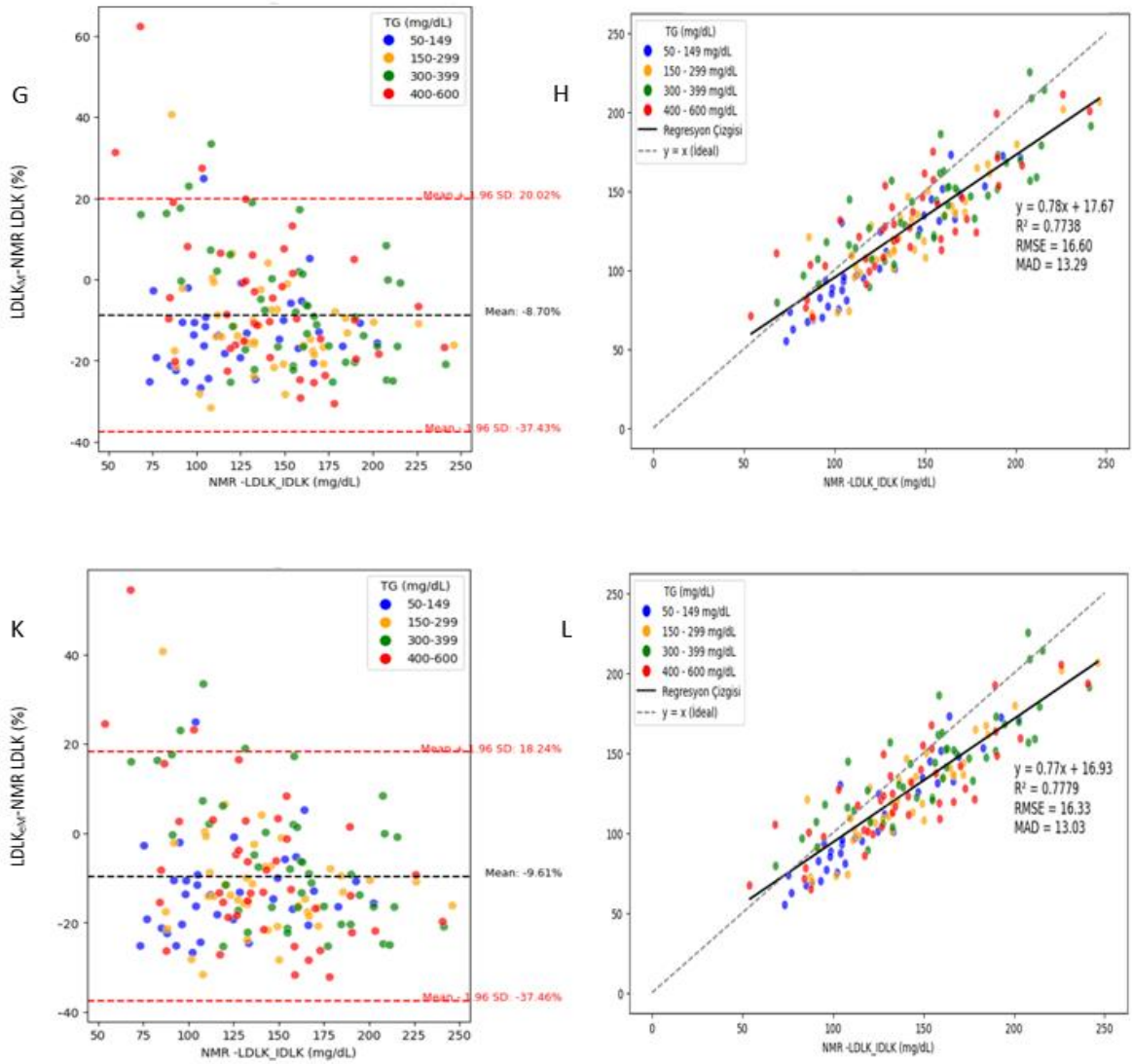
TG Düzeyleri (mg/dL)	NMR-LDLK+IDLK	LDLK _F	LDLK _S	dLDLK	LDLK _M	LDLK _{eM}
50-600 (N=160)	141±40 (54-246)	111±38 ^a (22-214)	119±35 ^a (48-210)	139±37 ^{b,c} (54-235)	127±35 ^{a,b,c,d} (55-225)	126±35 ^{a,b,d} (55-225)
50-149 (N=34)	110 [96-155] (73-203)	97 [78-134] (54-174)	98 [80-136] (55-177)	116 [100-157] (77-198)	96 [80-133] (55-173)	96 [80-133] (55-173)
150-299 (N=41)	141±36 (86-246.3)	115±35 ^a (50.0-204.0)	121±33 ^a (62.0-205.8)	143±33 ^{b,c} (79.0-235.0)	124±32 ^{a,d} (69.5-206.4)	124±32 ^{a,d} (69.5-206.4)
300-399 (N=44)	155±6 (68-242)	126±5.7 ^a (53-214)	133±5 ^a (70-210)	151±6 ^{b,c} (62-227)	143±5 ^b (79-225)	143± ^b (79-225)
400-600 (N=41)	140±41 (54-241)	96±39 ^a (22-186)	109±33 ^a (48-183)	133±41 ^{b,c} (54-229)	129±33 ^{b,c} (70-211)	125±32 ^{b,c} (65-205)

a; NMR-LDLK+IDLK'dan farklı b; LDLK_F 'den farklı c; LDLK_S'den farklı d; dLDLK'dan farklı e; LDLK_M'den farklı f; LDLK_{eM}'den farklı, p<0.05 anlamlı kabul edildi.

Tablo 22'de farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ölçüm yöntemi ve diğer yöntemlere ait ölçüm değerlerinin karşılaştırılması istatistiksel olarak değerlendirildiğinde toplam çalışma grubunda dLDLK ölçüm yöntemi NMR-LDLK+IDLK yöntemine en yakın değer elde etti ve istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi. LDLK_M, LDLK_{eM}, LDLK_S, LDLK_F yöntemleri ise sırayla NMR-LDLK+IDLK'dan daha düşük değerler elde ederek anlamlı fark gösterdi. 50-149 mg/dL TG alt grubunda bütün yöntemlerin NMR-LDLK+IDLK ve birbirleri arasında ikili karşılaştırmasında anlamlı fark bulunmadı. 150-299 mg/dL TG alt grubunda NMR-LDLK+IDLK yöntemine en yakın sonuç veren dLDLK yöntemi olup, yöntemler arasında anlamlı fark bulunmadı. LDLK_M, LDLK_{eM}, LDLK_S, LDLK_F yöntemleri sırasıyla NMR-LDLK+IDLK'dan daha düşük sonuca ulaşarak ve anlamlı fark gösterdi. 300-399 mg/dL TG alt grubunda NMR-LDLK+IDLK yöntemine en yakın sonuç veren sırayla dLDLK, LDLK_M, LDLK_{eM} yöntemleri olup anlamlı farklılık bulunmadı. LDLK_S ve LDLK_F ise daha düşük sonuç elde ederek anlamlı fark gösterdi. 400-600 mg/dL TG alt grubunda NMR-LDLK+IDLK yöntemlerine en yakın değer veren ve anlamlı fark olmayan yöntemlerin dLDLK, LDLK_M, LDLK_{eM} olduğu saptandı. LDLK_S, LDLK_F yöntemleri ise sırayla daha düşük sonuç elde ederek anlamlı fark gösterdi.

Farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 15'te ve grafiklere ait % fark, R^2 , RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 23'te gösterilmiştir.





A; dLDLK-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
 C; LDLK_F-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
 E; LDLK_S- NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
 G; LDLK_M-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
 K; LDLK_{eM}-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.

B; dLDLK - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği
 D; LDLK_F - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.
 F; LDLK_S- NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.
 H; LDLK_M- NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.
 L; LDLK_{eM}- NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.

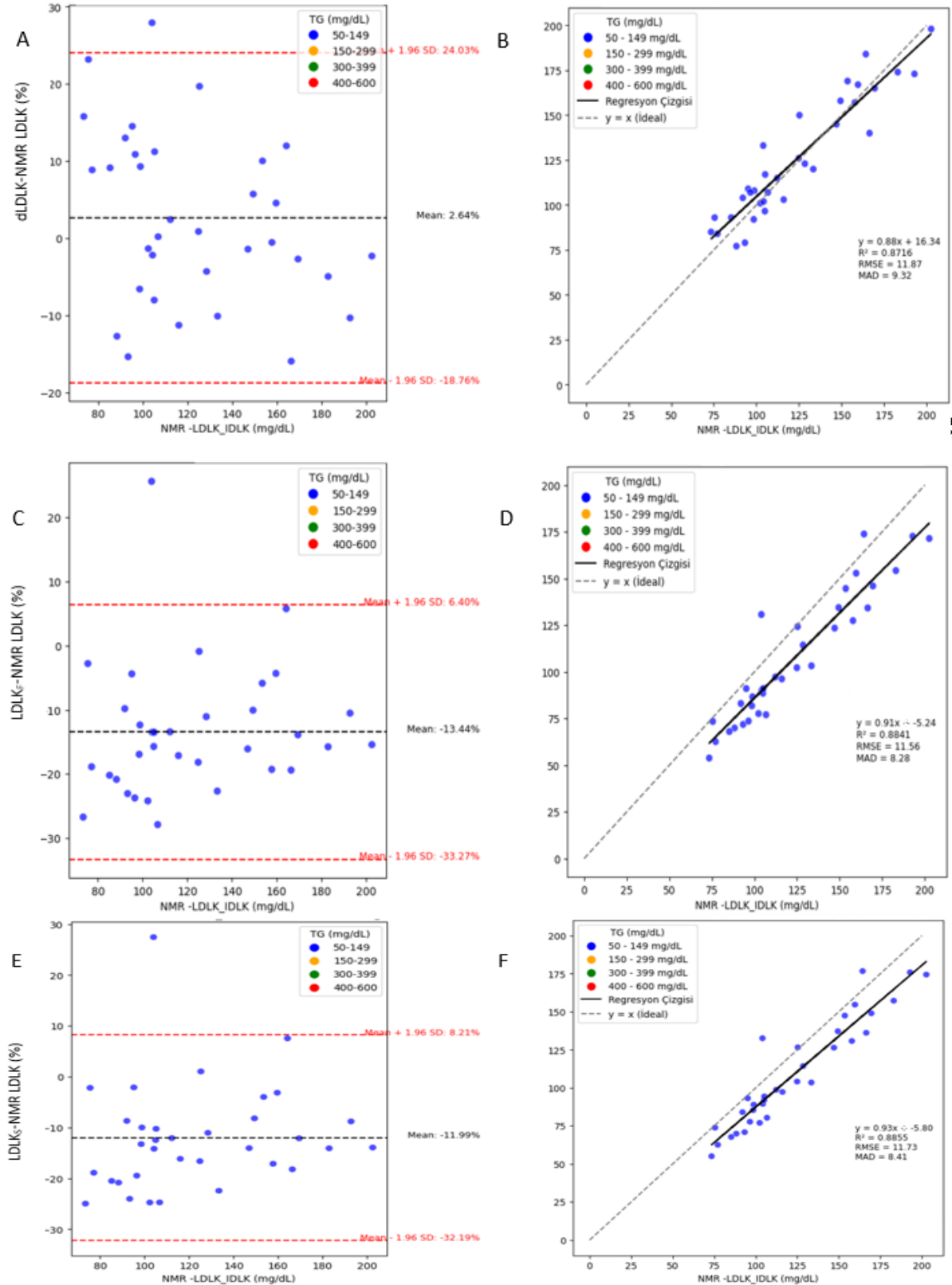
Şekil 15. Farklı triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

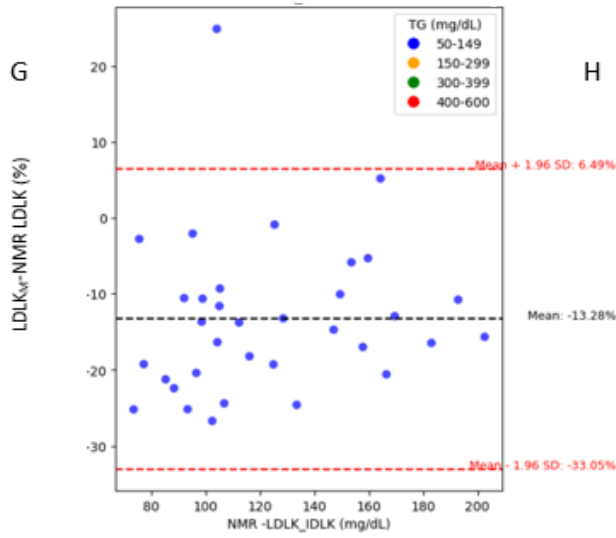
Tablo 23. Farklı TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

	Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı	
NMR- LDLK+IDLK	dLDLK	-0.13	0.7760	17.54	13.92	y=0.82x + 22.71 [0.75-0.89] [12.52-32.90]
	LDLK _F	-21.06	0.7164	20.13	15.56	y=0.81x – 2.50 [0.72-0.88] [-14.18-9.19]
	LDLK _S	-15.14	0.7575	17.03	13.27	y=0.76x + 11.37 [0.70-0.84] [8.03-27.30]
	LDLK _M	-8.70	0.7738	16.60	13.29	y=0.78x + 17.67 [0.69-0.82] [1.47-21.25]
	LDLK _{eM}	-9.61	0.7779	16.33	13.03	y=0.77x + 16.93 [0.70-0.83] [7.44-26.41]

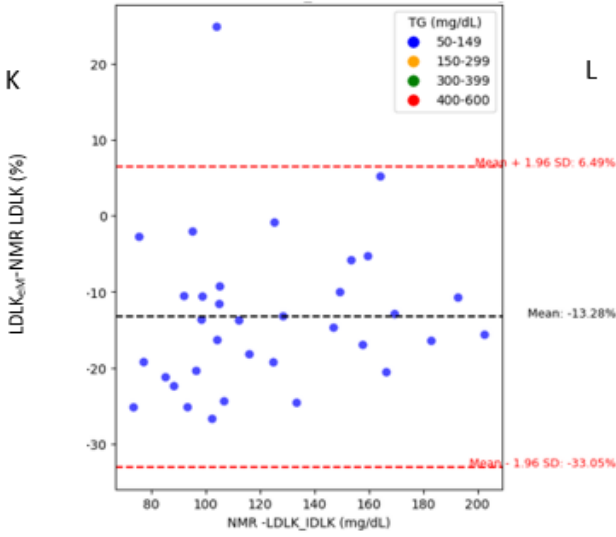
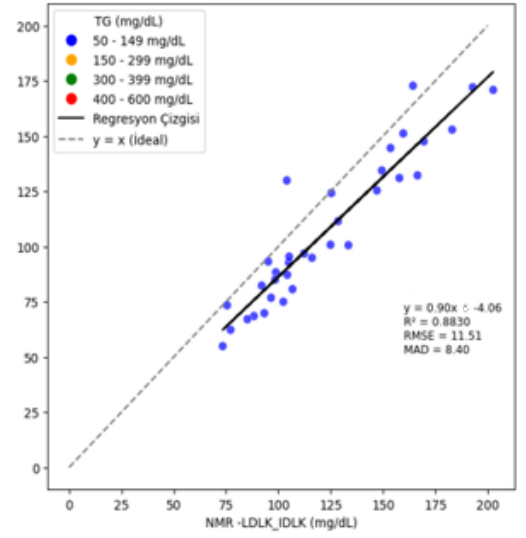
Şekil 15’te, toplam çalışma grubunda yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle en az fark gösteren dLDLK (%-0.13) yöntemi oldu ve bunu sırasıyla LDLK_M (%-8.70), LDLK_{eM}, (%-9.61), LDLK_S (%-15.14), LDLK_F (%-21.06) yönteminin izlediği görüldü. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle kıyaslandığında R² değerleri en yüksek olan LDLK_{eM} (0.7779)’ydi ve bunu sırasıyla dLDLK (0.7760), LDLK_M (0.7738), LDLK_S (0.7575), LDLK_F (0.7164) yöntemlerinin izlediği saptandı. NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle kıyaslandığında RMSE değerlerinin azdan çoğa doğru sırayla LDLK_{eM} (16.33), LDLK_M (16.60), LDLK_S (17.03), dLDLK (17.54), LDLK_F (20.13) şeklinde olduğu bulundu. MAD değerlerinin ise LDLK_{eM} (13.03), LDLK_S (13.27), LDLK_M (13.29), dLDLK (13.92), LDLK_F (15.56) şeklinde olduğu saptandı.

50-149 mg/dL düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 16'da ve grafiklere ait % fark, R^2 , RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 24'te gösterilmiştir.

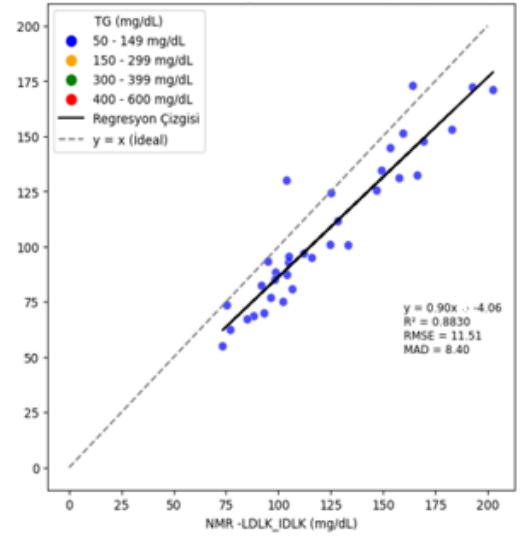




H



L



A; dLDLK-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
C; LDLK_F-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
E; LDLK_S- NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
G; LDLK_M-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.
K; LDLK_{eM}-NMR LDLK+IDLK Blant Altman Grafiği.

B; dLDLK - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği
D; LDLK_F - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.
F; LDLK_S - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.
H; LDLK_M - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.
L; LDLK_{eM} - NMR LDLK+IDLK Regresyon Grafiği.

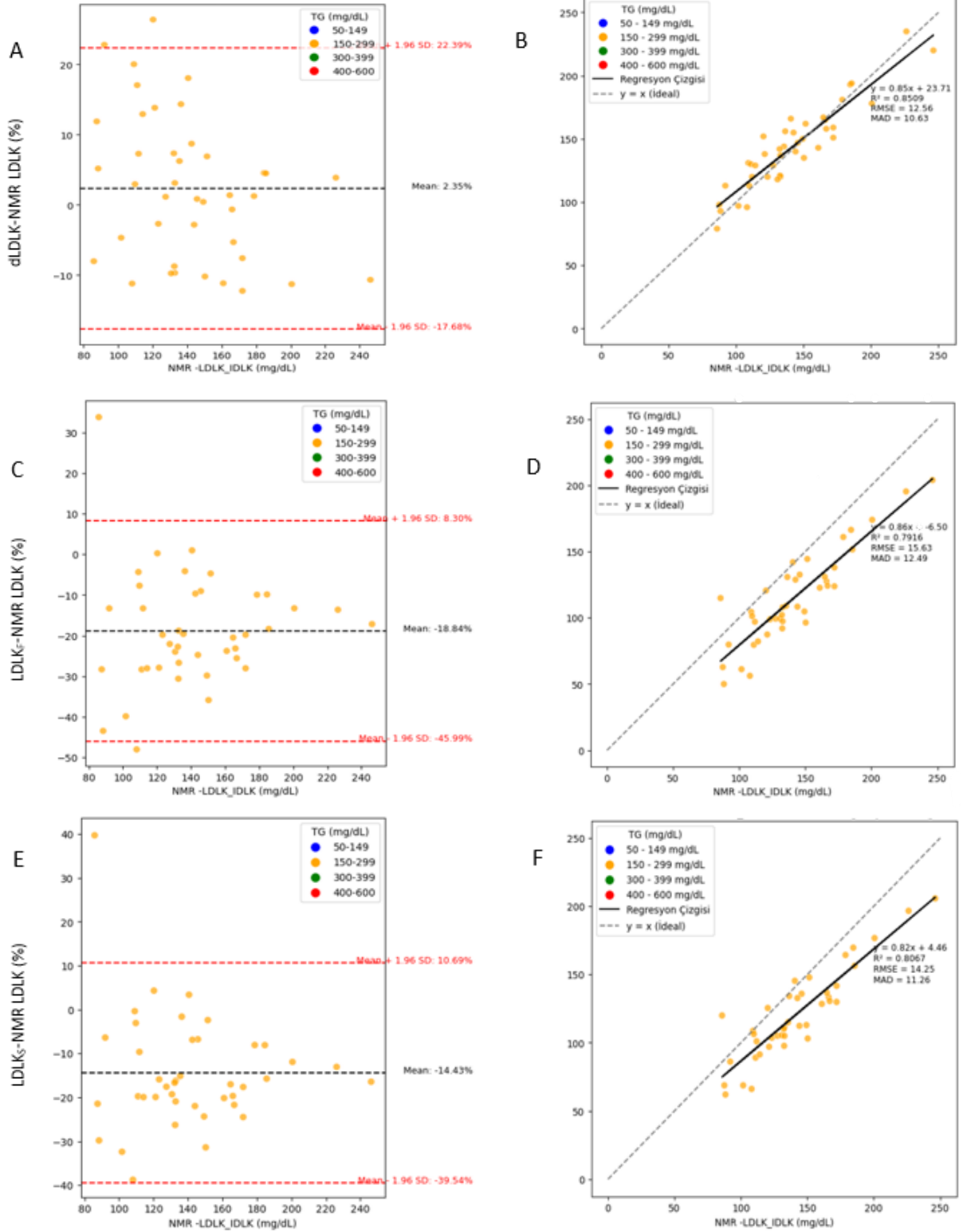
Şekil 16. 50-149 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

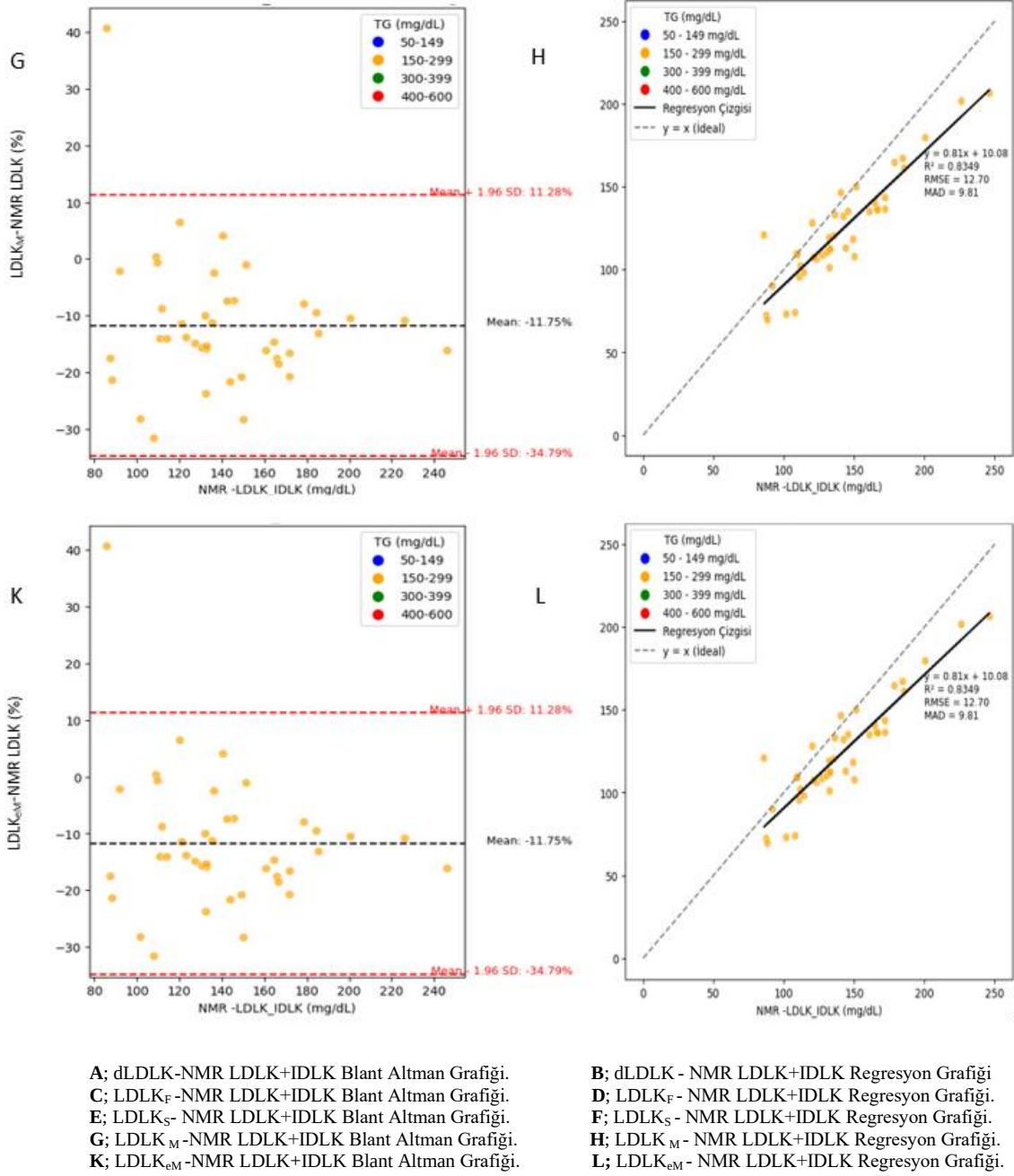
Şekil 16’da 50-149 mg/dL TG düzeyinde yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle en az fark gösteren dLDLK (%2.64) yöntemi ve bunu sırayla LDLK_S (%-11.99), LDLK_M (%-13.28), LDLK_{eM}, (%-13.28), LDLK_F (%-13.44) yöntemlerinin izlediği saptandı. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle kıyaslandığında R² değeri en yüksek olan LDLK_S (0.8855) yöntemi olup bunları LDLK_F (0.8841), LDLK_M (0.8830), LDLK_{eM} (0.8830), dLDLK (0.8716) yöntemin izlediği görüldü. RMSE değerlerinin azdan çoğa doğru LDLK_{eM} (11.51), LDLK_M (11.51), LDLK_F (11.56), LDLK_S (11.73), dLDLK (11.87) şeklinde olduğu bulundu. MAD değerlerinin ise sırayla LDLK_F (8.28), LDLK_M (8.40), LDLK_{eM} (8.40), LDLK_S (8.41), dLDLK (9.32) şeklinde olduğu görüldü.

Tablo 24. 50-149 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

	Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
NMR- LDLK+IDLK	dLDLK	2.64	0.8716	11.87	9.32 y=0.88x + 16.34 [0.76-1.00][0.70-31.97]
	LDLK _F	-13.44	0.8841	11.56	8.28 y=0.91x – 5.24 [0.79-1.03][-20.46-9.99]
	LDLK _S	-11.99	0.8855	11.73	8.41 y=0.93x -5.8 [0.81-1.05][-21.24-9.65]
	LDLK _M	-13.28	0.8830	11.51	8.40 y=0.90x - 4.06 [0.78-1.02][-19.22-11.10]
	LDLK _{eM}	-13.28	0.8830	11.51	8.40 y=0.90x - 4.06 [0.78-1.02][-19.22-11.10]

150-299 mg/dL düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 17’de ve grafiklere ait % fark, R^2 , RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 25’te gösterilmiştir.





Şekil 17. 150-299 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafikleri

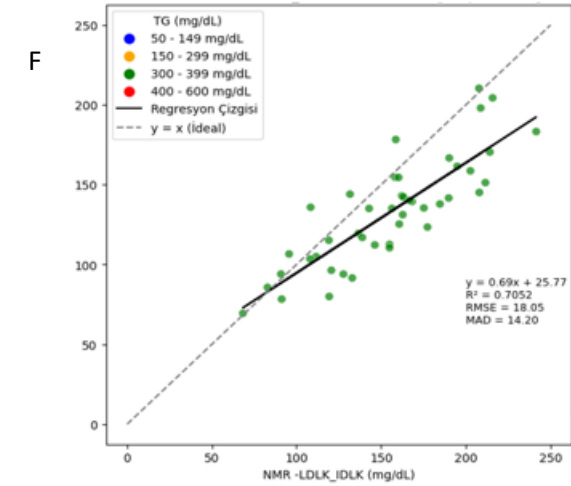
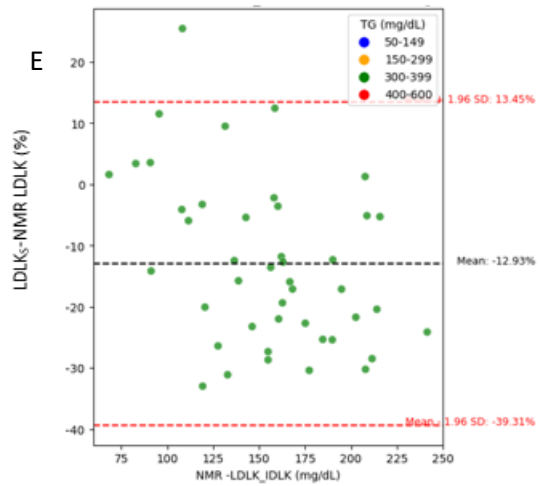
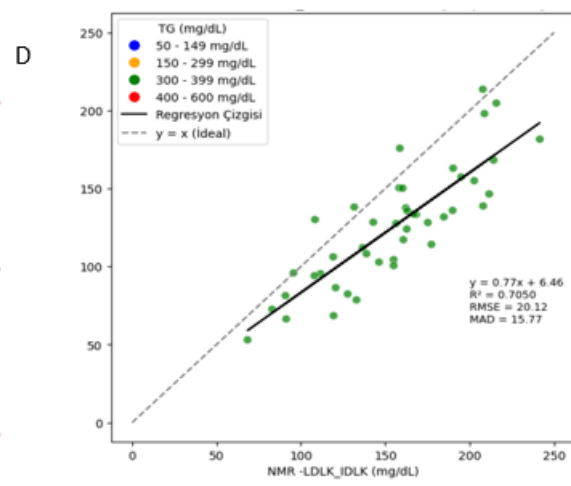
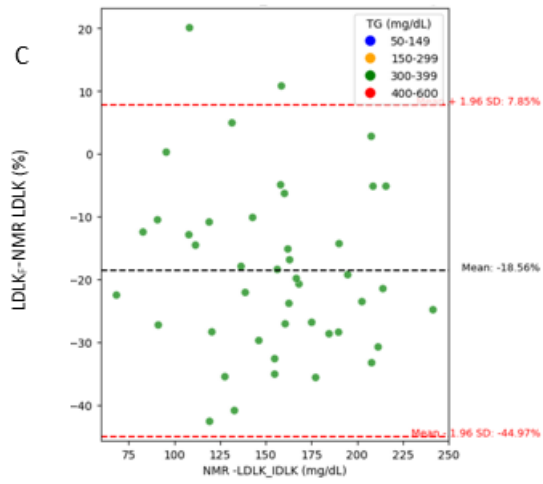
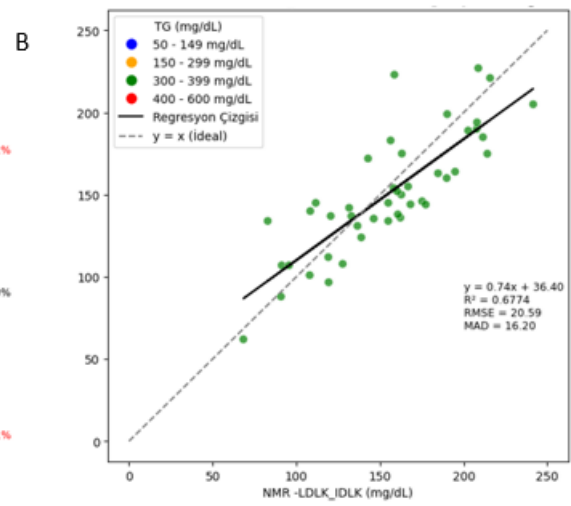
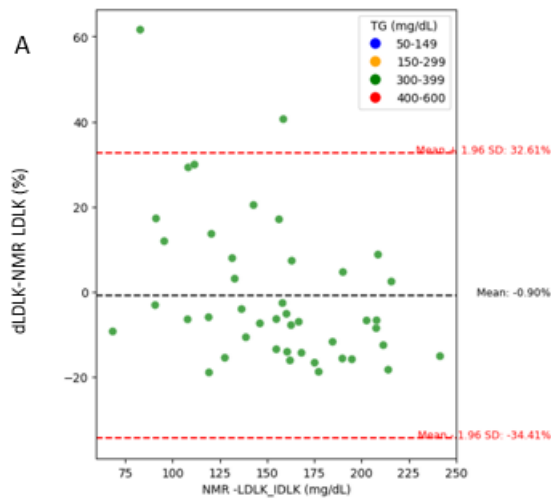
Şekil 17’de, 150-299 mg/dL TG düzeyinde NMR-LDLK+IDLK ve diğer yöntemler arası fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle en az fark gösteren yöntem dLDLK (%2.35) oldu ve bunu sırasıyla LDLKM (%-11.75), LDLK_{EM}, (%-11.75), LDLK_S (%-14.43), LDLK_F (%-18.84) yönteminin izlediği görüldü. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle kıyaslandığında R^2 değerleri en yüksek olan dLDLK (0.8509) yöntemi idi ve bunu sırasıyla LDLKM (0.8349), LDLK_{EM}

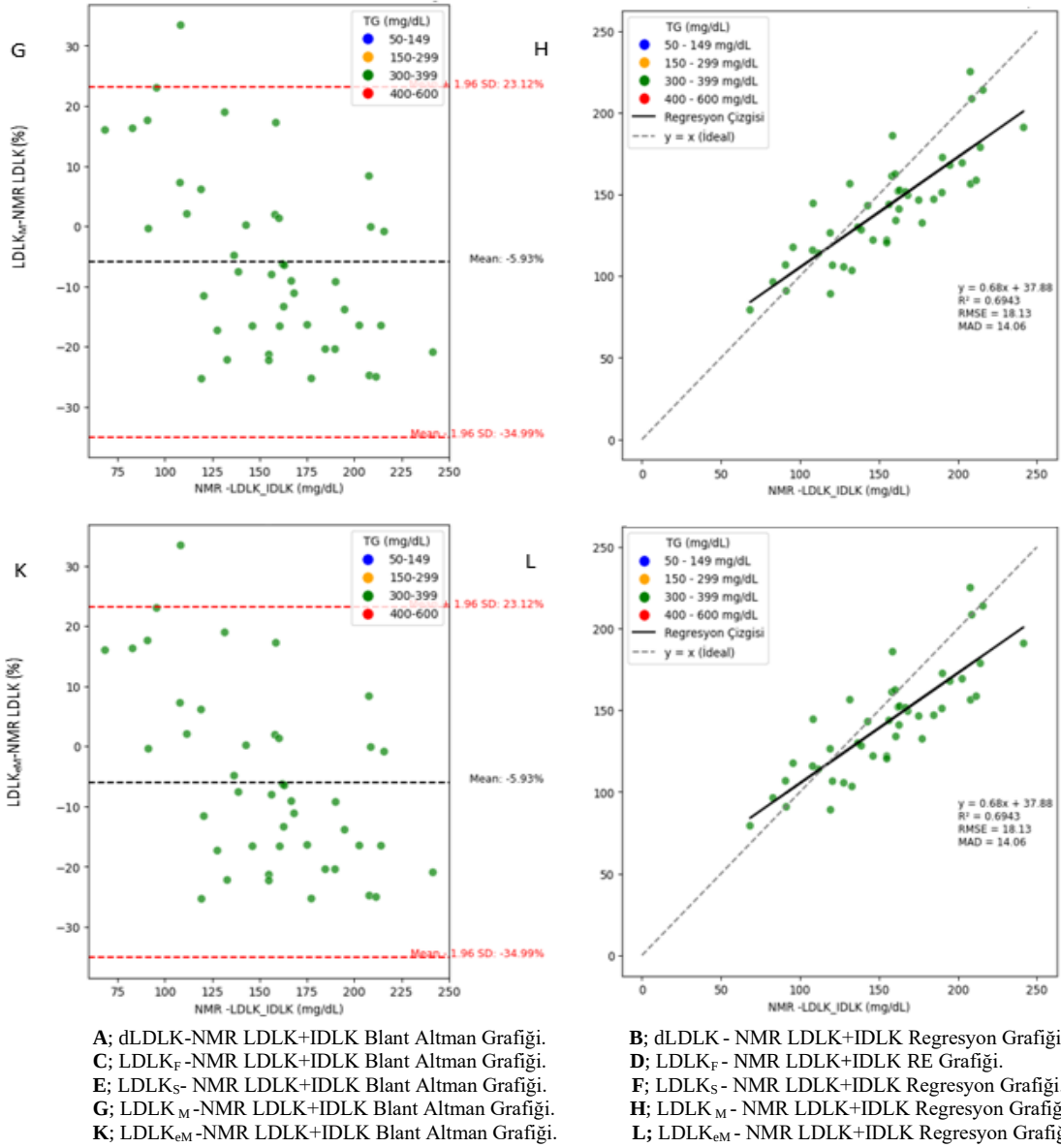
(0.8349), LDLK_S (0.8067) LDLK_F (0.7916) yöntemlerinin izlediği saptandı. RMSE değerlerinin azdan çoğa doğru sıralanışının dLDLK (12.56), LDLK_M (12.70), LDLK_{eM} (12.70), LDLK_S (14.25), LDLK_F (15.63) şeklinde olduğu görüldü. MAD değerlerinin ise sırayla LDLK_M (9.81), LDLK_{eM} (9.81), dLDLK (10.63), LDLK_S (11.26), LDLK_F (12.49) şeklinde olduğu görüldü.

Tablo 25. 150-299 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
NMR- LDLK+IDLK	dLDLK	2.35	0.8509	12.56	10.63	y=0.85x + 23.71 [0.73-0.96][6.99-40.42]
	LDLK _F	-18.84	0.7916	15.63	12.49	y=0.86x – 6.50 [0.71-1.00][-27.30-14.30]
	LDLK _S	-14.43	0.8067	14.25	11.26	y=0.82x + 4.46 [0.69-0.95][-14.50-23.41]
	LDLK _M	-11.75	0.8349	12.70	9.81	y=0.81x +10.08 [0.68-0.92][-6.82-26.98]
	LDLK _{eM}	-11.75	0.8349	12.70	9.81	y=0.81x +10.08 [0.68-0.92][-6.82-26.98]

300-399 mg/dL düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 18’de ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 26’da gösterilmiştir.





Şekil 18. 300-399 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman grafikleri

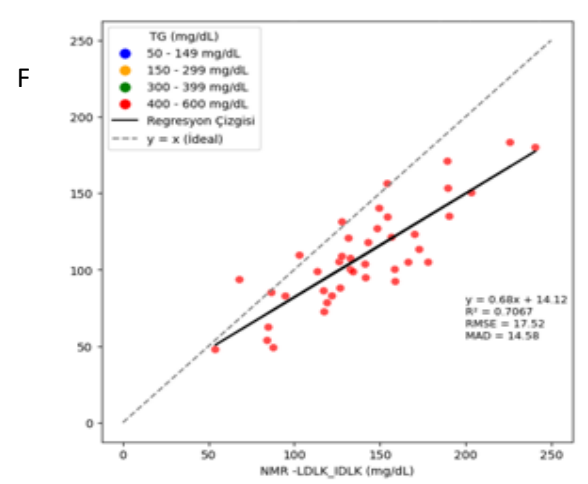
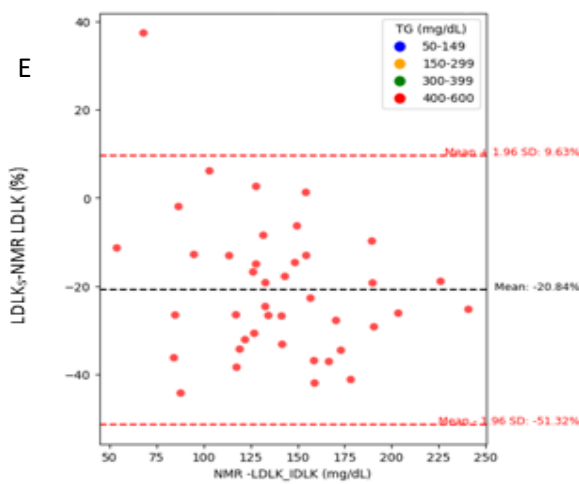
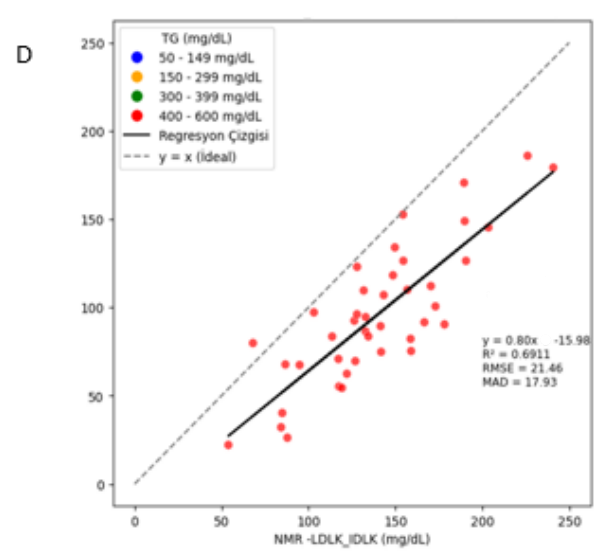
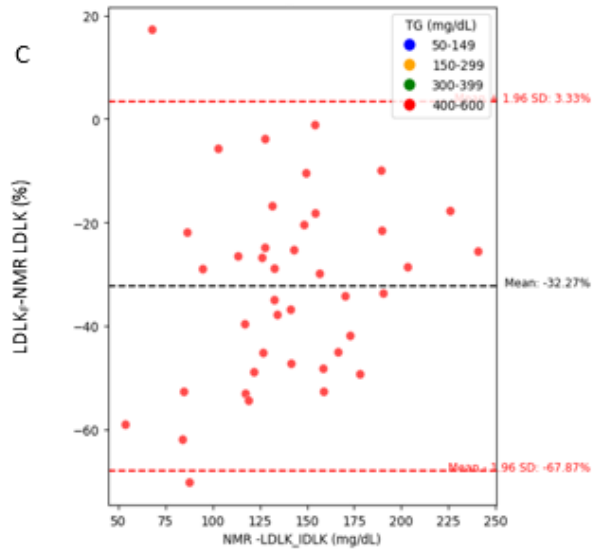
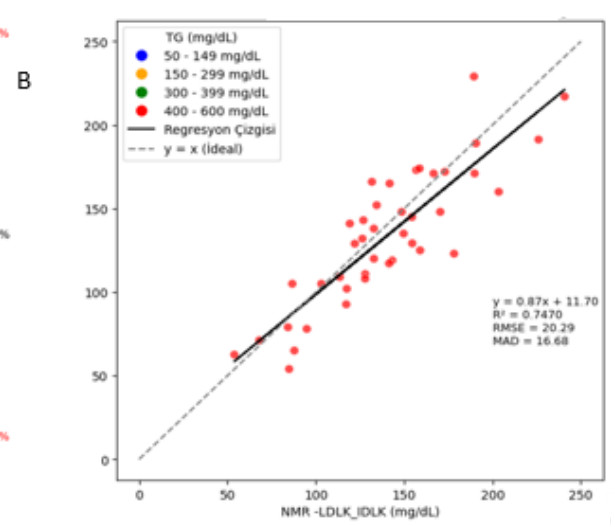
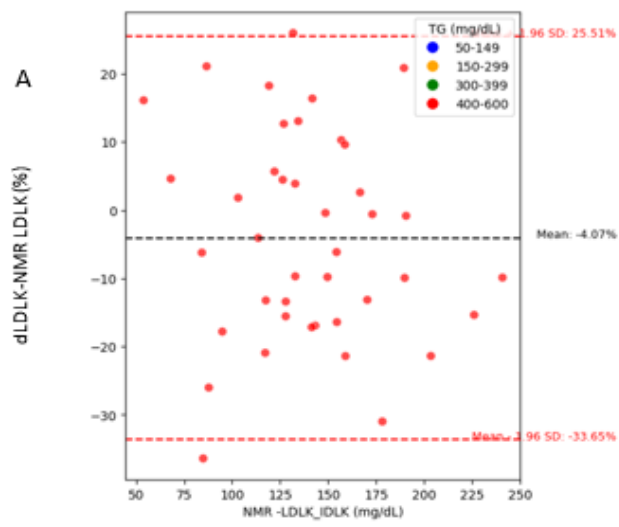
Şekil 18’de, 300-399 mg/dL triaçilgliserol düzeyinde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle diğer yöntemler arasındaki fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle en az fark gösteren dLDLK (%-0.90) yöntemi, bunu sırasıyla LDLK_M (%-5.93), LDLK_{eM}, (%-5.93), LDLK_S (%-12.93), LDLK_F (%-18.56) yöntemlerinin izlediği görüldü. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle kıyaslandığında R^2 değeri en yüksek olan LDLK_S (0.7052)’yi sırasıyla LDLK_F (0.7050), LDLK_M (0.6943), LDLK_{eM} (0.6943), dLDLK (0.6774) yöntemin izlediği görüldü. RMSE değerlerine bakıldığında sırayı azdan çoğa doğru LDLK_S (18.05), LDLK_M (18.13), LDLK_{eM} (18.13),

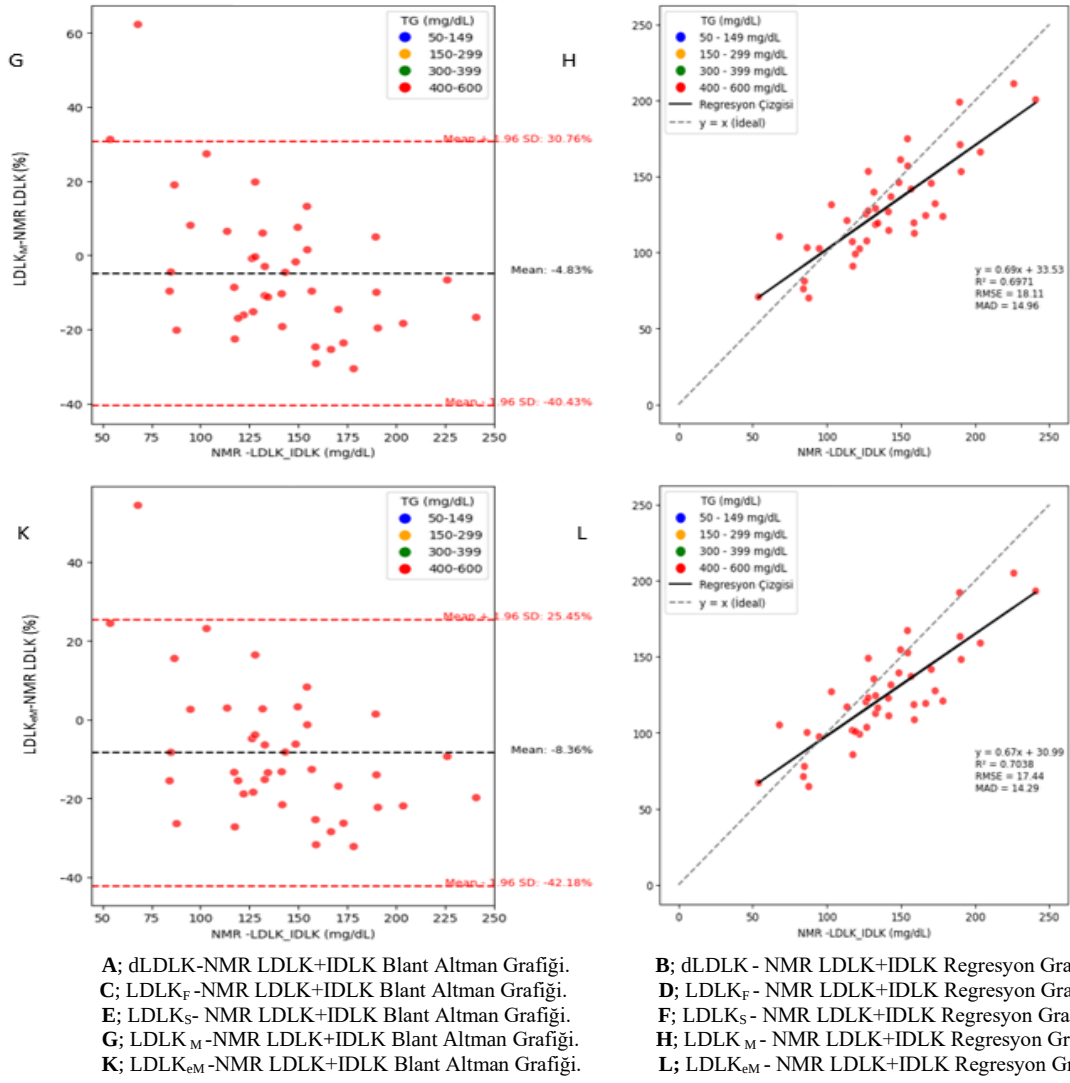
LDLK_F (20.12), dLDLK (20.59) yöntemlerinin takip ettiği görüldü. MAD değerlerinin ise LDLK_M (14.06), LDLK_{eM} (14.06), LDLK_S (14.20), LDLK_F (15.77), dLDLK (16.20) şeklinde sıra izlediği saptandı.

Tablo 26. 300-399 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

		Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
NMR- LDLK+IDLK	dLDLK	-0.90	0.6774	20.59	16.20	y=0.74x + 36.40 [0.57-0.89][11.01-61.77]
	LDLK _F	-18.56	0.7050	20.12	15.77	y=0.77x + 6.46 [0.61-0.92][-18.34-31.27]
	LDLK _S	-12.93	0.7052	18.05	14.20	y=0.69x + 25.77 [0.55-0.82][3.52-48.02]
	LDLK _M	-5.93	0.6943	18.13	14.06	y=0.68x + 37.88 [0.53-0.81][15.52-60.22]
	LDLK _{eM}	-5.93	0.6943	18.13	14.06	y=0.68x + 37.88 [0.53-0.81][15.52-60.22]

400-600 mg/dL düzeylerinde NMR-LDLK ile diğer yöntemlere ait Blant Altman ve Regresyon Grafikleri Şekil 19'da ve grafiklere ait % fark, R², RMSE, MAD değerleri ile denklem ve güven aralıkları Tablo 27'de gösterilmiştir.





Şekil 19. 400-600 mg/dL triaçilgliserol düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman grafikleri

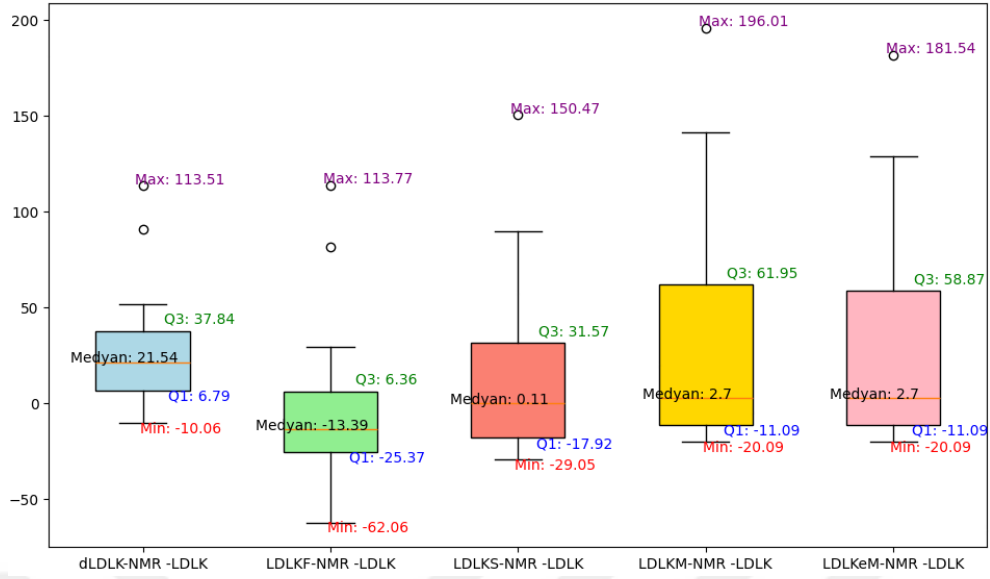
Şekil 19’da, 400-600 mg/dL triaçilgliserol düzeyinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemler arasındaki fark Blant Altman grafiği ile değerlendirildiğinde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle en az fark gösteren dLDLK (%-4.07) yöntemi idi, bunu sırasıyla LDLK_M (%-4.83), LDLK_{eM}, (%-8.36), LDLK_S (%-20.84), LDLK_F (%-32.27) yönteminin izlediği saptandı. Regresyon Grafikleri’nde NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle kıyaslandığında R² değerlerine göre en iyi uyum gösteren yöntem dLDLK (0.7470) olup bunları sırasıyla LDLK_S (0.7067), LDLK_{eM} (0.7038), LDLK_M (0.6971), LDLK_F (0.6911)’nin izlediği görüldü. RMSE değerlerine bakıldığında NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle uyum sırasının LDLK_{eM} (17.44), LDLK_S (17.52), LDLK_M (18.11), dLDLK (20.29), LDLK_F (21.46)

şeklinde olduğu saptandı. MAD değerlerinde ise sırasıyla LDLK_{eM} (14.29), LDLK_S (14.58), LDLK_M (14.96), dLDLK (16.68), LDLK_F (17.93) şeklinde fark olduğu tespit edildi.

Tablo 27. 400-600 mg/dL TG düzeylerinde NMR-LDLK+IDLK ile diğer yöntemlere ait blant altman ve regresyon grafiği verileri

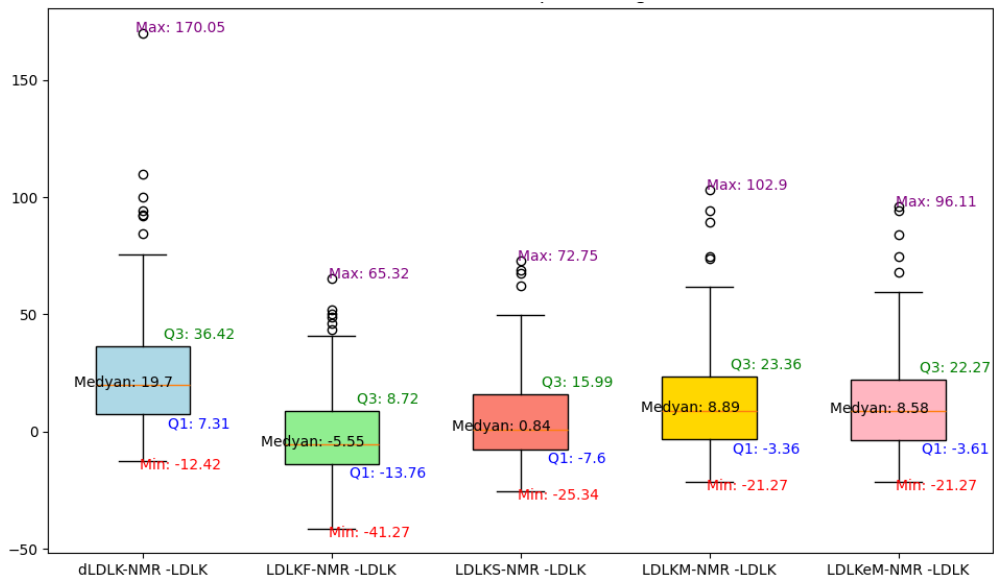
	Blant Altman (%Fark)	R ²	RMSE	MAD	Regresyon Denklemi ve Güven Aralığı
NMR- LDLK+IDLK	dLDLK	-4.07	0.7470	20.29	16.68 y=0.87x + 11.70 [0.70-1.03][-12.14-35.54]
	LDLK _F	-32.27	0.6911	21.46	17.93 y=0.80x -15.90 [0.62-0.97][-41.20-9.24]
	LDLK _S	-20.84	0.7067	17.52	14.58 y=0.68x + 14.12 [0.53-0.82][-6.46-34.71]
	LDLK _M	-4.83	0.6971	18.11	14.96 y=0.69x +33.53 [0.53-0.83][12.24-54.81]
	LDLK _{eM}	-8.36	0.7038	17.44	14.29 y=0.67x +30.99 [0.52-0.81][10.50-51.48]

Şekil 20, 21’de direkt ölçüm yöntemine göre LDL-K<100 mg/dL ve LDL-K≥100 mg/dL için NMR-LDLK yöntemi ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği gösterilmiştir.



Şekil 20. dLDLK<100 mg/dL (N=23) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği

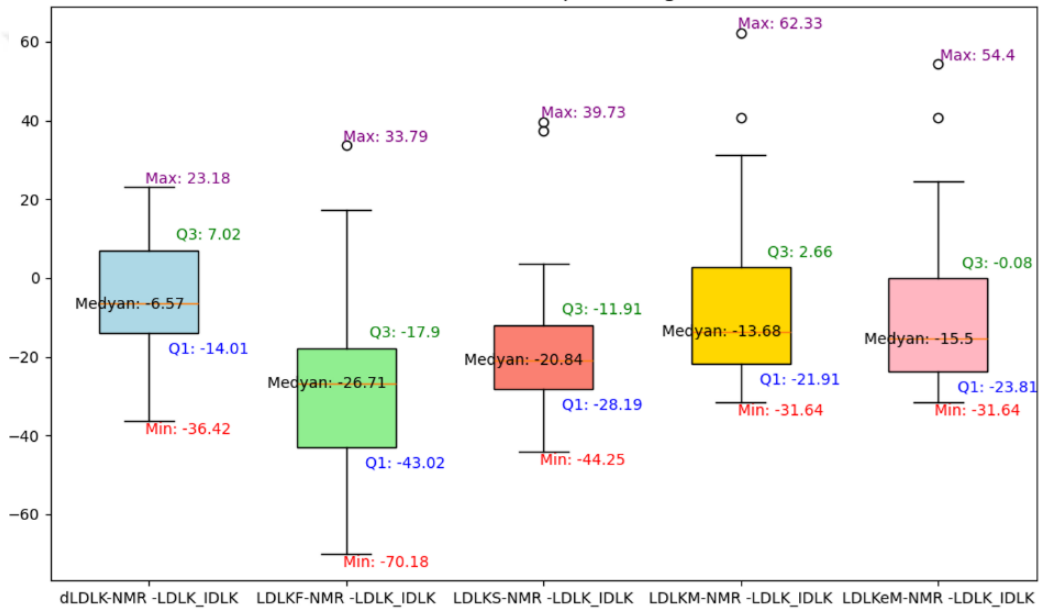
Şekil 20’de direkt ölçüm yöntemine göre LDL-K<100 mg/dL için NMR yöntemi ve diğer yöntemlere ait Boxplot Grafikleri incelendiğinde, NMR yöntemi ile karşılaştırılan yöntemlerin medyan değerleri arasındaki % fark sırasının LDLK_S (0.11), LDLK_M (2.7), LDLK_{eM} (2.7), LDLK_F (-13.39), dLDLK (21.54) şeklinde olduğu saptandı.



Şekil 21. dLDLK≥100 (N=137) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği

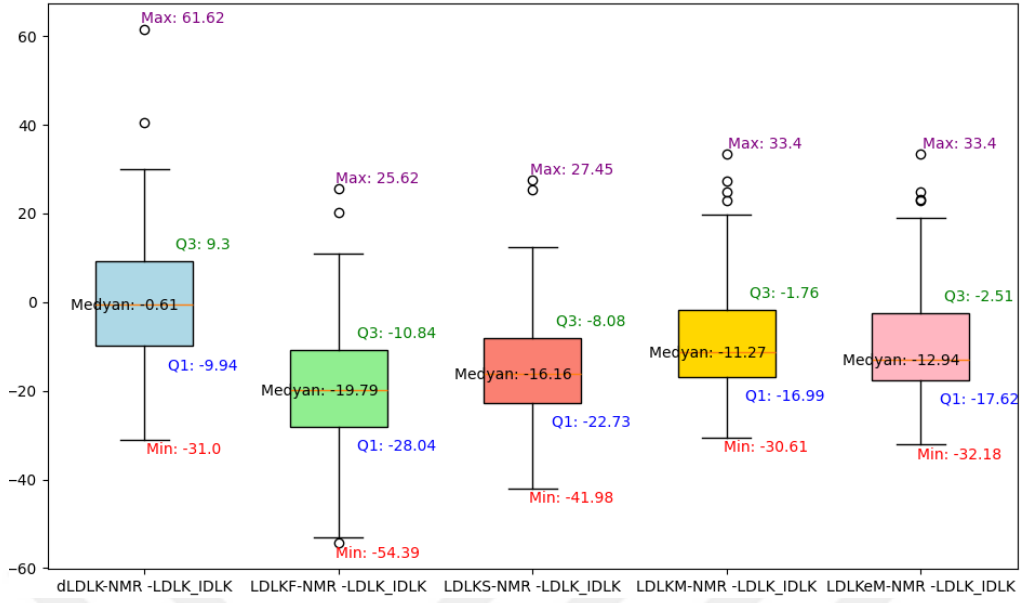
Şekil 21’de direkt ölçüm yöntemine göre LDL-K $\geq$ 100 mg/dL için NMR yöntemi ve diğer yöntemlere ait Boxplot Grafikleri incelendiğinde, NMR yöntemi ile karşılaştırılan yöntemlerin medyan değerleri arasındaki % fark sırasının LDLK_S (0.84), LDLK_F (-5.55), LDLK_{eM} (8.58), LDLK_M (8.89), dLDLK (19.7) olduğu saptandı.

Şekil 22,23’te direkt ölçüm yöntemine göre LDL-K<100 mg/dL ve LDL-K $\geq$ 100 mg/dL için NMR-LDLK+IDL-K yöntemi ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği gösterilmiştir.



Şekil 22. dLDLK<100 (N=23) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK+IDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği

Şekil 22’de direkt ölçüm yöntemine göre LDL-K<100 mg/dL için NMR yöntemi ve diğer yöntemlere ait Boxplot Grafikleri incelendiğinde, NMR yöntemi ile karşılaştırılan yöntemlerin medyan değerleri arasındaki % fark sırasının dLDLK (-6.57), LDLK_M(-13.68), LDLK_{eM} (-15.5), LDLK_S (-20.84), LDLK_F (-26.71) şeklinde olduğu saptandı.



Şekil 23. dLDLK $\geq$ 100 (N=137) iken diğer yöntemlerin NMR-LDLK+IDLK ve diğer yöntemlere ait boxplot grafiği

Şekil 23'te direkt ölçüm yöntemine göre LDL-K $\geq$ 100 mg/dL için NMR yöntemi ve diğer yöntemlere ait Boxplot Grafikleri incelendiğinde, NMR yöntemi ile karşılaştırılan yöntemlerin medyan değerleri arasındaki % fark sırasının dLDLK (-0.61), LDLK_M (-11.27), LDLK_{eM} (-12.94), LDLK_S (-16.16), LDLK_F (-19.79) şeklinde olduğu saptandı.

5.TARTIŞMA

Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, ASKVH'da önemli risk faktörlerindendir (5). Düzeyinin düşürülmesinin ASKVH riskini azalttığı bilinmektedir (6). Bu sebeple LDL-K ölçümünün doğru yapılması oldukça önemlidir (8).

LDL-K'nın ölçümünde altın standart yöntem β Q'dur (8). Beta kantifikasyon LDL, IDL ve Lp (a)'yı birlikte ölçmektedir (11). NMR Spektroskopisi, alternatif referans yöntemidir (15). Lipoproteinlerin yoğunluğunu, partikül sayısını, boyutunu ve bileşimini ölçebilir (14,15). Hesaplama yöntemleri düşük maliyet ve uygulama kolaylığı nedeniyle daha sık tercih edilmektedir. Bunlardan en yaygın kullanılanı Friedewald denklemidir (11). Friedewald denklemi normolipidemik bireylerde genellikle doğrudur; ancak bazı lipit düzeylerinde hesaplamada hata oluşturmaktadır. Bu durumda genellikle direkt LDL-K ölçüm analizlerine güvenilmektedir (17). Direkt LDL-K ölçüm yöntemleri maliyeti arttırmakla birlikte standardizasyon, doğruluk ve izlenebilirlikten yoksundur (18). Literatürde Friedewald denkleminin yerini almaya çalışan yeni denklemler geliştirilmiştir (17). Farklı TG ve Non-HDL-K düzeylerine göre TG/VLDL-K oranı için ayarlanabilir bir faktör kullanılarak 180 hücreli tablodan oluşan Martin Hopkins ismi verilen yeni bir denklem üretilmiştir (66). Bu denklem sadece TG düzeyleri 400 mg/dL'nin altında olan hastalar için doğrulanmıştır (66,67). 400–799 mg/dL TG düzeyleri için ise Extended (genişletilmiş) Martin Hopkins denklemi geliştirilmiştir (67). Sampson denklemi de TG düzeyleri 800 mg/dL'ye kadar olan hastalarda LDL-K hesaplaması yapmakta olup hipertrigliseridemik hastaların (400-800 mg/dL) LDL-K düzeylerine göre yanlış tedavi gruplarına kategorize edilmesini %35 azaltmaktadır (69).

Toplumumuzdaki kardiyovasküler hastalık riski ve dislipidemi sıklığı göz önüne alındığında LDL-K ölçümünün doğru yapılabilmesi ve otomatize sistemlere uyarlanabilmesi oldukça önemlidir.

Bu çalışmada referans yöntem olarak NMR kullanılmıştır. NMR yöntemi VLDL-K ve LDL-K düzeyi hakkında direkt bilgi verebilmektedir. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma NMR referans yöntemiyle yapılan literatürdeki ilk çalışmadır. Ancak yöntemin pahalı olması sebebiyle toplam çalışma grubundaki örnek sayısı 160 ile sınırlı tutulmuştur.

Friedewald denkleminin TG düzeyi 400 mg/dL'ye kadar doğru hesaplama yaptığı düşünülmekte; ancak TG>150 mg/dL ve LDL-K<70 olduğu durumlarda gerçek değerden

daha düşük hesaplama yaptığı bilinmektedir (16). Bu nedenle denklemlerin farklı TG düzeylerinde performansını değerlendirmek için TG düzeyleri 50-600 mg/dL olacak şekilde çalışma grubu oluşturuldu. Gruplardaki örnek sayısı dağılımının homojen olmasına dikkat edildi. Ayrıca LDL-K düzeylerine göre denklem performanslarını değerlendirmek için enzimatik kolorimetrik yöntem ile ölçümü yapılan örnekler $LDL-K < 100$ ve $LDL-K \geq 100$ olmak üzere 2 grup altında toplandı. $LDL-K < 100$ olan grupta örnek sayısı 23 ile sınırlı olup toplam grubun yaklaşık %15'ini oluşturmaktaydı. LDL-K hesaplaması yapılırken denklemlerde TK, TG ve HDL-K değerleri kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu testlerin ölçümüne ait hatalar LDL-K hesaplama sonuçlarını etkileyecektir. Örneklerin toplanması ve cihaz ölçümlerinin yapılması sırasında TK, TG, HDL-K ve LDL-K testleri için internal kalite kontrol (%CV) ve eksternal kalite kontrol (bias) verileri ile toplam hata hesaplanmış ve sonuçların NCEP izin verilebilir toplam hata değerlerinin altında kaldığı görülmüştür. Toplam çalışma grubunun enzimatik kolorimetrik yöntem ve NMR yöntemiyle yapılan ölçüm sonuçları karşılaştırıldığında TG ve HDL-K için iki ölçüm yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi; ancak TK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Ancak bu fark NMR yöntemi referans olarak alınıp % fark olarak hesaplandığında %8.8 bulundu ve NCEP izin verilebilir toplam hata değerinin (%9) altında kaldığı görüldü. Dolayısıyla LDL-K hesaplamasında kullanılan denklemlerdeki TK, TG, HDL-K parametrelerinin enzimatik kolorimetrik yöntem ve NMR yöntemi ölçüm değerleri tutarlılık göstermiştir.

LDL-K hesaplamasında kullanılan denklemlerde LDL-K sonucu genellikle TK'dan HDL-K ve VLDL-K düzeyinin çıkarılması ile bulunmaktadır. Total Kolesterol ve HDL-K otoanalizörlerde çalışmakta olup VLDL-K düzeyi hesaplanmaktadır. Dolayısıyla denklem sonuçları arasındaki farklılık VLDL-K düzeyinden kaynaklanmaktadır. VLDL-K düzeyi Friedewald ve Martin Hopkins denklemlerinde TG düzeylerinin belirli bir faktöre (Friedewald için 5, Martin Hopkins için TG ve Non HDL-K düzeyine göre bulunan değişken faktör) bölünmesiyle elde edilirken, Sampson denklemi TG ve Non HDL-K kullanılarak formülize edilmiştir. Extended Martin Hopkins denklemi, Martin Hopkins denkleminde farklı olarak 400-800 mg/dL TG düzeyleri için kullanılan değişken faktörü genişletmiştir.

Bu çalışmada TG düzeyi 50-600 mg/dL toplam çalışma grubunda VLDL-K sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde NMR yöntemine en yakın sonuç elde eden yöntemin $VLDL K_{eM}$ ve $VLDL K_M$ yönteminde olduğu görülmüştür. $VLDL K_{eM}$ yöntemi $VLDL K_M$ 'ye

göre NMR sonucuna daha yakın değer elde ettiğinden Martin denklemindeki değiştirilebilir faktörün genişletilmesinin fayda sağladığı düşünülmektedir. TG alt gruplarına göre analiz yapıldığında 50-149 mg/dL'ye kadar tüm denklemler NMR yöntemiyle uyumlu sonuç elde ettiğinden normotrigliseridemik durumda tüm denklemlerin doğru sonuç verdiğini ve rutinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz. 150-299 mg/dL TG alt grubunda VLDLK_S, 300-399 mg/dL alt grubunda ise VLDLK_M ve VLDLK_{eM} yönteminin NMR ile uyum göstermesi TG düzeyi arttıkça farklı alt gruplarda denklemlerin performansının değişebileceğini göstermektedir. Ayrıca TG >400 mg/dL olduğunda tüm denklemlerin NMR yöntemiyle farklılık göstermesi bu TG düzeyinde denklemlerin tekrar gözden geçirilmesi gerektiğini veya yeni denklemlerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir. TG düzeyi arttıkça Friedewald denkleminin denklemdaki VLDL-K düzeyini yüksek hesaplaması bu denklemin VLDL-K hesabı yaparken TG düzeyini sabit 5 sayısına bölmelerinden kaynaklanmaktadır. Normotrigliseridemide 5 sayısı VLDL-K konsantrasyonunu yansıtırken daha üst değerlerde yansıtmamaktadır. Ayrıca Friedewald denklemi VLDL-K'yı yüksek hesapladığından dolayı denklemden yerine koyulduğunda LDL-K düzeyini daha düşük hesaplamaktadır. VLDLK_M ve VLDLK_{eM} yöntemlerinin hipertrigliseridemide NMR'den daha düşük sonuç elde ettiği görülmüştür. Bu iki yöntemin de yüksek TG düzeylerinde LDL-K düzeyinde daha yüksek hesaplama yapacağı düşünülmektedir.

VLDL-K için toplam TG çalışma grubu ve alt gruplarda Blant Altman ve Regresyon Grafikleri'ne bakıldığında toplam TG çalışma grubunda Blant Altman grafiğinde en iyi uyumu VLDLK_M yöntemi gösterirken Regresyon Grafikleri'ne ait tüm değerler incelendiğinde en iyi performansı VLDLK_S yöntemi göstermiştir. Bizim çalışmamızda Blant Altman ve Regresyon Grafikleri arasındaki farkın nedeni olarak Blant Altman grafiğindeki VLDLK_M değerlerinde negatif ve pozitif sapmaların ortalama değeri düşürmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sampson ve ark. yaptığı çalışmada VLDL-K düzeyleri referans yöntem olan β -kantifikasyon ile analiz edilmiştir. TG düzeyleri 0-2880 mg/dL arasında değişen 9358 veri setinden oluşan toplam çalışma grubunda VLDL-K düzeylerinin β Q ile ölçüm sonuçları Sampson, Martin, Friedewald denklemleriyle karşılaştırılmıştır. β Q ile Sampson denklemi arasındaki Regresyon Grafiği'ne ait veriler ($y=0.941x+4.46$; $R^2=0.9385$; $RMSE=15.6$), Martin denkleminde ($y=0.785x+7.23$; $R^2=0.8405$; $RMSE=22.1$), Friedewald denkleminde ($y=1.101x+2.39$; $R^2=0.8341$; $RMSE=31.7$) şeklinde bulunmuştur. Bizim çalışmamızdaki

gibi Sampson denklemi VLDL-K düzeyini hesaplamada Friedewald ve Martin denklemine göre referans yöntem ile daha iyi uyum göstermiştir (69).

Vazquez ve ark. yaptığı çalışmada Ailel Kombine Hiperlipidemisi olan TG düzeyleri <400 mg/dL, 400-800 mg/dL, >800 mg/dL olmak üzere 340 hastadan elde edilen VLDL-K'ya ait veriler ultrasantrifüj yöntemiyle kıyaslanmıştır. VLDL-K için tüm TG grubunda denklemler ultrasantrifüj ile kıyaslandığında Sampson denklemine Regresyon Grafiği'ne ait verilerin ($R^2=0.879$; RMSE=19.98), Martin denklemine ($R^2=0.875$; RMSE=30.22), Friedewald denklemine ($R^2=0.87$; RMSE=44.96) olduğu görülmüştür. TG <800 mg/dL olduğunda Sampson denklemine Regresyon Grafiği'ne ait veriler ($R^2=0.88$; RMSE=11.21), Martin denklemine ($R^2=0.875$; RMSE=13.15), Friedewald denklemine ($R^2=0.869$; RMSE=13.7) şeklinde bulunmuştur. Bizim çalışmamıza benzer şekilde regresyon grafiği verilerine göre en iyi performansı Sampson denklemi göstermiş olup Blant Altman Grafiği'ne bakıldığında ise en az fark gösteren Martin denklemi olmuştur (70).

Higgins ve ark. yaptığı çalışmada 2836 hastaya ait 14-16 saat açlığı takiben toplamda 3161 lipid parametre sonucu dahil edilmiştir. TG düzeyleri <133 mg/dL, 133-400 mg/dL, 400-800 mg/dL, >800 mg/dL olmak üzere dört grup olarak sınıflandırılmış ve VLDL-K düzeyleri yoğunluk gradyan ultrasantrifüjleme ile ölçülmüştür. Toplam grupta VLDL-K'nın ultrasantrifüj yöntemiyle karşılaştırılması sonucunda yöntemler arası korelasyon Sampson denklemine ($r^2 = 0,520$) Friedewald denkleminden ($r^2 = 0,338$) daha güçlü olduğu bulunmuştur (71). TG düzeyi >800 mg/dL olan grup çıkarılarak korelasyon değerlerine bakıldığında korelasyon değerlerinin arttığı görülmüş ve yine bizim çalışmamızla uyumlu olarak Sampson denkleminin ($r^2 = 0,8911$) Friedewald denkleminden ($r^2 = 0,8764$) daha iyi performans gösterdiği bulunmuştur.

NMR yöntemi LDL-K ölçümünü tek başına yapabilmektedir. β Q ve ultrasantrifüj ile ölçümde ise LDL-K değerine IDL-K dahildir. Bu yüzden bizim çalışmamızda yöntemlerin performansı hem NMR-LDLK hem de NMR-LDLK+IDLK ile ayrı olarak karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmanın TG düzeyi 50-600 mg/dL olan toplam çalışma grubunda LDL-K sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde NMR-LDLK yöntemine en yakın sonuç elde ederek anlamlı fark göstermeyen yöntemler sırasıyla LDLK_F ve LDLK_S yöntemleri olmuştur. TG alt gruplarına göre analiz yapıldığında 50-149 mg/dL'ye kadar tüm denklemler NMR yöntemiyle uyumlu sonuç elde etmiş ve istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir. Bu durum denklemlerin LDL-K'ya IDL-K dahil olan referans yöntemlere

göre üretilmesine rağmen normotrigliseridemide sadece NMR-LDLK ölçümlerine göre kıyaslandığında da uyumlarının iyi olduğunu ve rutinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. LDLK_F ve LDLK_S yöntemlerinin NMR-LDLK yöntemi ile uyumu tüm TG alt gruplarında devam etmiştir. LDL-K için ölçüm yöntemi performanslarının NMR-LDLK yöntemiyle karşılaştırıldığı toplam TG çalışma grubu ve alt gruplarda Blant Altman ve Regresyon Grafikleri'ndeki verilere göre de genel olarak en iyi performansı gösteren LDLK_F ve LDLK_S yöntemleri olmuştur. Friedewald yönteminin β Q'la karşılaştırıldığında hipertrigliseridemide gerçek değerden düşük hesaplama yaptığı bilinmektedir. Ancak bizim çalışmamızda NMR yöntemiyle sadece LDL-K ölçümü yapıldığında IDL-K değeri ihmal edildiğinden Friedewald formülü NMR-LDLK ile uyumlu bulunan yöntem olmuştur. Friedewald denklemindeki hesaplama hataları denklem oluşturulurken LDL-K'ya ek olarak IDL-K sonucunu da içeren β kantifikasyon yöntemiyle kıyaslanarak oluşturulmasından kaynaklanabilir bu yüzden denklemin doğruluğunun yeniden gözden geçirilmesi için NMR yöntemiyle yeni çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada TG düzeyi 50-600 mg/dL toplam çalışma grubunda LDL-K sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde NMR-LDLK+IDLK yöntemine en yakın sonuç elde eden ve anlamlı farklılık göstermeyen tek yöntem dLDLK yöntemi olmuştur. Farklı TG düzeylerine sahip alt gruplarda da dLDLK yöntemi NMR-LDLK+IDLK ile uyum göstermiştir. Bu durum enzimatik kolorimetrik yöntemin IDL-K'yı da ölçtüğünü düşündürmektedir. TG düzeyi 50-149 mg/dL'ye kadar olan alt grupta tüm denklemler NMR yöntemiyle uyumlu sonuç elde ettiğinden normotrigliseridemide tüm yöntemlerin ölçüm yöntemi olarak kullanılabileceği ve performanslarının iyi olduğu düşünülmektedir. Hipertrigliseridemide denklemlerden sadece LDLK_M ve LDLK_{eM} yöntemi 150-299 mg/dL TG alt grubu hariç diğer alt gruplarda NMR-LDLK+IDLK yöntemi ile uyum göstermiştir. Farklı TG düzeylerinde denklemlerin performansının değişmesi veya denklem performanslarının kötü olması yeni denklemlerin geliştirilmesi gerektiğini ve bunların TG alt gruplarına göre düzenlenmesinin doğru olacağını düşündürmektedir.

LDL-K için ölçüm yöntemlerinin performanslarının NMR-LDLK+IDLK yöntemiyle karşılaştırmasında toplam TG çalışma grubu ve hipertrigliseridemik alt gruplarda Blant Altman grafiğinde en iyi uyumu dLDLK, denklemlerden ise LDLK_M ve LDLK_{eM} gösterirken toplam çalışma grubunda Regresyon Grafikleri'nde en iyi performans LDLK_M ve LDLK_{eM} yönteminde olmuştur.

Sampson ve ark. yaptığı çalışmada Sampson, Martin ve Friedewald denklemleriyle elde edilen LDL-K sonuçları β Q yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Sampson denkleminde Regresyon Grafiği'ne ait verilerin ($y=0.964x+5.7$; $R^2=0.9648$; $RMSE=15.2$), Martin denkleminde ($y=0.945x+11.6$; $R^2=0.9022$; $RMSE=25.7$), Friedewald denkleminde ($y=1.056x-16.05$; $R^2=0.8808$; $RMSE=32$) şeklinde olduğu görülmüştür. Regresyon Grafiği verilerine bakıldığında bizim çalışmamızdan farklı olarak en iyi uyum Sampson denkleminde elde edilmiştir (69).

Martin ve ark. yaptığı 1 350 908 bireyin örneklerinden yapılan çalışmada LDL-K düzeyleri vertikal dönüşlü yoğunluk gradyanlı bir ultrasantrifüjleme tekniği olan Dikey Otomatik Profil ile doğrudan ölçülmüştür. Bu çalışmada üretilen Martin denklemi ve Friedewald denkleminin ultrasantrifüj yöntemiyle uyumu karşılaştırılmıştır. Çeşitli kılavuzlara göre LDL-K risk sınıflandırması yapılan değerlerde ultrasantrifüj ile Martin ve Friedewald yöntemlerinin uyumu değerlendirilmiştir. TG düzeyleri <400 mg/dL'yken denklemler ile ultrasantrifüj arasında LDL-K için kılavuz risk sınıflandırmasındaki genel uyum Martin denklemi için %91.7, Friedewald için %85'dir. Aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Bu çalışmada bizim çalışmamızla uyumlu olarak Martin denklemi toplam çalışma grubunda Friedewald'den daha iyi uyum göstermiştir (20).

Sampson ve ark. yaptığı farklı bir çalışmada β Q ile LDL-K ölçümü yapılmış 40.346 hasta verisinden elde edilen ve TG düzeyleri 0-1400 mg/dL arasında değişen toplam çalışma grubunda LDL-K düzeylerinin β Q ile ölçümü gerçekleştirilerek sonuçlar Sampson, Friedewald, Martin ve Extended Martin denklemleriyle karşılaştırılmıştır. β Q ile Sampson denklemi arasındaki Regresyon Grafiği'ne ait veriler ($y=1.01x-0.89$; $R^2=0.9472$; $RMSE=10.51$; $MAD=6.9$), Friedewald ($y=1.06x-10.6$; $R^2=0.9107$; $RMSE=14.58$; $MAD=8.70$), Extended Martin ($y=0.99x+3.11$; $R^2=0.9103$; $RMSE=13.71$; $MAD=8.09$) Martin denkleminde ($y=1.00x+2.81$; $R^2=0.9067$; $RMSE=14.06$; $MAD=8.24$) şeklinde bulunmuştur. Sampson denklemi bizim çalışmamızdan farklı olarak diğer denklemlere göre daha iyi performans göstermiştir. Extended Martin denkleminin bizim çalışmamızdaki gibi toplam veri setinde Martin denklemine göre nispeten daha iyi performans gösterdiği görülmüştür. Yine bu çalışmadaki TG düzeyi 400–800 mg/dL olan grup incelendiğinde MAD değerlerinin Extended Martin denkleminde Martin denkleminde daha az olduğu görülmüştür (72). Bu durum bizim çalışmamızdaki TG düzeyi 400–600 mg/dL olan grupla benzerlik göstermiştir.

Vazquez ve ark. Ailesel Kombine Hiperlipidemisi mevcut ve TG düzeyleri <400 mg/dL, 400-800 mg/dL, >800 mg/dL olan 340 hastaya ait LDL-K düzeylerinin tüm TG grubu ve <800 mg/dL olan grupta denklemlerin ultrasantrifüj ile karşılaştırmasını yapmıştır. Tüm TG grubunda Regresyon Grafiği'ne ait veriler Sampson denkleminde ($R^2=0.84$; RMSE=19.99), Martin ($R^2=0.807$; RMSE=30.22) Friedewald ($R^2=0.802$; RMSE=44.96) şeklindeyken TG <800 mg/dL bakıldığında Sampson denkleminde Regresyon Grafiği'ne ait veriler ($R^2=0.927$; RMSE=11.17), Friedewald ($R^2=0.906$; RMSE=13.7), Martin ($R^2=0.903$; RMSE=13.15) olarak bulunmuştur. Yine Blant Altman grafiğinde en iyi uyumun Sampson denkleminde olduğu görülmüştür. Dolayısıyla en iyi performans gösteren yöntem bizim çalışmamızdan farklı olarak Sampson denklemi olmuştur (71).

Sajja ve ark. TG düzeyleri 400-799 mg/dL olan toplam 111.939 hasta sonucunun dahil edildiği bir çalışmada LDL-K ölçümünde dikey spin yoğunluk gradyana sahip hızlı bir ultrasantrifüjleme tekniği olan (VAP) kullanılmıştır. <40 mg/dL ve ≥ 190 mg/dL arasındaki farklı LDL-K sınıflarında yapılan bu kesitsel çalışmada en iyi uyum Extended Martin denkleminde bulunmuştur (67). Bizim çalışmamızda 400-600 mg/dL TG düzeyinde bu çalışmayla uyumlu olarak denklemlerden sadece Extended Martin ve Martin denklemi NMR ile istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir. Regresyon Grafikleri'nde de Sampson ve Extended Martin denklemi yakın performans göstererek en iyi uyum gösteren denklemler olmuştur.

Higgins ve ark. yaptığı çalışmada 2836 hastaya ait 14-16 saat açlığı takiben toplamda 3161 lipid parametresi sonucu dahil edilmiştir. TG düzeyleri <133 mg/dL, 133-400 mg/dL, 400-800 mg/dL, >800 mg/dL olmak üzere dört grup olarak sınıflandırılmış ve LDL-K düzeyleri yoğunluk gradyan ultrasantrifüjleme ile ölçülmüştür. Toplam grupta LDL-K'nın ultrasantrifüj yöntemiyle karşılaştırılmasında Sampson denkleminin ($r^2 = 0,889$) Friedewald denkleminden ($r^2 = 0,807$) daha güçlü bir korelasyona sahip olduğu görülmüştür. TG düzeyi >800 mg/dL olan grup çıkarıldığında ise korelasyon değerleri iki denklemde de artarak Sampson denkleminde ($r^2 = 0,975$), Friedewald denkleminde ($r^2 = 0,9713$) olmuştur. Ayrıca bu çalışmada her iki denklem için farklı TG düzeylerine göre MAD değerleri incelendiğinde Sampson denklemi Friedewald denkleminden daha az fark göstermiştir (71). Bu çalışmada bulunan TG düzeyi <800 mg/dL olan grupta Sampson denkleminin Friedewald denkleminden daha iyi uyum göstermesi bizim çalışmamızla benzerdir.

Ginsberg ve ark. yaptığı 6122 hastaya ait 17.077 veri içeren çalışmada β Q ölçümüne ait LDL-K değerleri 1-397 mg/dl arasında değişmekte olup Friedewald denklemi ile β Q'la elde edilen LDL-K arasında güçlü bir korelasyon vardı ($R^2 = 0,985$). Ayrıca Martin Hopkins ($R^2 = 0,981$) ve Sampson ($R^2 = 0,985$) denklemleriyle hesaplanan LDL-K değerleri ile β Q LDL-K değerleri arasında da güçlü bir korelasyon izlenmiştir (8).



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

- β kantifikasyon LDL-K ölçümünde altın standart yöntem olup LDL-K ölçümüne IDL-K ve $L_p(a)$ 'nın dahil olduğu bilinmektedir.
- NMR yöntemi VLDL, IDL, LDL ve HDL olmak üzere dört ana lipoprotein sınıfını ölçebilen alternatif referans yöntemdir. LDL-K'yı tek başına ölçebiliyor olması β kantifikasyona avantaj sağlamaktadır.
- NMR-LDLK ile NMR-LDLK+IDLK sonuçları anlamlı farklılık göstermektedir. Dolayısıyla IDL-K sonucunun hesaba katılması β kantifikasyon, ultrasantrifüj ve NMR yöntemlerinin LDL-K ölçüm sonuçlarında farklılığa sebep olmaktadır.
- Literatürde mevcut denklemler β kantifikasyon ve ultrasantrifüj yöntemi referans alınarak oluşturulduğu için gerçek LDL-K değerini yansıtmamaktadır.
- Farklı serum lipit düzeyleri göz önüne alınarak VLDL-K ve LDL-K düzeyinin elde edilmesinde daha doğru sonuç verebilecek uygun algoritmaların geliştirilmesinde ve rutin olarak kullanılmasında NMR tekniği değerli sonuçlar vermektedir.
- LDL-K için bundan sonraki çalışmaların NMR yöntemi ile yapılması daha doğru sonuçlara ulaşılabilmesini sağlayacaktır.
- Olduğundan düşük hesaplama yaptığı düşünülen Friedewald denklemi çalışmamızda NMR-VLDLK ile uyum göstermemesine rağmen IDL-K'nın ihmal edildiği sadece NMR-LDLK sonucuyla uyum göstermiştir.
- TG konsantrasyonları referans aralıktayken (<150 mg/dL) tüm yöntemlerin VLDL-K ve LDL-K sonuçlarının NMR-VLDLK, NMR-LDLK, NMR-LDLK+IDLK ile uyumlu olduğu görülmüştür. TG düzeyleri bu sınırlar içinde olduğunda hesaplama yöntemleri kullanılabilir.
- TG konsantrasyonları arttıkça denklemler ile hesaplanan değerlerin referans yöntemle farkları genellikle artabilir ve izin verilen toplam hata sınırını aşabilir. Bundan dolayı yüksek TG seviyelerinde standardizasyon hala sağlanamadığından yeni denklemler geliştirilmesine ve bunun için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.
- TG konsantrasyonlarına göre alt gruplar değerlendirildiğinde farklı alt gruplarda farklı denklemlerin daha iyi sonuçlar elde ettiği görülmüştür. Dolayısıyla TG düzeylerine göre algoritmalar geliştirilmelidir.

- Mevcut klinik çalışmalar önceki referans yöntemlerle yapıldığından LDL-K için tedavi karar sınırları NMR-LDLK yöntemiyle yapılan klinik çalışmalar sonucunda değişebilir.
- NMR yöntemi pahalı olduğu için maliyet etkin değildir. Dolayısıyla da günümüzde rutin uygulanması mümkün değildir.



7.KAYNAKLAR

1. GBD-NHLBI-JACC Global Burden of Cardiovascular Diseases Writing Group (2020). Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol* 76(25): 2982–3021.
2. Samra M, Srivastava K (2023). Non-coding RNA and their potential role in cardiovascular diseases. *Gene* 851:147011.
3. SCORE2 working group and ESC Cardiovascular risk collaboration (2021). SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe. *Eur Heart J* 42(25): 2439-2454.
4. World Health Organization (2021). Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-cvds>. [Accessed 23 kasım 2022].
5. Grundy SM, Stone N, Bailey AL, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol. *Circulation*. 2019; 139(25): E1082–143. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000624
6. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: A meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376(9753): 1670–1681. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61350-5
7. Mach, François, et al. "2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS)." *European heart journal* 41.1 (2020): 111-188.
8. Ginsberg HN, Rosenson RS, Hovingh GK, et al. LDL-C calculated by Friedewald, Martin-Hopkins or NIH equation 2 versus beta-quantification: pooled alirocumab trials. *J Lipid Res* 2022; 63:10. doi:10.1016/j.jlr.2021.100148 pmid: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34774485>

9. Klinik Biyokimya Kitabı Prensipler, Teknikler ve Korelasyonlar 7. baskı, Michael L. Bishop, Edward P. Fody, Larry E. Schoeff, sayfa 310-342.
10. Bachorik, Paul S. "Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol." Handbook of lipoprotein testing 2 (2000): 245-64.
11. Martins J, Steyn N, Rossouw HM, Pillay TS. Best practice for LDL-cholesterol: when and how to calculate. *J Clin Pathol.* 2023 Mar;76(3):145-152. doi: 10.1136/jcp-2022-208480. Epub 2023 Jan 17. PMID: 36650044.
12. M.Y. Tsai, A. Georgopoulos, J.D. Otvos, *et al.* Comparison of ultracentrifugation and nuclear magnetic resonance spectroscopy in the quantification of triglyceride-rich lipoproteins after an oral fat load *Clin. Chem.*, 50 (2004), pp. 1201-1204
13. G. Llauro, N. Amigo, A. Cano, *et al.* Specific nuclear magnetic resonance lipoprotein subclass profiles and central arterial stiffness in type 1 diabetes mellitus: A case control study *J. Clin. Med.*, 8 (2019)
14. G.J. Blake, J.D. Otvos, N. Rifai, *et al.* Low-density lipoprotein particle concentration and size as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy as predictors of cardiovascular disease in women *Circulation*, 106 (2002), pp. 1930-1937
15. Hu D, Mao L, Tang X, Chen J, Guo X, Luo Q, Kuang J, Zhang T, Liu R, Yuan S, Yu B, Peng D. Nuclear magnetic resonance reveals postprandial low-density lipoprotein cholesterol determined by enzymatic method could be a misleading indicator. *Clin Chim Acta.* 2021 Mar;514:59-65. doi: 10.1016/j.cca.2020.12.013. Epub 2020 Dec 15. PMID: 33333042.
16. Martin SS, Giugliano RP, Murphy SA, *et al.* Comparison of low-density lipoprotein cholesterol assessment by Martin/Hopkins estimation, Friedewald estimation, and preparative ultracentrifugation insights from the FOURIER trial. *JAMA Cardiol.* 2018; 3(8): 749–753. DOI: 10.1001/jamacardio.2018.1533
17. Brownstein AJ, Martin SS. More accurate LDL-C calculation: Externally validated, guideline endorsed. *Clinica Chimica Acta.* 2020; 506: 149–153. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.030
18. Nordestgaard BG, Langlois MR, Langsted A, *et al.* Quantifying atherogenic lipoproteins for lipid-lowering strategies: Consensus-based recommendations

- from EAS and EFLM. *Clin Chem Lab Med*. 2020; 58(4): 496–517. DOI: 10.1515/cclm-2019-1253
19. Sathiyakumar V, Park J, Golozar A, et al. Fasting versus nonfasting and low-density lipoprotein cholesterol accuracy. *Circulation*. 2018; 137(1): 10–19. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030677
 20. Martin S.S., Blaha M.J., Elshazly M.B., Brinton E.A., Toth P.P., McEvoy J.W., Joshi P.H., Kulkarni K.R., Mize P.D., Kwiterovich P.O., et al. Friedewald-estimated versus directly measured low-density lipoprotein cholesterol and treatment implications. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2013;62:732–739. doi: 10.1016/j.jacc.2013.01.079.
 21. Gramlich L, Ireton-Jones C, Miles JM, Morrison M, Pontes-Arruda A. Essential Fatty Acid Requirements and Intravenous Lipid Emulsions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2019 Aug;43(6):697-707. doi: 10.1002/jpen.1537. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30908685.
 22. Champe, P. C., Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (n.d.). Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry (8. Baskı, ss. 356-490).
 23. Tetik, S., & Tanrıverdi, B. (2016). Sorularla Konu Anlatımlı Tıbbi Biyokimya Kitabı (2. Baskı, ss. 205-233).
 24. Bhagavan, N. V. (2002). Plasma lipoproteins. In *Medical Biochemistry* (4th ed., pp. 401-452). Harcourt Academic Press.
 25. Feingold, K. R., Anawalt, B., Blackman, M. R., Boyce, A., Chrousos, G., Corpas, E., ... Wilson, D. P. (Eds.). (2000–). Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc. PMID: 25905160.
 26. Lee, Y., & Siddiqui, W. J. (2023, July 24). Cholesterol levels. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 31194434.
 27. Hussain MM, Kedeas MH, Singh K, Athar H, Jamali NZ. Signposts in the assembly of chylomicrons. *Front Biosci*. 2001;6:D320-D331.
 28. Julve J, Martín-Campos JM, Escolà-Gil JC, Blanco-Vaca F. Chylomicrons: Advances in biology, pathology, laboratory testing, and therapeutics. *Clin Chim Acta*. 2016;455:134-148. doi:10.1016/j.cca.2016.02.004.
 29. Harper's Illustrated Reviews: Biochemistry. 32th ed. New York: McGraw Hill; 2015. pp. 205-273.

30. Feingold KR. Introduction to Lipids and Lipoproteins. 2024 Jan 14. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Kapoor N, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, Levy M, McGee EA, McLachlan R, New M, Purnell J, Sahay R, Shah AS, Singer F, Sperling MA, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP, editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000–. PMID: 26247089.
31. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486-2497.
32. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 24th ed. Philadelphia: Elsevier; 2022. pp. 243-266.
33. Cockerill G, Xu Q. Atherosclerosis. In: Fitridge R, Thompson M, editors. Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists [Internet]. Adelaide: University of Adelaide Press; 2011. PMID: 30485014.
34. Basavaraju SR, Jones TD. Atherosclerotic risks from chemicals: Part I. Toxicological observations and mechanisms of atherosclerosis. Arch Environ Contam Toxicol. 1998;35(1):152-164. doi:10.1007/s002449900363.
35. Guijarro C, Cosín-Sales J. LDL cholesterol and atherosclerosis: The evidence. Clin Investig Arterioscler. 2021;33(Suppl 1):25-32. doi:10.1016/j.arteri.2020.12.004.
36. Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., & Sav, F. (2022). Robins ve Cotran: Hastalığın Patolojik Temeli (7. Baskı). Özdamar (Çev. Ed.), s. 511-555. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
37. Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. Clin Chim Acta. 2010;411(23-24):1875-1882. doi:10.1016/j.cca.2010.08.038.
38. Stocker R, Keaney JF Jr. New insights on oxidative stress in the artery wall. J Thromb Haemost. 2005;3(8):1825-1834. doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01370.x.

39. Fraley AE, Tsimikas S. Clinical applications of circulating oxidized low-density lipoprotein biomarkers in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2006;17(5):502-509. doi:10.1097/01.mol.0000245255.40634.b5.
40. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al. Atherosclerosis: Basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation.* 1995;91(9):2488-2496. doi:10.1161/01.cir.91.9.2488.
41. Steinerová A, Racek J, Stozický F, et al. Antibodies against oxidized LDL— theory and clinical use. *Physiol Res.* 2001;50(2):131-141. PMID: 11522041.
42. Deroissart J, Porsch F, Koller T, Binder CJ. Anti-inflammatory and immunomodulatory therapies in atherosclerosis. In: von Eckardstein A, Binder CJ, editors. *Prevention and Treatment of Atherosclerosis: Improving State-of-the-Art Management and Search for Novel Targets.* Cham: Springer; 2022. PMID: 36122115.
43. Lu H, Daugherty A. Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(3):485-491. doi:10.1161/ATVBAHA.115.305380.
44. Savaş Tetik S, Tanrıverdi B. Aterosklerozun patofizyolojisi ve risk faktörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal.* 2016;21(1):1-9. doi:10.12991/marupj.259875.
45. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: Reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(7):1716-1723. doi:10.1161/01.atv.20.7.1716.
46. Zengin H. Ateroskleroz patogenezi. *Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2013;29(Suppl 3):2. doi:10.5835/jecm.omu.29.s3.002.
47. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: The road ahead. *Cell.* 2001;104(4):503-516. doi:10.1016/s0092-8674(01)00238-0.
48. Salisbury D, Bronas U. Inflammation and immune system contribution to the etiology of atherosclerosis: Mechanisms and methods of assessment. *Nurs Res.* 2014;63(5):375-385. doi:10.1097/NNR.0000000000000053.
49. Zhu Y, Xian X, Wang Z, et al. Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation. *Biomolecules.* 2018;8(3):80. doi:10.3390/biom8030080.

50. Soeki T, Sata M. Inflammatory biomarkers and atherosclerosis. *Int Heart J*. 2016;57(2):134-139. doi:10.1536/ihj.15-346.
51. Nordestgaard, B. G., & Zacho, J. (2009). Lipids, atherosclerosis and CVD risk: is CRP an innocent bystander? *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 19(8), 521-524. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.07.005>. PMID: 19695857.
52. Calabrò, P., Golia, E., & Yeh, E. T. (2009). CRP and the risk of atherosclerotic events. *Seminars in Immunopathology*, 31(1), 79-94. <https://doi.org/10.1007/s00281-009-0149-4>. PMID: 19415283.
53. Adukauskienė, D., Čiginskienė, A., Adukauskaitė, A., Pentiokinienė, D., Šlapikas, R., & Čėponienė, I. (2016). Clinical relevance of high sensitivity C-reactive protein in cardiology. *Medicina (Kaunas)*, 52(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.medici.2015.12.001>. PMID: 26987494.
54. Yılmaz, G. (2008). Atorvastatin kullanan dislipidemi hastalarında tedavi öncesi ve 3 ay sonrası serum Paraoksonaz-1 ve okside LDL düzeyleri (Uzmanlık Tezi). Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
55. Rifai, N., Warnick, G. R., & McPherson, R. A. (Eds.). (2018). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* (6th ed., pp. 539-604).
56. Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., et al. (2020). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 41(1), 111–188. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>.
57. Türk Endokrin Metabolizma Derneği (2024). Dislipidemi Tanı ve Tedavi Kılavuzu.
58. Görmüş, U. (2024). Laboratuvar Dünyası, Klinik Laboratuvar Uygulamaları: Biyokimya, Mikrobiyoloji, Moleküler Genetik, Histoloji ve Patoloji (2. baskı, ss. 169-184).
59. Mehmetoğlu, İ. (2024). Klinik Biyokimya El Kitabı (2. baskı, ss. 40-112).
60. Singer, R. (2006). Serum LDL-C Tayininde İki Direkt Yöntem İle Friedewald Formülü Karşılaştırılması ve Küçük, Yoğun LDL-C Ölçüm Yöntemi (Uzmanlık Tezi). İstanbul.
61. Nauck, M., Warnick, G. R., & Rifai, N. (2002). Methods for measurement of LDL-Cholesterol: A critical assessment of direct measurement by

- homogeneous assays versus calculation. *Clinical Chemistry*, 48(2), 236–254. <https://doi.org/10.1093/clinchem/48.2.236>.
62. Otvos, J. D. (2002). Why cholesterol measurements may be misleading about lipoprotein levels and cardiovascular disease risk—clinical implications of lipoprotein quantification using NMR spectroscopy. *Journal of Laboratory Medicine*, 26, 544-550.
 63. Kang, M., Kim, J., Lee, S. Y., Kim, K., Yoon, J., & Ki, H. (2017). Martin's Equation as the most suitable method for estimation of low-density lipoprotein cholesterol levels in Korean adults. *Korean Journal of Family Medicine*, 38(5), 263-269. <https://doi.org/10.4082/kjfm.2017.38.5.263>. PMID: 29026486; PMCID: PMC5637217.
 64. Samuel, C., Park, J., Sajja, A., Michos, E. D., Blumenthal, R. S., Jones, S. R., & Martin, S. S. (2023). Accuracy of 23 equations for estimating LDL cholesterol in a clinical laboratory database of 5,051,467 patients. *Global Heart*, 18(1), 36. <https://doi.org/10.5334/gh.1214>. PMID: 37361322; PMCID: PMC10289049.
 65. Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499–502.
 66. Martin, S. S., Blaha, M. J., Elshazly, M. B., Toth, P. P., Kwiterovich, P. O., Blumenthal, R. S., & Jones, S. R. (2013). Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA*, 310(19), 2061-2068. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.280532>. PMID: 24240933; PMCID: PMC4226221.
 67. Sajja, A., Park, J., Sathiyakumar, V., et al. (2021). Comparison of methods to estimate low-density lipoprotein cholesterol in patients with high triglyceride levels. *JAMA Network Open*, 4(10), e2128817. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.28817>. PMID: 34709388; PMCID: PMC8554644.
 68. Zararsız, G. E., Bolat, S., Cephe, A., et al. (2022). Validation of Friedewald, Martin-Hopkins and Sampson low-density lipoprotein cholesterol equations.

PLoS One, 17(5), e0263860. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263860>. PMID: 35559957; PMCID: PMC9106156.

69. Sampson, M., Ling, C., Sun, Q., et al. (2020). A new equation for calculation of low-density lipoprotein cholesterol in patients with normolipidemia and/or hypertriglyceridemia. *JAMA Cardiology*, 5(5), 540-548. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.0013>. PMID: 32101259; PMCID: PMC7240357.
70. Sampson, M., Wolska, A., Cole, J., et al. (2022). Accuracy and clinical impact of estimating low-density lipoprotein-cholesterol at high and low levels by different equations. *Biomedicines*, 10(12), 3156. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123156>. PMID: 36551912; PMCID: PMC9776049.
71. Vargas-Vázquez, A., Bello-Chavolla, O. Y., Antonio-Villa, N. E., et al. (2021). Comparative assessment of LDL-C and VLDL-C estimation in familial combined hyperlipidemia using Sampson's, Martin's and Friedewald's equations. *Lipids in Health and Disease*, 20(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s12944-021-01471-3>. PMID: 33952259; PMCID: PMC8101115.
72. Higgins, V., Leiter, L. A., Delaney, S. R., & Beriault, D. R. (2022). Validating the NIH LDL-C equation in a specialized lipid cohort: Does it add up? *Clinical Biochemistry*, 99, 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.10.003>.