



T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KORONER KALP HASTALIĞINDA SERUM AFAMİN, E VİTAMİNİ
VE OX-LDL DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr.MEHMET ÇETİNKAYA

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

DİYARBAKIR-2021



TC

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KORONER KALP HASTALIĞINDA SERUM AFAMİN, E VİTAMİNİ
VE OX-LDL DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr.MEHMET ÇETİNKAYA

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

Prof.Dr.GÜLTEN TOPRAK

(TEZ DANIŞMANI)

DİYARBAKIR-2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, hoşgörü ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Gülten TOPRAK`a

Anabilim dalında eğitimime katkı sunan birbirinden değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Nuriye METE, Prof. Dr. Abdurrahman KAPLAN, Prof. Sabri BATUN , Prof. Dr. Levent ERDİNÇ, Prof. Dr. Eşref YEĞİN, Prof. Dr. Leyla ÇOLPAN, Doç.Dr.İbrahim KAPLAN, Doç. Dr. Öğretim Üyesi Aysun EKİNCİ`ye

Çalıştığım süre zarfı içerisinde hiçbir şekilde kırgınlık yaşamadığım ve bana bir aile ortamı yakınlığını hissettiren kıymetli asistan arkadaşlarım Dr.Ömer KENANOĞLU, Dr Emine ÖNDER, Dr. Baver AKCAN DUMAN , Dr. Kübra KURTOĞLU`na

Tezimde çalıştığım hastaları bana yönlendiren Kardiyoloji asistanı Dr.Lezgin DURSUN`a

Ve burada ismini tek tek sayamadığım birbirinden değerli onlarca laboratuvar çalışanımıza

TEŞEKKÜR EDERİM

Sevgili aileme en derin sevgilerimle...

Dr.Mehmet ÇETİNKAYA

Diyarbakır/2021

ÖZET

Koroner arter hastalığı çağımızın en önemli hastalıklarındandır. Gelişmiş batı ülkelerinde ölümlerin en az yarısı kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle olmaktadır. Koroner arter hastalığı ateroskleroz sonucu oluşmaktadır.

Arteriyel intimada lipidlerin toplanmasıyla ateroskleroz meydana gelmektedir. Oksidatif modifikasyon hipotezi kültüre makrofajların kimyasal olarak modifiye olmuş LDL(Ox-LDL) varlığında lipit yüklü hücrelere dönüştüğü sonucuyla ortaya çıkmıştır.

Modifiye LDL'nin in vitro düz kas hücresi ve endotel hücrelerinde monosit kemotaktik protein-1'in sentezini arttırdığı gösterilmiştir. Ox-LDL monosit ve lenfositler için kemotaktiktir. Ox-LDL düz kas hücrelerinin çoğalttığı gösterilmiştir. Ox-LDL endotel disfonksiyonu ve hasarına yol açar.

E vitamini LDL'yi oksidatif hasardan korumaktadır. LDL'ye yüksek oranda bağlanma özelliğine sahiptir.

Afamin de E vitaminini bağlayıp kanda taşıma özelliğine sahip bir proteindir. Bu yüzden çalışmamızdaki amaç afamin, E vitamini ve ox-LDL ilişkisini incelemek olacaktır.

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, kardiyoloji klinik ve polikliniklerde takip edilen 50 hasta ve 40 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Tüm katılımcılardan numune toplandı. Serum afamin, E vitamini ve ox-LDL düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Hasta ile kontrol grupları arasında serum afamin, E vitamini ve ox-LDL konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark tesbit edildi. Hasta grubunda afamin düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu. E vitamini hastalarda yüksek bulundu. Ox-LDL düzeyleri hastalarda düşük bulundu. Afamin ile E vitamini arasında güçlü pozitif korelasyon tesbit edildi.

Sonuç olarak koroner arter hastalarında afamin, ox-LDL ve E vitamini düzeylerindeki değişimler hastalığın patogenezinde oksidatif stresin rol aldığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Koroner arter hastalığı, Afamin, E vitamini, okside LDL

ABSTRACT

Coronary artery disease is one of the most important diseases of our age. At least half of the deaths in developed western countries are due to cardiovascular diseases. Coronary artery disease occurs as a result of atherosclerosis.

Atherosclerosis occurs with the accumulation of lipids in the arterial intima. The oxidative modification hypothesis arose from the conclusion that cultured macrophages transform into lipid-laden cells in the presence of chemically modified LDL (Ox-LDL).

Modified LDL has been shown to increase the synthesis of monocyte chemotactic protein-1 in smooth muscle cells and endothelial cells in vitro. Ox-LDL is chemotactic for monocytes and lymphocytes. It has been shown to proliferate Ox-LDL smooth muscle cells. Ox-LDL causes endothelial dysfunction and damage.

Vitamin E protects LDL from oxidative damage. It has a high level of binding to LDL.

Afamin is also a protein that has the ability to bind vitamin E and transport it in the blood. Therefore, our study will examine the relationship between afamin, vitamin E and ox-LDL.

Fifty patients and 40 healthy volunteers followed in Dicle University Medical Faculty Hospital, cardiology clinics and polyclinic were included. Samples were collected from all participants. Serum afamin, vitamin E and ox-LDL levels were measured by ELISA method.

There was significant difference between serum afamin, vitamin E and ox-LDL concentrations between the patient and control groups. Afamin levels were found to be significantly higher in the patient group. Vitamin E was found to be high in patients. Ox-LDL levels were found to be low in the patients. A strong positive correlation was found between afamin and vitamin E.

As a result, afamin, ox-LDL and vitamin E levels in coronary artery patients indicate that oxidative stress plays a role in the pathogenesis of the disease.

Key words: Coronary artery disease, Afamin, Vitamin E, oxidized LDL

İÇİNDEKİLER

DIŞ KAPAK.....	i
BOŞ SAYFA	ii
İÇ KAPAK SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Koroner Dolaşım.....	4
2.2. Koroner Arterlerin Yapısı ve Fizyolojik Özellikleri.....	4
2.3. Koroner Arterlerdeki Histolojik Katmanlar.....	6
2.4. Koroner Kalp Hastalığı.....	7
2.4.1. Epidemiyoloji.....	7
2.4.2. Risk faktörleri.....	8
2.4.3. Yeni risk faktörleri.....	13
2.4.4. Ateroskleroz.....	14
2.4.5. Koroner arter hastalığının ciddiyetinin değerlendirilmesi.....	15
2.5. Afamin.....	18
2.5.1. Afaminin biyolojisi.....	18
2.5.2. İnsan vücut sıvılarında afamin ifadesi ve oluşumu.....	21

2.5.3. İnsan afamininin Enzime Bağlı İmmünosorbent Testinin (ELISA) analitik özellikleri ve klinik değerlendirmesi.....	21
2.5.4. Afamin ölçümünün klinik uygulamaları.....	22
2.5.5. Sonuçlar ve gelecek perspektifleri.....	24
2.6. E vitamini.....	26
2.6.1. E vitamininin etkileri.....	26
2.6.2. E vitamininin görevleri.....	27
2.6.3. Oksidatif stres ve E vitamini.....	29
2.6.4. Serum veya plazmada E vitamini.....	30
2.7. Okside LDL.....	30
2.7.1. Lektin benzeri okside-LDL reseptör-1.....	30
2.7.2. Okside-LDL ve reseptörü lektin benzeri Okside-LDL Reseptör-1 etki mekanizması.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	35
3.1. Kullanılan Gereçler.....	35
3.2. Kullanılan Kimyasallar.....	35
3.3. Örnek Seçimi.....	35
3.4. Yöntemler.....	36
3.4.1. Afamin ölçümü.....	36
3.4.2. E vitamini ölçümü.....	37
3.4.3. Ox-LDL ölçümü.....	38
3.4.4. İstatiksel analiz.....	39
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
7. KAYNAKLAR.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

KAH	Koroner Arter Hastalığı
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
SR	Scavenger reseptör
LOX-1	Lektin Benzeri Okside LDL Reseptörü 1
IL-1B	İntelökin 1 beta
TNF-a	Tümör Nekroz Faktör Alfa
MMP	Matriks metalloproteinazlar
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
ARG	Alfa fetoproteinle ilişkili gen
Hs-CRP	Yüksek duyarlılıklı C- reaktif protein
IFN-gama	İnterferon-gama
TGF B1	Transforming growth faktör beta 1
ROS	Reaktif oksijen radikalleri
MCP-1	Monosit kemotaktik protein 1
PKC	Protein Kinaz C
PDGF	Platelet kökenli büyüme faktörü
OX-LDL	Okside LDL

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, Erişkin Tedavi Paneli III rehberine göre kan lipid seviyelerinin sınıflandırması.....	11
Tablo 2: Gruplar ve cinsiyetlerin dağılımı.....	40
Tablo 3: Hasta ve kontrol grubunda yaşların normal dağılımını gösteren tablo...	40
Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunda yaşların ortalamasının student-t testi ile kontrol edilmesi.....	40
Tablo 5: Erkek ve kadınların yaşlarının normal dağılıp dağılmadığını gösteren tablo.....	41
Tablo 6: Erkek ve kadınların yaş ortalamaları arasındaki ilişki.....	41
Tablo 7: Hasta grubunun Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleriyle değerlendirilmesi.....	42
Tablo 8: Kontrol grubunun Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleriyle değerlendirilmesi.....	42
Tablo 9: Afamin ve E vitaminin hasta ve kontrol gruplarının Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi.....	43
Tablo 10: Yaş ve Ox-LDL'nin student-t testi ile değerlendirilmesi.....	43
Tablo 11: Afamin ve E vitamininin kadın ve erkek hastalar arasında Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi.....	43
Tablo 12: Ox-LDL'nin kadın ve erkeklerde student –t testi ile değerlendirilmesi....	44
Tablo 13: Afamin ve E vitamininin kadın hasta ve kadın kontrol arasında Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi.....	44
Tablo 14: Afamin ve E vitamininin erkek hasta ve erkek kontrol arasında Mann-Whitney U testinin uygulanışı.....	44
Tablo 15: Ox-LDL'nin kadın ve erkek hastalarda ayrı ayrı değerlendirilmesi.....	44
Tablo 16: Hasta ve kontrol toplam korelasyonları.....	45
Tablo 17: Hasta grubunun korelasyonları.....	46
Tablo 18: Kontrol grubunun korelasyonları.....	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Koroner Arterlerin Anatomisi.....	4
Şekil 2. Tipik Bir Damarın Duvar Yapısı.....	5
Şekil 3. Amerikan Kalp Derneğine Göre Plak Evreleri.....	15
Şekil 4. Gensini skorunda kullanılan lezyon yüzdesi ve karşılığı olan skorlar.....	16
Şekil 5. Gensini skorlamasında kullanılan damar segmentine göre çarpım faktörleri.	17
Şekil 6. İnsan Afamininin Homoloji Modelinin Şerit Sunumu.....	20
Şekil 7. Afaminin varsayılan patofizyolojik fonksiyonlarının özeti.....	24

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bilindiği üzere koroner kalp hastalığı diğer kalp hastalıkları içinde en sık görülen formudur. Tüm dünyada erkek ve kadınlarda çok önemli ölüm nedenidir. Daha çok ateroskleroz damarlarda daralmaya neden olur. Bu daralma anjina pectoris denilen göğüs ağrısına hatta ölümcül miyokard enfarktüsüne yol açabilmektedir. Koroner kalp hastalığının tedavisindeki amaç semptomları kontrol altında tutmak ve hastalığın ilerleyişini durdurmaktır. Tedavinin yönetimi, semptomlar, fizik muayene ve tanısal testlerle olmaktadır. Miyokard iskemisinin en sık nedeni aterosklerotik damar tıkanıklığı olmakla birlikte başka sebepleri de vardır. Bunlar; hipertrofik kardiyomiopati, dilate kardiyomiopati ve aort darlığı gibi.

20. yüzyılın başlarında koroner arter hastalığı diğer tüm ölümlerin %10'dan daha azından sorumlu iken 21.yüzyılın başlangıcında gelişmiş ülkelerdeki ölüm oranlarının yarısından, gelişmekte olan ülkelerin ise çeyreğinden sorumludur.

Framingham kalp çalışması verileri başlangıçta koroner arter hastalığında kararlı anjina pectorisi olan hastalardaki ilk iki yıllık ölüm oranları sırasıyla erkeklerde %14.3 ve %5.5 kadınlarda ise %6.2 ve %3.8 olduğu gösterilmiştir (1-3).

Antianjinal ve revaskülarizasyon çalışmasından elde edilen verilere göre yıllık ölüm hızı %0.9 ile %1.4 arasında değiştiği görülmüştür. Yıllık ölümcül olmayan miyokard infarktüsünün sıklığı INVEST çalışmasında %0.9 ve TIBET6 çalışmasında %2.6 arasında bir değişim göstermiştir (4). Kararlı anjinası olan hastalarda başlangıçtaki risk faktörlerine göre ölüm oranlarının on kata kadar artması nedeniyle risk sınıflandırılmasının dikkatli bir şekilde yapılmasının önemli olduğunu belirtmekte yarar vardır.

Anjinanın tanısı ve değerlendirmesi hastanın kliniği laboratuvar verileri ve özel kardiyak testler ile yapılmaktadır. Genellikle tanıya yönelik testler bize prognoz hakkında bilgi de sağlamaktadır.

Afamin bir insan glikoproteinidir. Albümin gen ailesinin dördüncü üyesi olarak keşfedilmiştir. Son yirmi yıldaki yoğun çalışmalara rağmen afaminin fonksiyonu hakkındaki bilgimiz hala çok sınırlıdır. Dolaşımdaki afamin karaciğer kökenlidir.

Plazmada, serebrospinal sıvılarda, yumurtalık foliküler ve seminal sıvılarda bol miktarda bulunur. İn vitro yapılan çalışmalarda E vitamini için spesifik bağlanma  zelliiinin olduğu ortaya konmuştur. Yapılan  alışmalar afaminin laboratuvar tıbbı için kalite özelliklerini karşıladığı g r lm ştur. Afamin yumurtalık kanseri için potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Afamin ayrıca diğer kanser türlerinde de çalışılmıştır. Bu çalışmaların çoğu ileri bir değerlendirmeyi beklemektedir. Daha büyük popülasyonlarda da bu çalışma desteklenmelidir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda afamin geninin aşırı aktive edilmesi v c t kitlesinde artışa kan lipid ve glikozunda bir miktar artışa yol açmıştır. Bu fare verileri afaminin metabolik sendromla olan ilişkisini üç farklı popülasyonla yapılan incelemedeki veriler ile de desteklenmektedir. Bu çalışmadaki amaç afaminin E vitaminini taşımasından dolayı koroner arter hastalığı üzerindeki etkisini araştırmak olacaktır.

E vitamini antioksidan özelliklere sahiptir. E vitamini damar sertliği oluşumunu ve kanser gelişimini engeller. Serbest radikaller ile savaşarak antioksidan özellik gösterir. Membrandaki doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korur. Daha önce yapılmış çalışmalarda antioksidan özelliği a-tokoferolde gözlemlenmiştir. Bunu da LDL`yi oksidasyona karşı koruyarak sağlamaktadır. Lipidlerin peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikaller a-tokoferolle birleşir ve böylece zincir kırılır. Bir molekül a-tokoferol 100 molekül çoklu doymamış yağ asidinin peroksidasyonunu engelleyebilir. E vitamini antioksidan özelliğini bir hidrojen atomu vererek peroksitleri nötralize ederek gösterir. Tokoferollerin oksijen tutma kapasitesi alfa>beta>gama>delta tokoferole doğru gittikçe düşüş göstermektedir. Bir diğer çalışmada E vitamini tümör gelişiminin olduğu yere hücre g  n  teşvik etmiştir. E vitaminin koroner arter hastalarındaki düzeyinin tesbiti bize bir antioksidan olarak etkisinin gösterilmesi açısından oldukça önem arzetmektedir.

Oksidatif stres fazla serbest radikal oluşumuna yol açar. Bu da antioksidan yetersizliği sonucu doku hasarına yol açar. Oksidasyon ürünü olan okside düşük dansiteli lipoprotein lektin benzeri ox-LDL (LOX-1) reseptörüne bağlanır. Ox-LDL ve LOX-1 endotel disfonksiyonu, monosit hücre adezyonu, düz kas hücrelerinde proliferasyon, hücre migrasyonu ve apoptozisi, yağ hücre yapımı ve trombosit aktivasyonu ile ilgili durumlarda görev alır.

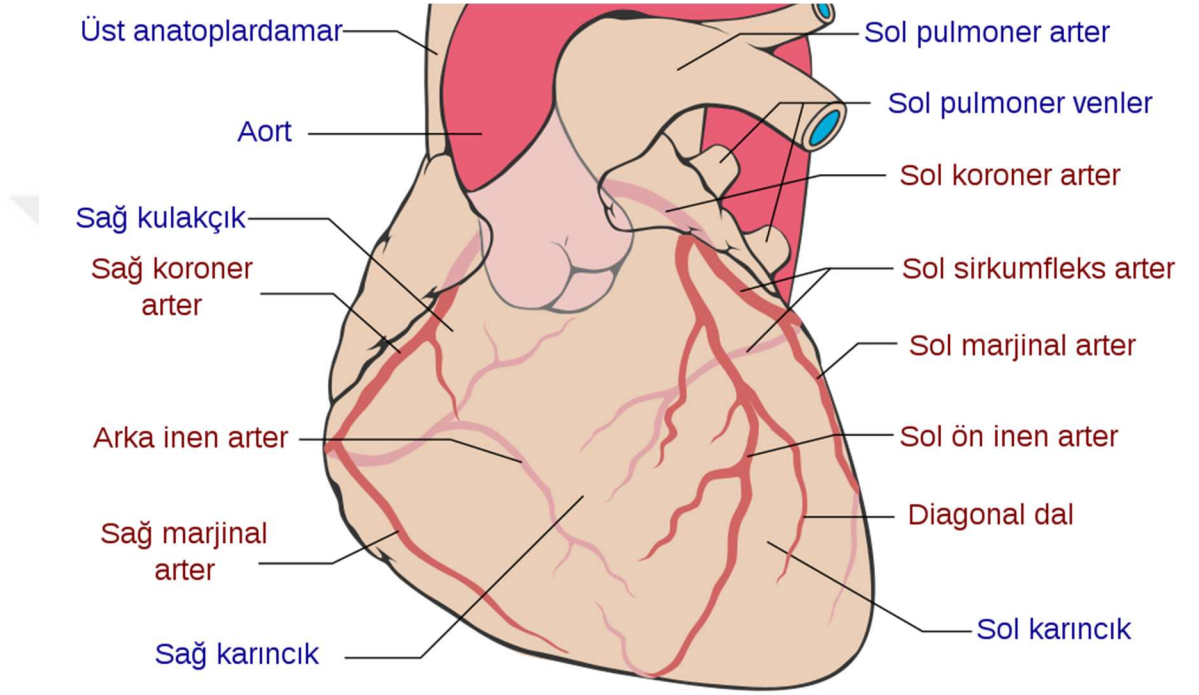
Oksidatif stres ve inflamasyon lipid ve lipoproteinlerde oksidasyona yol açmaktadır (5). Okside LDL oluşumu çeşitli hastalıklarda görülmektedir. Ox-LDL ateroskleroz,

kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, böbrek hastalıkları gibi birçok hastalıkta rol oynamaktadır. Aterosklerozdaki birincil olay LDL ve onun okside şekli olan ox-LDL'nin endotel altında birikim göstermesidir (6). Daha sonra bunu kan hücrelerinin aktivasyonu ve infiltrasyonu takip eder. Kemokinlere cevap veren lökositler endotele adezyonun ardından intima'ya geçerler. Monositler makrofajlara dönüşerek matriks parçalanmasına yol açan enzimlerin aktivasyonuna yol açar bu da aterosklerotik plağın yapısını bozar (7, 8). Endotel adezyon ve kemotaktik maddeler salgılar. Bu maddeler makromoleküllerin endotel altına geçişini artırır. Bundan dolayı endotel altı hücre dışı matriks yapısı değişir. LDL'nin endotel duvarını geçmesinden sonra apo B-100 ekstraselüler matriksin proteoglikanlarına bağlanarak aterosklerozun oluşmasında primer rol oynar. Endotel altı matrikse bağlanan LDL vasküler hücreler tarafından okside olmaktadır. Ox-LDL'de apoB-100'ün negatifitesi artar böylece scavenger reseptörlerden (SR) içeri alınarak makrofaj yağ hücresi oluşur (6). Ox-LDL daha sonra makrofaj ve düz kas hücrelerinin içerisine girer (9). Makrofajlardan IL-1B ve TNF-a salınımını artırarak aterosklerozise zemin hazırlar. Ateroskleroz gelişiminde diğer bir etken düz kas hücrelerinin media tabakasından endotel aralığına geçmesi ve trombosit derive büyüme faktörü gibi medyatörler ile çoğalırlar. Düz kas hücreleri elastin ve kollajen üreterek aterosklerotik plak yapımına katkıda bulunurlar. Aterosklerotik plakta nekrotik bir çekirdek bulunur. Bu plakta lipid, hücre kalıntıları ve yağ hücreleri bulunmaktadır. Aterosklerotik plak rüptürüne inflamasyon hücreleri yol açar. Bu matriks metalloproteinazların (MMP) sayısındaki artışla kollajen yıkılımını gerçekleştirilerek yapılmaktadır (6). LDL'nin çekirdeği 1600 kolesterol esteri ve 170 molekül trigliserit ihtiva etmektedir. Bunun etrafında ise 700 fosfolipid molekülü ve 600 molekül kolesterol yer almaktadır. Dış tabakada ise apoB-100 molekülü yer almaktadır. LDL yağ asitlerinin %50'si çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) içermektedir. Antioksidanlar PUFA'yı oksidasyondan korurlar. Bunların başında E vitamini gelmektedir. Diğer antioksidanlar karotenoidler ve ubikinol-10'dur. LDL metal iyonları, lipooksijenazlar, myeloperoksidazlar ve reaktif oksijen radikalleri ile okside olurlar. PUFA'lar okside olarak yağ hidroperoksitlerine dönüşürler. Daha sonra hidroperoksitler reaktif aldehitlere (malondialdehit, 4-hidroksinonenal) dönüşürler. Ox-LDL çeşitli SR'lere (SR-A, SR-BI, LOX-1, CD36, CD68 ve mikrosialin) reseptörlerine bağlanarak makrofaj içerisine alınır ve yağ hücreleri oluşur. Bizim de çalışmamızdaki amaç koroner arter hastalarında ox-LDL düzeylerini tesbit etmek, ayrıca afamin ve E vitamini ile ilişkisini incelemek olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koroner Dolaşım

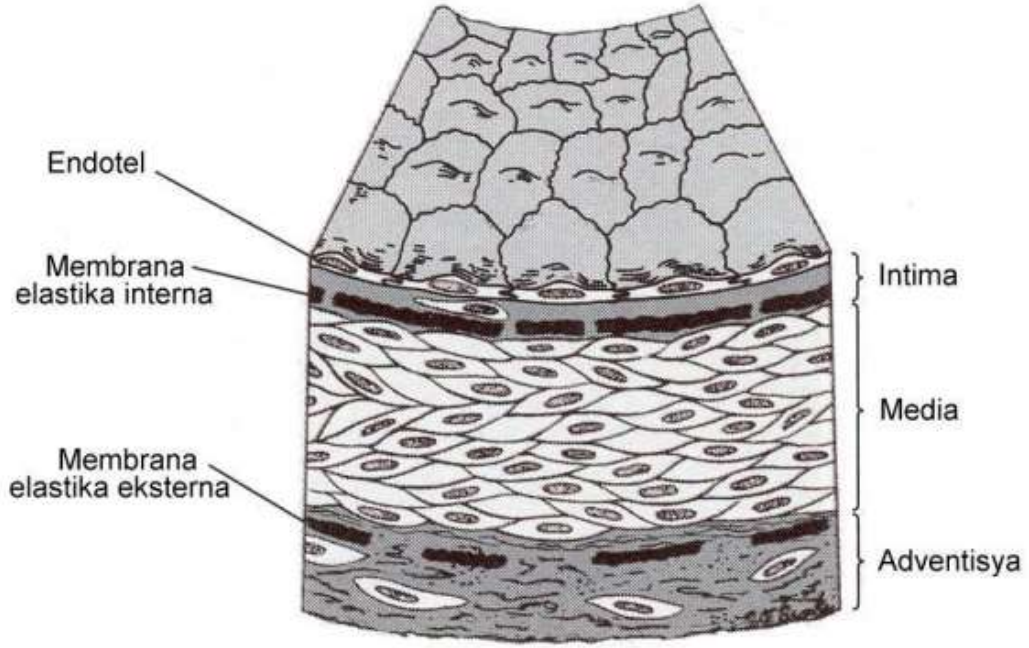
Kalbi besleyen damarlardaki kan dolaşımına koroner dolaşım denir. Kalbin kas dokusu oldukça kalındır. Kalbin içi kanla dolu olmasına rağmen miyokardın (kalp kası)'ının kanlanması için koroner arterlere ihtiyaç duyulmaktadır. Miyokarda temiz kanı götüren damarlara koroner arter, kirli kanı kalpten uzaklaştıran damarlara koroner ven denmektedir.



Şekil 1: Koroner arterlerin anatomisi

2.2. Koroner Arterlerin Yapısı ve Fizyolojik Özellikleri

Arterler çaplarına göre üçe ayrılırlar. Büyük boy, orta boy ve küçük boy olmak üzere ayrılırlar. Ayrıca histolojik yapılarına göre de ikiye ayrılırlar. Bunlar elastik tip (büyük boy) ve müsküler tip (orta ve küçük boy) olmak üzere ayrılırlar. Damarların tabakaları kapiller damarlar ve venüller dışında üçe ayrılırlar. Bu histolojik tabakalar şunlardır. Tunika intima (iç tabaka), tunika media (orta tabaka) ve tunika adventisya (dış tabaka) şeklinde ayrılırlar.



Şekil 2:Tipik bir damarın duvar yapısı

Büyük tip arterler (Elastik arterler, iletici arterler): Aorta, arteria pulmonalis, arteria carotis communis, arteria subclavia ve arteria iliaca communis bu sınıfta yer almaktadır. Bu arterlerin duvarları çaplarına göre daha ince yapıdadır. Tunica media tabakasında bol miktarda elastik fibril bulunmaktadır. Bu yüzden canlı dokuda sarı renkte görünmektedir. Kalbin yakınındaki büyük iletici damarlarda sistol esnasında elastik fibrillerin boyu uzar. Diastolde ise bu fibriller geri çekilir ve bu sayede kan basıncı korunmuş olur. Bu elastik arterler kalp atımı aralıklı olmasına rağmen kan akımının sürekliliğini sağlarlar.

Orta tip arterler (müsküler arterler, dağıtıcı arterler): Koroner arterler, arteria brakialis, arteria femoralis, arteria radialis ve dalları bu sınıfta yer almaktadır. Arteriyel damarların çoğu bu grupta yer almaktadır.

Küçük tip arter ve arterioller: Bunlar tunika medyadaki düz kas hücre katmanı sayısına göre belirlenir. Arteriyollerde düz kas hücre tabakalarının sayısı yalnızca 1-2 iken, küçük arterlerde tabaka sayısı 8-10'a kadar artabilmektedir.

Arterioller, kılcal damarlara gidecek olan kanı düzenleyen damarlardır.

2.3. Koroner Arterlerdeki Histolojik Katmanlar

Tunika intima: Lümen tarafına bakan kısmı tek sıralı endotel tabakasıyla örtülüdür. Endotelyal tabakanın altında ince bir subendotelyal tabaka bulunmaktadır. Tunika media katmanına yakın dış bölümde damarın enine kesitinde kıvrıntılı bir biçimde membrana elastika interna görülmektedir. Endotel, damarların iç yüzeyini örter. Kan materyalleriyle temas halindedir. Hayatımız süresince travmaya uğramaktadır. Endotel içte ekstrasellüller matrikse yerleşmiş tek sıralı hücre katmanıdır. Tunika intimanın iç yüzeyini örter ve metabolik olarak pasif değildir. Endotel hücrelerinin hemostazda önemli vazifeleri vardır. Dış yüzeyinde bulunan heparan sülfat aracılığıyla antitrombin III'ü trombine bağlayarak onu inaktive eder. Trombomodulin endotel hücre yüzeyinde bulunmaktadır. Bu molekül trombine bağlanır ve protein S ve C'yi pasif durumdan çıkararak, antitrombotik etki gösterir. Trombüs oluşmaya başladığı anda endotel hücreleri fibrinoliz mekanizmalarını devreye sokar. Bu sırada doku plazminojen aktivatörlerini yaparlar. Bu enzimler plazminojenin plazmine dönüşümünde katalizör vazifesi görürler. Plazmin ise fibrinolitik bir enzimdir. Bu durumda endotel damar içerisindeki kan akışının sürekliliğini sağlamakla görevlidir. Endotelin yerleştiği ekstrasellüler matriks tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve öteki hücre dışı matriks moleküllerinden meydana gelir. Bu ekstrasellüler matriks damar düz kas hücreleri tarafından üretilmektedir.

Tunika media: Bu tabakanın eni düz kas hücrelerinin oluşturduğu 3-4 tabakadan 40 tabakaya kadar değişkenlik göstermektedir. Kollajen ve elastik fibriller bunları üreten hücreler olan düz kas hücrelerinin arasında yer almaktadır. Vasa vasorumlar media tabakasının dış 2/3'lük kısmını beslemektedirler. Media tabakasının iç 1/3'lük kısmı ise damar lümeninden beslenir.

Tunika adventisya: Adventisya tabakası, musküler arterlerde tunika media kadar kalın olabilmektedir. Boylamasına dizilmiş elastik fibriller ve az miktarda kollajen fibriller içerir. Elastik fibrillerin büyük bir kısmı musküler arterlerde adventisya tabakasında bulunmaktadır. Membrana elastika eksterna media katmanına yakın iç bölümlerde çevre bağ dokusuyla devamlılık gösterir. Vazomotor sinirler ve lenfatik damarlar tunika adventisya tabakasında bulunurlar.

2.4. Koroner Kalp Hastalığı

Koroner arter hastalığının en sık nedeni aterosklerozdur. Ayrıca koroner kalp hastalığının daha az sıklıkta aterosklerotik olmayan sebepleri de vardır. Bunların bir kısmı doğuştan gelen anormaller, emboli, travma, diseksiyon, spazm, koroner arter tutulumuyla seyreden artritler, metabolik hastalıklar, hiperkoagülabilitateye neden olan hastalıklar ve madde bağımlılığıdır.

Koroner arterlerde ateroskleroz gelişmeden önce endotelde fonksiyon bozukluğu ortaya çıkmaktadır. Kalbin koroner arterlerindeki aterosklerozun karmaşık olmasında endotel fonksiyon bozukluğu önemli rol oynamaktadır. Endotelin fonksiyonunun bozulması sonucunda inflamasyon, lipid birikimi, fibröz hiperplazi ve en sonunda ateroskleroz oluşur.

Kardiyovasküler hastalıklar gelişmiş ülkelerde en fazla morbidite ve ölüme neden olan hastalıkların önde gelen sebebidir. Koroner kalp hastalığı bütün yaş gurubunda çok önemli bir morbidite nedeni olup yaşlı nüfusu arttıkça bu hastalığın görülme sıklığı da artmaktadır. Koroner kalp hastalığının önlenmesi, tanısı ve tedavisi önemli bir sağlık problemidir.

2.4.1. Epidemiyoloji

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada gittikçe artan morbidite ve mortalite açısından büyük önem arz etmektedir. Dünya sağlık örgütüne göre 2002 yılında 17 milyon insan kalp damar hastalıklarından ölmüştür ve bunun 7.2 milyonu koroner arter hastasıdır (10). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında koroner arter hastalığının sıklığı değişkenlik göstermektedir. 2001 yılında dünyada bulunan bütün ölümlerin %29,3'ünü koroner kalp hastalığına bağlı ölümler meydana getirmektedir. Gelişmiş ülkelerdeki ölümlerin yarısını gelişmekte olan ülkelerdeki ölümlerin çeyreğini koroner kalp hastalığına bağlı ölümler meydana getirmektedir. Gelişmekte olan çoğu ülkede ölüm nedenleri enfeksiyöz nedenlerden kronik hastalıklara evrilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde malnütrisyon ve bulaşıcı hastalık sıklığı azalmakta, nüfusun yaşlanmasıyla ve sigara kullanımındaki artışla beraber koroner arter hastalığı ve kronik hastalıkların sıklığında artış görülmektedir (11).

Koroner arter hastalığında obstrüksiyon sonucu kalp dokusunun kanlanması azalmıştır. Buna trombüs de eklenerek ölümcül miyokard enfarktüsü meydana

gelmekte ve bu tek başına ABD'deki ölümlerin %20-25'inin sebebidir (12). Koroner arter hastalığı bakımından gelişmiş ülkeler olan Kuzey Amerika, Kuzey ve Orta Avrupa ülkeleri ilk sıralarda yer alırken Yunanistan, Yugoslavya ve İtalya gibi akdeniz ülkelerinde koroner arter hastalığı sıklığı ilk gurubun üçte biri kadardır. Japonya gibi Asya ülkelerinde koroner kalp hastalığına daha az rastlanmaktadır (13).

Koroner ölüm riski bakımından erkeklerde Letonya birinci Türkiye ikinci sırada bulunurken, kadınlarda ise Türkiye birinci sırada bulunmaktadır (14). Ülkemizin nüfusu diğer gelişmekte olan ülkelerdeki gibi genç çoğunlukta iken koroner arter hastalığının bu kadar çok çıkması gelecek açısından oldukça endişelendiricidir. 1990 yılında Türkiye'de 20 yaş üzeri insanlarda yapılan bir çalışmada koroner arter hastalığı sıklığı erkeklerde %4.1, bayanlarda ise %3.5 olarak tespit edilmiştir (15). Aynı araştırma gurubunun yaptığı bir diğer çalışmada 5 yıllık takip sonucunda erkeklerde ölüm oranı binde 4.3 bayanlarda ise binde 4.0 olarak tesbit edilmiştir. TEKHARF çalışması verileri, 2007/08 tarama sonuçlarına göre koroner arter hastalığı varlığı toplumumuzda 1990'dan beri senede %6.4 oranında artış bir diğer anlatımla senede 200 bin kişi artmıştır. Bu zaman diliminde 35 yaş ve üzerindeki kişi sayısı senede %3.3 oranında artış göstermektedir. Koroner arter hastalığı hızı nüfus artışı ve yaşlanmadaki artıştan bağımsız olarak yaşam tarzımızdaki değişiklikler sonucu senede %3 oranında artmaktadır. Genel ölüm sebepleri açısından koroner arter hastalığı %40 ile birinci, kanser %22 ile ikinci ve serebrovasküler olaylar %10'luk oranla üçüncü sırada yer almaktadır (16).

2.4.2. Risk faktörleri

Risk faktörlerinin tesbiti hasta olmayanları koruma ve hasta olanları da hastalığın tekrar etmesini engellemek açısından büyük önem teşkil etmektedir. Koroner arter hastalığı risk faktörleri ilk defa 1948 yılında Framingham kalp çalışmasında belirlenmiş ve daha sonraki birçok çalışmada desteklenmiştir. Dislipidemi her ne kadar koroner arter hastalığında önemli bir risk faktörü olmasına rağmen, diğer risk faktörleri de bulunmaktadır. Yaş, erkek cinsiyet ve aile öyküsünün bulunması gibi eskiden beridir bilinen risk faktörleridir ve bu faktörler yeniden düzenlenemezler. Hipertansiyon, sigara, diyabet, obezite, sedanter yaşam, ateroskleroza neden olan diyet ve trombojenik/hemostatik durumlar düzenlenebilir risk faktörleri arasında yer almaktadır.

2.4.2.1. Yaş ve cinsiyet

Koroner arter hastalığı riski yaş ile beraber artmaktadır (17). Aterosklerozda lezyonlar erken çocukluk döneminde başlamasına rağmen, morbidite ve mortalitesi ileri yaşlarda görülür ve her on yılda bir artmaktadır. Erkeklerde bu sınır 45 bayanlarda ise 55 yaştır. Oral kontraseptif alan veya erken menapoza giren bayanlarda bu risk gittikçe artmaktadır. Menepoz öncesi dönemde bayanların riski erkeklerin 1/7'si iken bu oran yaş ilerledikçe artmakta ve 70'li yıllarda eşitlenmektedir.

2.4.2.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon koroner arter hastalığında oldukça önemli bir risk faktörüdür. Tüm koroner arter hastalığının aterosklerotik tipinde %35'lik bir miktardan hipertansiyon etkendir. Koroner arter hastalığı hipertansiyonda 2-3 katlık bir risk artışına sahiptir (18). Sistolik kan basıncındaki her 20 mmHg'lık ve diyastolik kan basıncındaki her 10 mmHg'lık basınç artışı koroner arter hastalığına ve inmeye bağlı ölüm riskini iki kat arttırmaktadır. Hipertansiyonun koroner kalp hastalığına yol açan sebepleri arasında endotel fonksiyon bozukluğu, artmış oksidatif stres, endotel altında lipit birikimi, plak rüptürü riskinin artması, artmış kalp kasının oksijen ihtiyacı ve kalp duvarının strese maruz kalması gibi faktörler bulunmaktadır.

2.4.2.3. Diabetes mellitus

Diyabet koroner arter hastalığında kendi başına bir risk faktörüdür ve erkekte risk iki kat kadında ise dört kat artar (19, 20). Diyabet Ulusal Kolesterol Eğitim programına göre koroner arter hastalığı benzeri olarak görülmekte en yüksek risk atfedilmektedir. Miyokard infarktüsü olmayan diyabetli hastalarda miyokard infarktüsü riski %20 mortalite riski %15 saptanmıştır. Bu risk oranı miyokard infarktüsü olan ve diyabetli olmayanlar için benzer görüldüğü için yüksek riskli tesbit edilmiştir (21). Diyabeti olan hastalarda miyokard infarktüsü sonucu sağ kalım oranları diyabeti olmayanlardan çok daha azdır (22, 23). Diyabetin koroner arter hastalığına yol açma mekanizmaları şunlardır, artmış LDL ve trigliserit düzeyi, düşük HDL, artmış lipoprotein kalıntı düzeyleri, artmış Lp(a) konsantrasyonu, yüksek lipoprotein oksidasyonu, fibrinojen yüksekliği, trombosit agregasyon yüksekliği, yüksek plazminojen aktivatör inhibitörü-1, bozuk fibrinoliz, artmış von Willebrand faktör düzeyleri, hiperinsülinemi ve bozuk endotel fonksiyonlarını içermektedir (17). İnsülin direnci ve yüksek insülin düzeyleri damar yapılarını bozar, endotel fonksiyon bozukluğu yapar ve koroner arter

hastalığına neden olur (24, 25). Tip 2 diabetes mellitusun neden olduğu risklerin büyük çoğunluğu, artmış küçük yoğun LDL (‘‘small dense LDL’’sdLDL) azalmış HDL ve artmış trigliserit düzeylerinden dolayı olabilir. Diyabet hastalarında teşhis konulduğunda çoğunda ileri düzeyde ateroskleroza rastlanmaktadır. Tip 2 DM olan kadınların erkeklere göre riski daha fazladır. Bunun sebebi diyabetin kadınlarda lipoproteinler üzerindeki olumsuz etkileridir (26).

2.4.2.4. Dislipidemi

Dislipidemisinin en önemli ölüm nedeni koroner arter hastalığıdır. Dislipidemi modifiye edilebilen bir risk faktörüdür. Aterosklerotik damar hastalığının kan kolesterol düzeyi ile direk bağlantısı olduğuna dair güçlü deliller vardır. Lipid ve protein barındıran yüksek molekül ağırlıklı karmaşık partiküllere lipoprotein denir. Fizyolojik şartlar altında lipoproteinler, normal büyüme ve gelişmeyi sağlamak, enerji elde etmek ve depolamak için hücrelere yağ moleküllerini taşırlar. Ateroskleroza önemli rol oynayan lipoprotein olan LDL damar duvarından iki yönlü lipid taşınımında görev alır (27). LDL lipoproteinlerin heterojen bir toplamıdır. Farklı büyüklük ve yoğunlukta minimum 15 alt çeşidi vardır. Fakat tüm LDL partiküllerinde aynı aterosklerotik potansiyel yoktur. LDL üç gruba ayrılır; büyük hafif LDL, orta LDL, küçük yoğun LDL şeklindedir. LDL'nin büyüklüğü ateroskleroz riski ile ters orantılıdır. Akut koroner sendromların son basamağı olan pıhtının meydana gelmesine LDL katkıda bulunabilmektedir. HDL kolesterol ise antiaterojenik olup, aterosklerotik lezyondan kolesterolü uzaklaştırır. Diğer yandan HDL, LDL oksidasyonunu ve birikimini azaltır. HDL'nin ortalama 1mg/dl düşmesi koroner arter hastalığı riskini %2-3 yükseltmektedir (28). Koroner arter hastalığı için düşük (<40mg/dl) HDL kolesterol düzeyleri yüksek risk teşkil etmektedir (29). Yüksek HDL kolesterol (>60mg/dl) düzeyleri ise koroner arter hastalığından koruyucu olduğu kılavuzlarda belirtilmektedir (29). Kan toplam kolesterol düzeyi arttıkça koroner arter hastalığı riski de artmaktadır. LDL kolesterol seviyesinde %1 oranındaki azalma, koroner arter hastalığı riskini %2 oranında azaltmaktadır (30). Koroner arter hastalığı olan ve birden fazla risk faktörünün eşlik ettiği yüksek riskli hasta grubunda kan LDL kolesterol seviyesinin 70 mg/dl'den daha düşük olması istenmektedir (31). Fakat LDL kolesterolün istenen seviyede olması yetmemektedir, HDL kolesterolün düşük olması da koroner arter hastalığı için bir risk faktörüdür (32-34). Framingham çalışması

verilerine göre, total kolesterol 200'den küçük olduğu ve HDL kolesterolün 40 mg/dl ile 60 mg/dl arasında olduğu hallerde 14 yıllık koroner arter hastalığı sıklığı, sırasıyla %11.2 ve %3.8 olarak bildirilmiştir (35). Amerika'da koroner arter hastalığı olanların %40'ında, Türkiye'de ise daha büyük oranlarda LDL normal ve HDL düşük seviyelerde tesbit edilmiştir (36). Daha önceleri yapılmış çalışmalarda trigliserit yüksekliğinin artmış koroner arter hastalığı riski ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir. Trigliserit yüksekliği değişik aterosjenik faktörlerle güçlü bir ilişki içerisinde. Bu faktörlerden bazıları şunlardır; hipertrigliseridemi, artmış küçük yoğun LDL partikülleri ve düşük seviyeli HDL'den oluşan lipid tiradı ve metabolik sendromdur. Trigliserit düzeyi yüksek hastaların tedavisi geniş tabanlı bir çalışma ile aterosjenik trigliseritleri bulunduran lipoproteinlerin azaltılması, lipid triadının ve metabolik sendromun düzeltilmesini içermelidir (37).

	Total kolesterol (mg/dL)	LDL-kolesterol (mg/dL)	Trigliserid (mg/dL)
Optimal		<100	
Normal	<200	100-129	< 150
Sınırdan yüksek	200-239	130-159	150-199
Yüksek	≥240	160-189	200-499
Çok yüksek		≥190	≥500

Tablo 1:Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, Erişkin Tedavi Paneli III rehberine göre kan lipid seviyelerinin sınıflandırması.

2.4.2.5. Aile öyküsü

35 yaş üzerinde yapılan çalışmalarda ailede birinci dereceden akrabalar ile koroner arter hastalığının hikayesi arasında bağlantı tesbit edilmiştir. Koroner arter hastalığı riski diğer faktörler düzeltilmesine rağmen devam etmektedir (38). Koroner kalp hastalığı için primer risk birinci dereceden akrabalarda erken yaşta koroner arter hastalığının ortaya çıkmasıdır. Babada veya diğer erkek yakınlarında 55 yaşından önce , annede veya diğer kadın yakınlarında ise 65 yaşından önce koroner arter hastalığının oluşması bu hastalığın riskini 1.3-1.6 kat arttırmaktadır (39, 40). Erken yaşta koroner

arter hastalığına sahip akrabalar bulundukça, aile hikayesinin önemi artmaktadır (41, 42).

2.4.2.6. Sigara

Koroner arter hastalığının azalması açısından sigaranın bırakılması diğer risk faktörlerinden daha büyük bir önem arz etmektedir. Riskin 2 veya 3 kat artmasındaki sebep günde en az 20 sigara içilmesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte oral kontraseptif kullanan bayanlarda riskte paralel bir artış görülmektedir. Miyokard infarktüsüne bağlı kardiyak ölüm riski sigara içenlerde içmeyenlere göre erkeklerde 2.7 kat bayanlarda ise bu oran 4.7 kat daha fazladır (43). Sigara içmek koroner kalp hastalığından ölmenin önlenabilir sebeplerinden en önemlisidir (33). Ülkemizde sigara içiciliği erkeklerde azalma gösterirken kadınlarda ise bu oran artmaktadır. Avrupa ülkeleri arasında kadınlarımız, koroner arter hastalığı mortalitesi bakımından en önde yer alırken kadınlarda sigara içiciliğinin artması bu konuda daha da önem arz etmektedir (44). Sigarayı bırakan 35 yaşındaki bir kişide koroner arter hastalığı semptomları azalmakla birlikte yaşam süresi 3 ile 5 yıl uzamaktadır (45). Sigara içilmesinin bırakılması durumunda miyokard infarktüsü yaşamış bir hastada tekrarlayan semptomları azaltır. Sigara içen bir kişiye göre semptomlarda yarı yarıya azalma görülmektedir (46).

Aktif içiciliğin yanında pasif içicilik de vardır ve bu da modifiye edilebilen bir risk faktörüdür (47, 48). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sigara kullanmayan bir kişinin sigara dumanı maruziyeti sonucu koroner arter hastalığı riski %20-30 arttırmaktadır (49).

Sigara içiciliğinin koroner arter hastalığının patofizyolojisinde rol aldığı çeşitli veriler elde edilmiştir. Okside LDL başta olmak üzere sigara içenlerde oksidasyon ürünlerinde artış görülmüştür (50). Sigara içilmesi HDL kolesterolün kalbi koruyan özelliğini yok eder. Bununla beraber karbon monoksit ve nikotin endotelde hasar meydana getirir. Bu mekanizmadan dolayı sigara içiciliğinde vasküler reaktivitede artış görülmektedir (50, 51). Oksijen taşıma kapasitesindeki azalma kalbi iskemiye yatkın hale getirir ve kalp spazmını arttırır. Yüksek kan fibrinojen düzeyleri, trombosit agregasyonunda artış ve düşük NO düzeyleri sigara içilmesi ile alakalı bulunmuştur (52).

2.4.2.7. Obezite ve fiziksel inaktivite

Obezite tüm dünyada yaygın görülen bir hastalıktır ve sıklığı düzenli bir şekilde artmaktadır. Fazla kilolar mortaliteyi ve kardiyovasküler hastalığı artırır. Bedende biriken yağların kalp ve damar sistemini etkilemesi sadece dislipidemi, tansiyon yüksekliği, obstüktif uyku apne sendromu ve insülin direnciyle olmamaktadır. Bedende yükselmiş inflamatuvar durum ve kalp kası hücreleri üzerinde oluşan lipidlerin toksik etkisi ve buna sebep olan yüksek serbest yağ asidi dönüşümüyle olmaktadır. Obezitenin kalp ve damar hastalıkları üzerinde bağımsız bir risk etmeni olduğu Amerikan Kalp Derneği tarafından bildirilmiştir. Fakat akut kalp kası enfarktüsü geçirmiş hastalarada teşhis ve tedavi bakımından obezite önemsenmemektedir. Fiziksel olarak aktif olmamak koroner arter hastalığı için çok önemli bir risk etmenidir ve hastalık riskinde iki kat artış görülür. Haftalık yapılan egzersiz miktarı ile kalp damar hastalığına bağlı ölüm ve tüm sebeplere bağlı ölüm arasında egzersizin miktarına göre bir ilişki bulunmaktadır (53). Anjiyografide tesbit edilmiş kalp damarlarındaki arterosklerozun ilerlemesini fiziksel aktivite durdurur (54). Daha önce yapılmış 50'den fazla çalışmada, genelde erkekler üzerinde yapılmış çalışmalardır bunlar, fiziksel olarak aktif olmanın koroner arter hastalığı riskini düşürdüğü tesbit edilmiştir (55). Düzgün yapılmış fiziksel aktivite kilo vermektedir (56). LDL kolesterol ve trigliserit seviyeleri azalmakta, HDL kolesterol seviyelerinde artış görülmektedir (57). İnsüline hassasiyet artış göstermektedir (58). Kan basıncı azalmaktadır (59, 60). Endotel bağımlı damar genişlemesi olmaktadır (61). Fibrinolitik sistemde aktivite görülmektedir (62).

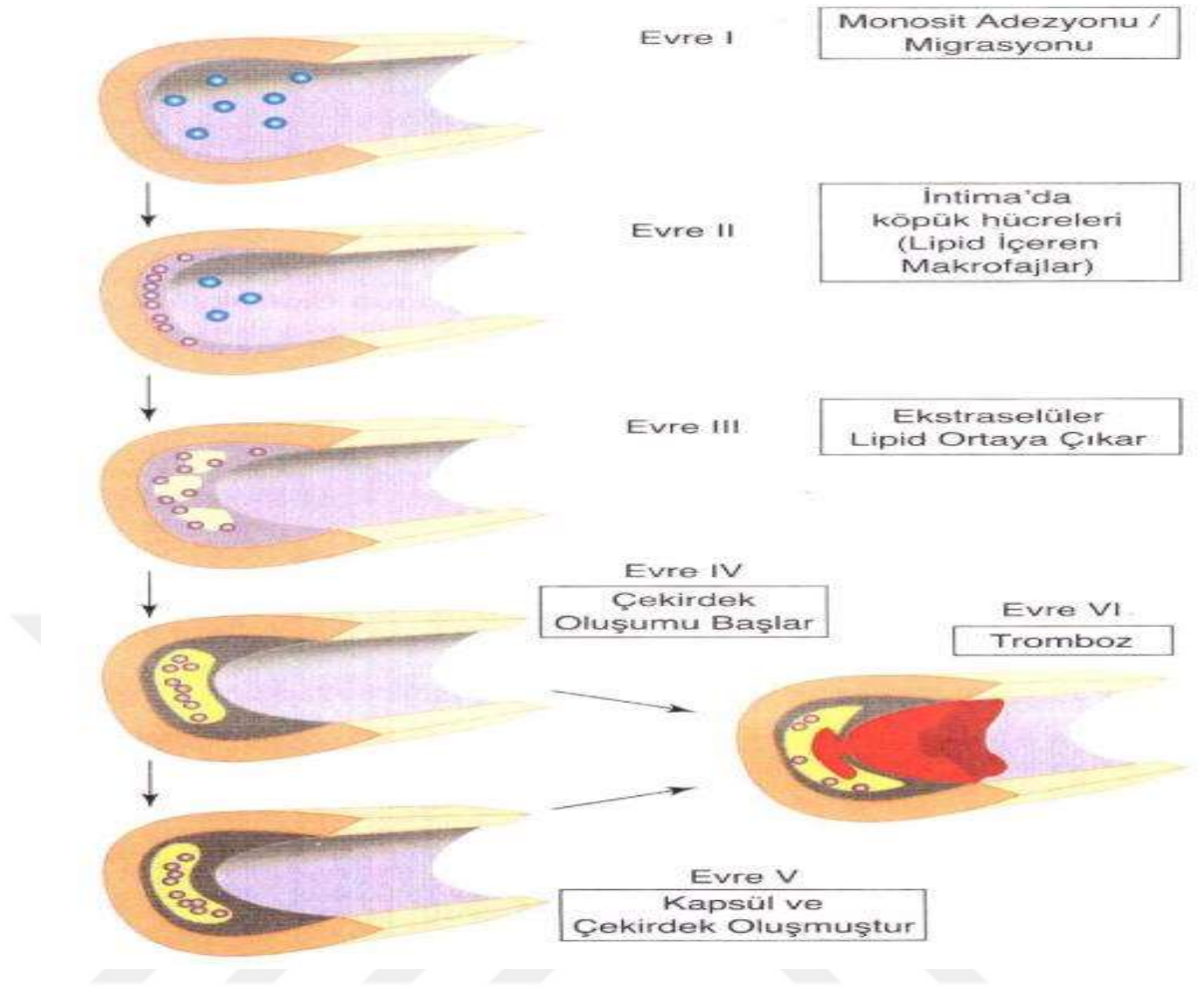
2.4.3. Yeni risk faktörleri

Koroner arter hastalığının tanısını bulmada majör risk etmenleri bazı hastalarda yetersiz kalmaktadır. Bundan dolayı yeni risk etmenlerinin tesbit edilmesi, yeni engelleyici ve terapötik uygulamalar gerekmektedir. Gerçekleştirilen çalışmalarda yeni risk faktörleri olarak high sensitive C reactive protein (hsCRP), fibrinojen, homosistein, lipoprotein (a), küçük LDL partikül boyutudur. Potansiyel risk etmenleri olarak da lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2, hamilelik ile ilişkili plazma fosfataz, asimetrik dimetil-arjinin, B tip natriüretik peptit, miyeloperoksidaz, oksidatif stres ölçümleri ve aday gen çeşitlilikleri belirlenmiştir. Klinisyenler zamanımızda birçok yeni ve potansiyel risk faktörlerine ulaşabilir duruma gelmişlerdir. Ancak hala bu risk

markerlarının kullanılması sonucu yapılan tedavilerin etkili olup olmadığı daha büyük epidemiyolojik çalışmalarla tesbit edilmelidir.

2.4.4. Ateroskleroz

Ateroskleroz kalp damar hastalıklarının çok önemli bir bölümünü meydana getirmektedir. Dislipidemi, hiperkoagülopati, oksidatif stres, endotel fonksiyon bozukluğu, inflamasyon ve enfeksiyonun ön sıralarda olduğu karmaşık bir ateroskleroz mekanizması tesbit edilmiştir (63). Ateroskleroz multifaktöriyel bir hastalıktır. Hastalığın başlangıcından ilerlemesine kadar kronik inflamasyon rol almaktadır ve her risk faktörü de hastalığa katkıda bulunmaktadır (63). İnflamasyon hastalık başlamasından ilerlemesine ek olarak plak yırtılması ve trombüs oluşmasında da etkilidir (64, 65). Ateroskleroz özellikle orta çaplı elastik arterleri tutmanın yanı sıra tüm damar çeşitlerini etkileyen sistemik vasküler bir hastalıktır (66, 67). Genellikle küçük yaşlarda başlayan ve ilerleyen yaşlarda kendini belli eden bir hastalık olan ateroskleroz ilerleyici bir hastalıktır. Ateroskleroz intimal düz kas hücre çoğalması, monositlerden meydana gelen makrofaj ve T hücre geçişi, kollajen, elastin lifleri, fibronektin ve proteoglikanlardan bolca bulunan bağ dokusu matriksi, hücreler içerisinde veya çevresindeki bağ dokusu içinde kolesterol ve kolesterol esterlerinin depolanması ile şekillenir (Şekil 2) (68-71). Ateroskleroz daha çok intimayı etkisi altına almaktadır. Fakat media ve adventisya katmanlarında da sekonder farklılıklar görülebilmektedir (72). İleriki yıllarda gelişen aterosklerotik plaklar ciddi darlıklara yol açmakta hatta plak rüptürü sonucu akut koroner sendromlar görülmektedir. Bu yüzden aterosklerozun erkenden tanı konulup durdurulması ve geriletilmesi önem arz etmektedir.



Şekil 3:Amerikan Kalp Derneği'ne göre plak evreleri.

2.4.5. Koroner arter hastalığının ciddiyetinin değerlendirilmesi

Yaygınlık ve ciddiyet tesbiti için koroner arter hastalığında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

2.4.5.1. Koroner anjiyo skorlamaları

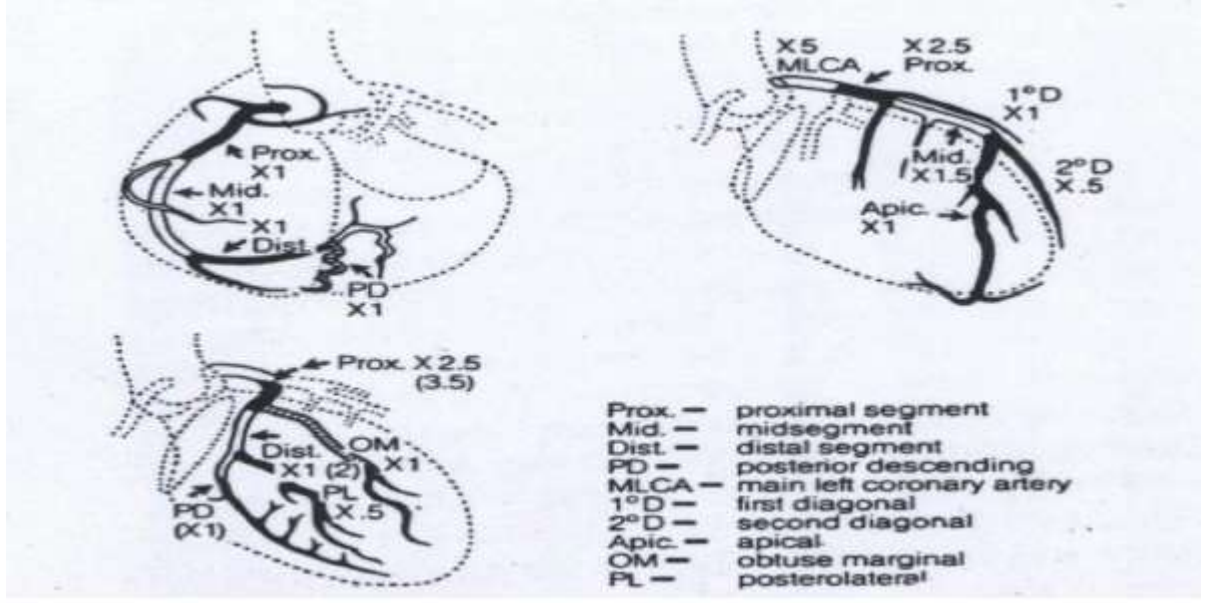
1-Damar skorlaması: Önemlenecek düzeyde darlığa sahip her bir damar sayısı (damar lümeninde %70`den fazla daralma) için 1 puan verilerek 0-3 arasında değer verilir. Sol koroner arter tek damar olarak alınır.

2-Stenoz skorlaması: Gensini tarafından bulunan bir tekniktir (73, 74). Anjiyografik darlık miktarına göre; %1-25 arası stenoz için 1 puan, %26-50 arası stenoz için 2 puan, %51-75 arası stenoz için 4 puan, %76-90 arası stenoz için 8 puan, %91-99 arası stenoz için 16 puan, %100 total stenoz için 32 puan verilir (Şekil 4).



Şekil 4:Gensini skorunda kullanılan lezyon yüzdesi ve karşılığı olan skorlar

Daha sonra elde edilen değerler koroner arterlerin her bir kısmı için tanımlanmış olan katsayı ile çarpılır ve sonuçlar birbirine eklenerek Gensini skoru hesaplanır (Şekil : 5).



Şekil 5: Gensini skorlamasında kullanılan damar segmentine göre çarpım faktörleri

Bir örnekle gensini skorunu hesaplayacak olursak;



Resim 1



Resim 2

Koroner anjiyografisinde sol ön inen arter (LAD) mid %95 ve sağ koroner arter (RCA) distal %99 darlık saptanan hastanın Gensini skoru:

LAD için $16 \times 1.5 = 24$, RCA için $16 \times 1 = 16$ ve toplam Gensini skoru $24 + 16 = 40$ olarak bulunur.

3-Yaygınlık Skorlaması: Bu skorlamayı Sullivan denen araştırmacı 1990`da bulmuştur. Damarda düzensizlik oluşturan aterosklerotik plağın damara oranı ile hesaplanır. Elde edilen sonuç her bir damar için belirtilen katsayılar ile çarpılır ve skorlamalar birbirine eklenir (75).

2.5. Afamin

Afamin insan plazma, serebrospinal sıvı, yumurtalık foliküller ve seminal sıvılarda bulunan bir glikoproteindir. Lichtenstein ve arkadaşları 1994 yılında albümin gen familyasının dördüncü elemanı olarak keşfettiler (76). Afaminin fizyolojik ve patofizyolojik görevleri hakkındaki bilgilerimiz henüz çok sınırlıdır, son 20 yıldaki yoğun çalışmalara rağmen. İnsan afaminini açıklayan hücre hatları henüz tesbit edilememiştir, moleküler yapısı da kesin olarak bilinmemektedir. Bu da moleküler düzeyde afamin hakkındaki sınırlı bilgimizi ortaya koymaktadır.

2.5.1. Afaminin biyolojisi

2.5.1.1. İlk keşifler ve nitelendirmeler

İnsan afamini 1994 yılında dizi analizi ve klonlama yoluyla albümin, a-fetoprotein, vitamin D bağlayıcı protein olmak üzere albümin gen familyasının dördüncü adayı olarak bulunmuştur. Afamin daha önceleri farelerde a-albümin olarak ve insanlarda a-1T-glikoprotein olarak 50 yıl önce keşfedilmiştir. Yakın zamanda a-fetoprotein ile bağlantılı albümin gen familyasının yeni bir adayı bulundu ve bu gen a-fetoproteinle ilişkili gen (ARG) olarak isimlendirildi. ARG geni farelerin, köpeklerin ve atların karaciğerinde çok az miktarda perinatal olarak eksprese edilmektedir.

Yapısal benzerliğe bakılarak a-albümin, a-fetoproteinle en yakından bağlantılı olduğu anlaşılmaktadır. İnsan afamininin ağırlığı 87 kDa`dur (76). Afamin albümin ile %55 oranında aminoasit sekans benzerliğine (%34 özdeşlik) sahip bir glikoproteindir. Ancak albümine karşın yüksek miktarda kompleks bir biçimde glikozilasyona uğramıştır (77, 78). Afamin triptofan içermemektedir (76). Afaminin muhtemelen beş N-glikozilasyon bölgesi vardır, ve N-glikanaz ile müdahale afaminin ölçülen moleküler kütlesini 65 kDa`a indirir (76, 77). Albümin gen familyasının öteki adayları gibi, afamin de disülfür köprüsü barındıran üç yapısal alandan meydana gelmektedir (76). Farede afaminin karaciğer üretimi doğumda başlar ve ilerleyen yaşlarda devam eder. Farelerde afamin, a-fetoproteinin yetişkin bir çeşidi gibi kabul edilebilir.

Böbrek ve beyin gibi farede karaciğer dışı dokularda afamin sentezlenmez. Fare afamininde muhtemelen altı N-glikozilasyon bölgesi bulunmaktadır (79). Afaminin fare serum konsantrasyonu yaklaşık 20 mg/L olarak tahmin edilmektedir (80).

2.5.1.2. Afaminin Gen Düzenlenmesi

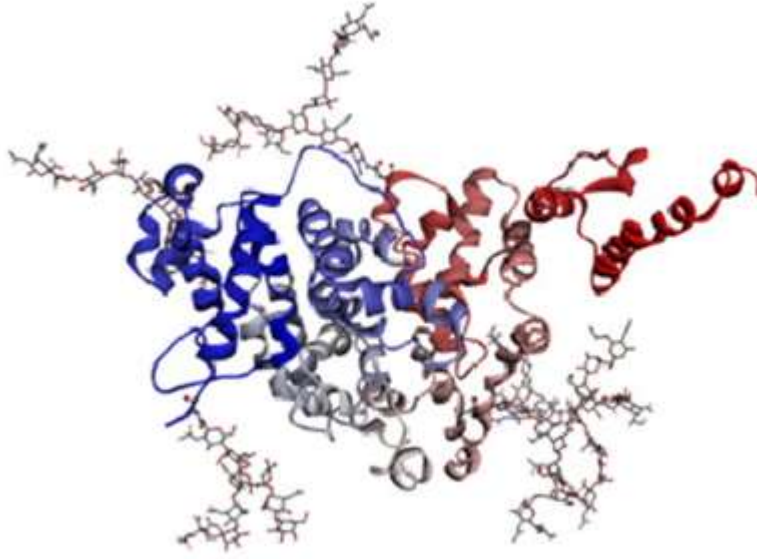
Albümin gen familyasının adayları ve bunların karaciğere has ekspresyonu arasındaki sıkı ilişki bu genlerin ortak düzenleyici unsurlar paylaştığı anlamına gelmektedir. Fetal karaciğer gelişiminde a-fetoprotein ve albümini aktive eden a-fetoprotein güçlendirici bölge, daha sonra karaciğer gelişiminde afamin dahil tüm gen familyası adaylarının ekspresyonunu etkilemez (81). Farelerde yapılan ekspresyon çalışmaları, albümin gen familyası adaylarının değişik cevap vermesinin karaciğer ekspresyonu için çok önemli olduğu belirtilmektedir (82).

Özetle afamin ve gen düzenlenmesi ile ilgili bilginiz hala çok zayıftır, uygun hücre dizileri veya hayvan deneyleri kullanılarak daha fazla çalışılması gereklidir.

2.5.1.3. Biyokimyasal ve fonksiyonel karakterizasyon

İnsan kan afamininin E vitamini için özel bağlayıcı bir protein olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür (83). Scatchard ve Hill analizleri vücut dışında afaminin hem a-tokoferol hem de y-tokoferol için özel bağlanma isteği göstermiştir, bu iki vitamin E vitamininin en önemli iki çeşididir. Afaminin her molekül E vitamini için en fazla 18 birleşme yeri olduğu tahmin edilmektedir. Afamin fizyolojik şartlar altında kan ve diğer vücut sıvılarında E vitamini taşıyıcısı olarak görev alabilmektedir. Afamin E vitamini için güçlü bağlanma kapasitesi sebebiyle lipoprotein sisteminin E

vitaminini taşımaya yetersiz kaldığı hallerde E vitaminini taşıyabilmektedir.



Şekil 6: İnsan afamininin homoloji modelinin şerit sunumu. Hans Dieplinger, Benjamin Dieplinger ve ark.(2015)

Peptid zincirinin şerit sunumu N-terminalinden (mavi) C-terminaline (kırmızı) renklendirilmiştir.

İlk raporlar 1964 yılında Haupt ve Heide afaminin %13 oranında karbonhidrat içerdiği bildirilmiştir. Bu değer kantitatif yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle %15 karbonhidrat bulan Jerkovic ve arkadaşlarının yeni raporlarıyla çok önemli bir uyum sergilemektedir. Fakat Lichenstein ve arkadaşları afaminde %24 oranında karbonhidrat tesbit etmiştir.

Ayrıca afamin beş potansiyel O-glikozilasyon bölgesi içerir. Ancak O-glikozilasyonun olduğuna dair bir delil bulunmamaktadır (78). Normal insan plazmasının iki boyutlu jel elektroforezinden sonra afamin özel antikorlarıyla yapılan immünblot analizleri farklı glikozilasyon modellerine bağlı olduğu düşünülen afaminin önemli moleküler heterojenliğini göstermiştir. Şu ana kadar afaminin glikan içeriğinin işlevselliği ile ilgili herhangi bir kanıt bulunamamıştır (78).

Afamin ve plazma lipoproteinleri arasındaki tahmini bir bağlantıyı incelemek için, afaminin plazma yayılımı boyut dışlama kromatografisi ile incelendi. Afamin ile HDL (alt) fraksiyonlar arasında kısmi bir bağlantı olduğu tesbit edilmiştir. Afaminin, lipoproteinlerle bağlantılı fraksiyonunu tesbit etmek için, insan plazmasındaki afamin konsantrasyonu, lipoprotein çöktürülmesinden önce ve sonra ölçüldü. Boyut dışlama

kromatografisi ile yapılan ölçüm sonrasında afaminin %13'ünün lipoproteinlerle bağlantılı olduğu tesbit edilmiştir.

2.5.2. İnsan vücut sıvılarında afamin ifadesi ve oluşumu

İnsan plazmasında bol miktarda afamine ek olarak, serebrospinal, yumurtalık foliküler ve seminal sıvılarda da nispeten yüksek afamin konsantrasyonları tesbit edilmiştir(77, 78, 85, 86, 87, 88). Beyin, böbrek, testisler ve yumurtalıklar ek afamin sentezleyen dokular olarak tesbit edilmiştir. Bununla birlikte bu dokularda tesbit edilen afaminin plazmaya katkısı ve bu dokulardaki görevleri henüz bilinmemektedir.

Kratzer vd. afaminin serebrovasküler dokuda salınımı ile E vitaminini kan beyin bariyeri boyunca taşımaya kolaylaştırdığı tesbit edilmiştir.

Buna ek olarak, invitro tavuk nöron kültüründe afamin, bu hücrelere apoptozis uyguladığında koruyucu rolü olduğu tesbit edilmiştir (89). Gelecekteki çalışmalar bu verilerin hayvanlarda veya insanlar üzerinde herhangi bir önemi olup olmadığı yönünde geniş araştırmalar yapılmalıdır.

Yazarlar afamini osteoblast metabolizması ve kemiğin meydana gelmesinde potansiyel bir kemokin rolünün olup olmadığını tartışmaya açtılar. Şu anda afaminin insan kemiği üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı yönünde yeterli düzeyde bilgi bulunmamaktadır.

2.5.3. İnsan afamininin Enzime Bağlı İmmünosorbent Testinin (ELISA) analitik özellikleri ve klinik değerlendirilmesi

Daha önce insan kanındaki afaminin kantitatif ölçümü için bir ELİSA testi gerçekleştirilmiştir (85). Bu tetkik iki antikorlu sandviç şeklindedir ve analit yakalama için affinite ile saflaştırılmış poliklonal tavşan anti-insan afamin antikorundan ve tesbit etmek için bir peroksidazla birleşmiş fare monoklonal antikorundan oluşur. Sağlıklı bir kişiden dilüe edilmiş bir numune kullanılarak 7 mg/L tesbit sınırı bulunmuştur. Ayrıca afamin testi, test edilen ölçüm aralığı boyunca (18-77mg/L) doğrusaldır (85). Afaminin vücut dışındaki dayanıklılığı üzerinde yapılan çalışmalar, afaminin oda sıcaklığında 24 saat, 4 derecede 48 saat, -20 ve -80 derecede en az bir yıl dayanıklılığı olduğu görülmüştür. Bu yüzden afamin laboratuvar ortamında kullanılmaya oldukça elverişlidir, ve numune saklanması ve taşınması için stabil olması da buna kolaylık sağlamaktadır.

Referans değeri çalışması, afamin konsantrasyonlarının erkek ve kadınlar arasında farklılık göstermediği sağlıklı kan donörlerinde yaş ve böbrek fonksiyonu ile bağlantılı olmadığı görülmüştür. Bundan dolayı yaş ve cinsiyetten bağımsız referans aralığı 45-99 mg/L'dir.

Ayrıca sağlıklı kişilerde 6 hafta boyunca birer hafta aralıklarla afaminin biyolojik çeşitlerinin bileşenleri incelenmiş %24'lük bir referans değişim değeri tesbit edilmiştir (85).

Serum ve plazma numuneleri arasında, açlık veya tokluk durumu arasında afamin derişimleri arasında önemli bir fark bulunmaması, serum ve plazma numunelerinin afaminin tesbiti için uygun olduğu ve afaminin açlık durumundan etkilenmeden düzgün bir şekilde belirlenebileceği görülmüştür (85).

Biyolojik çeşitlilik araştırmasından elde edilen bilgilerle birlikte, bu veriler afaminin zamanla düşük çeşitliliğinin altını çiziyor ve seri ölçümler için afaminin iyi bir tetkik olduğunu gösteriyor.

Afamin testinin klinik araştırmasının bir bölümü olarak, kalp yetmezliği, pnömoni, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, böbrek hastalığı ve sepsisli hastalar da dahil olmak üzere çeşitli hastalığı olan hastalarda afamin derişimleri ölçülmüş ve sağlıklı kontrollerle kıyaslanmıştır. Bu analizde, afaminin plazma derişimleri kalp yetmezliği olan hastalarda orta düzeyde azalmıştır. Pnömoni veya sepsisli hastalarda önemli düzeyde azalmış afamin derişimi tesbit edilmiştir. Tam tersine kronik böbrek hastalığı olan hastalar ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında afamin kan derişimlerinde hiç bir farklılık görülmemiştir. Bu bağlamda, değişik hastalıkları olan hastanede yatan hastalardan oluşan uygun bir grupta afaminin inflamatuvar markerlar olan C-reaktif protein (CRP) ve interlökin-6 ile oldukça güçlü bir ters bağlantı görülmektedir (85). Bu sonuçlar negatif bir akut faz reaktanı olarak afamin hakkında bizi bilgilendirmekte ve daha ileri çalışmalara teşvik etmektedir.

2.5.4. Afamin ölçümünün klinik uygulamaları

Karşılaştırmalı deneyler afamini daha önce yumurtalık kanseri için olası bir biyomarker olarak tesbit etmiştir (87). Bu bulgular immünblotlama ve afamin için kantitatif bir immünolojik test ile doğrulandı. Yumurtalık kanserli hastalar

olmayanlara göre önemli ölçüde azalmış plazma konsantrasyonu sergilemiştir. Bu veriler daha sonra yapılmış büyük bir çalışmada desteklenmiştir (86). Yakın zamanda afaminin kan konsantrasyonları ile klinik neticeler (tedaviye yanıt ve sağ kalım oranları) arasında önemli bağlantılar gösterilmiştir (90).

Dolaşımdaki afamin konsantrasyonları mide, mesane, kolorektal, meme ve tiroid kanserleri dahil olmak üzere birçok kanser türlerinde de araştırılmıştır. Araştırmacılar mide kanserli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha az afamin konsantrasyonu tesbit ettiler (91).

Afaminin bildirilen sinir dokusu salınımı ve nöron koruyucu özellikleri açısından afaminin Alzheimer hastalığı, multipl skleroz ve çeşitli nörolojik hastalıklar açısından bir marker olabileceği düşünülmektedir (92-94). Bu bulgular daha büyük epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmelidir.

Komplike olmayan gebelik sırasında afamin doğrusal olarak hemen hemen iki kat yükselir ve doğumdan hemen sonra gebelik öncesi değerlere iner. Bundan dolayı afaminin değişen hormonal durum ve karaciğerde gen ekspresyonunun hormonlar tarafından kontrol edilmesi afaminin yükselmesini desteklemektedir. Gebelik esnasında fizyolojik yüksek lipidemiye yol açan lipidlerin ve lipoproteinlerin hepatik üretiminin hormonal düzenlenmesi için benzer bir sistem bildirilmiştir (95).

Afamin gebeliğe bağlı komplikasyonlar için potansiyel bir marker olma adayıdır. Bunun desteklenmesi için ileriye dönük daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

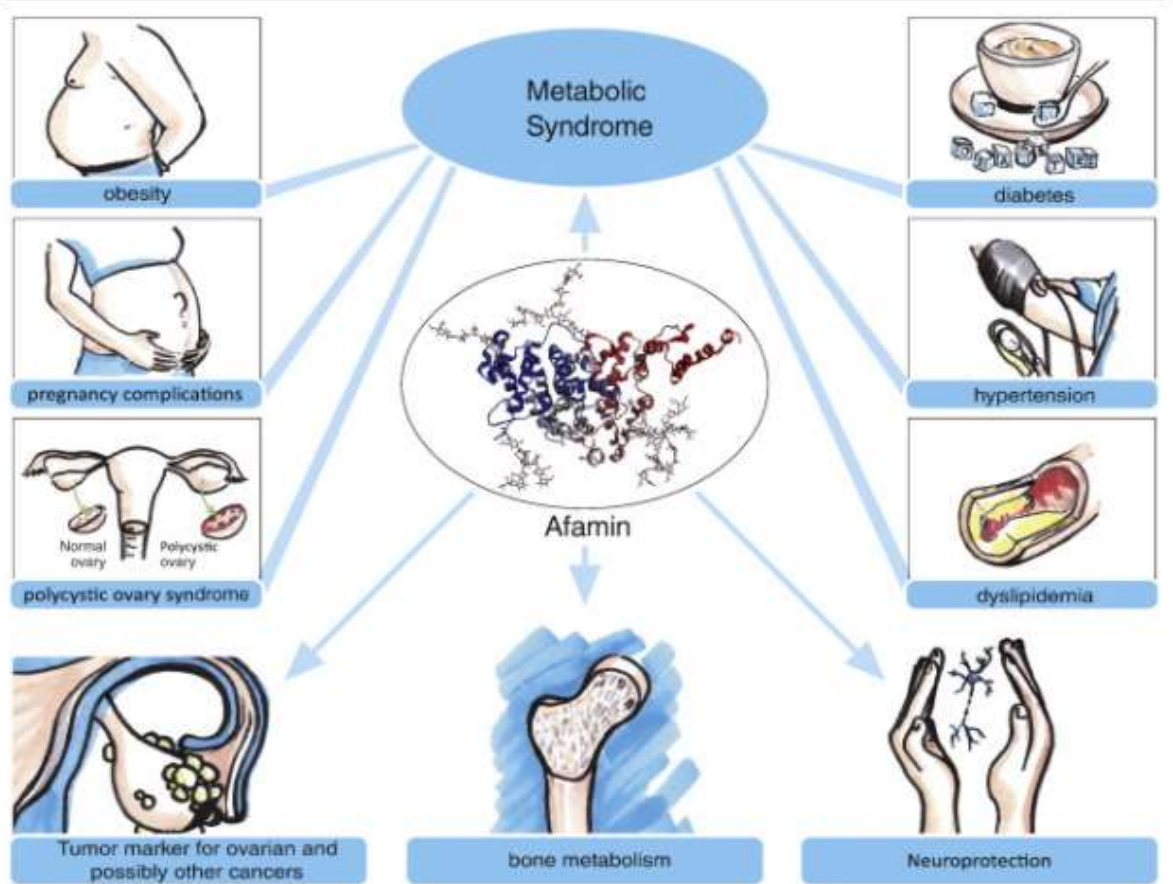
Afamin CRP ile oldukça güçlü bir ters bağlantıya sahiptir. Başka bir çalışmada ise afamin ile CRP arasında zayıf pozitif bir bağlantı üç büyük populasyon temelli araştırmada tesbit edilmiştir. Bu konuyu gün ışığına çıkarmak için daha fazla çalışma yapılması gerekir.

Yakın bir zamanda afaminin patofizyolojik özelliklerini araştıran ilk büyük populasyon tabanlı bir araştırma yapıldı (88). Afamin konsantrasyonları metabolik sendrom bileşenleri ile güçlü bir şekilde bağlantılı bulunmuştur.

Beraber ele alındığında, transgenik fareler ve epidemiyolojik araştırmada 5000'den fazla kişide yapılan bu araştırma afaminin metabolik sendrom ve elemanlarıyla kuvvetli bir biçimde bağlantılı olduğu tesbit edilmiştir. Bu verilerle uyumlu olarak yakın zamanda yapılmış bir araştırmada insülin direnci olan polikistik over sendromlu

hastalarda artmış afamin konsantrasyonu tesbit edilmiş ve bundan dolayı polikistik over sendromlu hastalarda benzer metabolik bozuklukta da afaminin işlevi gösterilmiş olmaktadır (96, 97).

Diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalıkların klinik sonuçta noktalarında afaminin görevlerini aydınlatmak için daha büyük ve fonksiyonel epidemiyolojik çalışmalar yapılmalıdır (Şekil 7).



Şekil 7: Afaminin varsayılan patofizyolojik fonksiyonlarının özeti. Hans Dieplinger, Benjamin Dieplinger ve ark.(2015)

2.5.5. Sonuçlar ve gelecek perspektifleri

Afamin öncelikle karaciğerden üretilen ve kana salınan bir plazma E vitamini bağlayıcı glikoproteinidir. Afaminin fizyolojik ve patofizyolojik görevleri hakkındaki bilgilerimiz henüz çok sınırlıdır ve Şekil 7'de belirtilmiştir.

Daha önce insan plazmasındaki afaminin kantitatif ölçümü için enzime bağlı immünosorbent testinin kapsamlı bir analitik tesbiti ve klinik değerlendirilmesi

yapılmıştır. Bu da afamin tahlilinin laboratuvar tıbbı için kalite özelliklerini karşıladığı tesbit edilmiştir. Afamin analiz öncesi bir konu olarak önemli olan vücut dışındaki dayanıklılığı gösterir. Afaminin biyolojik çeşitliliği oldukça azdır, bu da afaminin seri ölçümler için uygun olduğunu göstermektedir. Değişik hastalıkları olan hastanede kalan hastalarda bakılan afaminin negatif bir akut faz reaktanı olması bize yeni bilgiler vermektedir. Fakat üç büyük popülasyon esaslı kohortta afamin ve CRP arasında pozitif bir bağlantı tesbit edilmiştir. Bundan dolayı bu konuyu açığa kavuşturmak amacıyla ek araştırmalara ihtiyaç vardır.

Yukarıda belirtildiği gibi çeşitli araştırmalar farklı hastalıklarda afamini proteomik yaklaşımlarla belirtmiş olsa da, bu pilot araştırmaların çoğu için uygun biçimde standartlaştırılmış kantitatif afamin tetkikleri ile kapsamlı doğrulama eksiktir. Bundan dolayıdır ki uygun doğrulama olmadığında, afamin konsantrasyonları yanlış ölçülebilir.

Bu açıdan, multipleks kütle spektrometrisine dayalı sistemi kullanan, biriktirilmiş plazma numuneleriyle yapılmış yeni bir araştırma afamin dahil olmak üzere 142 kan proteini eş zamanlı olarak tesbit edilebilmiştir (98). Bu umutlandırııcı yeni bir teknoloji gibi görünse de, sonuçları büyük bir özveriyle değerlendirilmelidir. Bu araştırmanın yazarları laboratuvarımızda ve diğerleri tarafından elde edilenlere göre hemen hemen 3 kat yükselmiş afamin değerleri bildirdiler (77, 85).

Laboratuvarımızda çalışılan afamin ELISA'nın daha yeni bir çeşidi artık ticari olarak BioVendor, Brno ve Çek Cumhuriyeti'nden elde edilebilmektedir. Ayrıca Wuhan Çin'deki Uscn Life Science Inc.'den ticari olarak elde edilebilen bir başka afamin ELISA testi vardır. Bununla birlikte, bu afamin ELISA testinin analitik değerlendirmesiyle bağlantılı yayınlanmış bir bilgi bulunmamaktadır.

Bu pleiotropik glikoprotein ile ilgili ilerideki araştırma çabaları, genetik bağlantı araştırmaları, metabolik sendromla ilgili diğer fenotipler, klinik sonuçları dahil olmak üzere genişletilmiş epidemiyolojik çalışmalardan, uygun karaciğer kültürü ve genetik olarak modifiye edilmiş hayvan modellerini kullanan fonksiyonel araştırmalara kadar değişecektir. Son olarak, saflaştırılmış insan afamininin yapı ve fonksiyon çalışmaları, daha fazla fizyolojik ligandları ve bağlanma partnerlerini ortaya çıkaracak ve bu da sonunda bizi afaminin şimdiye kadar bilinmeyen patofizyolojik görevlerini keşfetmeye yönlendirecektir.

2.6. E Vitamini

E vitamini terimi, yalnızca bitkiler tarafından elde edilen ve benzer yapılara sahip olan 8 çeşit vitamin formunu içermektedir. Tokoferoller gelişmiş bitkiler gibi fotosentez yapan canlılarda yoğun bir şekilde üretilmektedir. Önemli ölçüde tüm yeşil dokularda bulunur, ancak daha fazla olarak tohumlarda meydana getirilirler. Ester form E vitaminin oksidasyonunu engeller ve raf süresini uzatır (99). Bu esterler emilim bozukluğuna sahip kişiler dışında bağırsak içerisinde hidrolize uğrayıp emilirler. a-Tokoferolün fosfatlanmış şekli olan a-tokoferil fosfat depo formu, taşınma şekli olarak canlı dokularında yer almaktadır. Tüm E vitamini çeşitleri bağırsaklarda emilir ve şilomikronlar aracılığıyla dolaşıma bırakılırlar. Vitaminler şilomikron atıkları aracılığıyla karaciğere getirilirler. Karaciğerde özel bir protein olan a-tokoferol transfer protein spesifik olarak a-tokoferolu alır ve onu çok düşük dansiteli lipoproteine aktarır. a-Tokoferol dışındaki öteki tokoferoller ve tokotrienoller karaciğer tarafından alınarak safra ve idrar vasıtasıyla karboksietil-hidroksikromanlar şeklinde uzaklaştırılırlar (99).

2.6.1. E vitamininin etkileri

Vitaminler su ve lipit hücre elemanlarını oksidatif strese karşı korur ve süperoksit dismutaz/glutasyon peroksidaz sistemi aracılığıyla bu radikalleri uzaklaştırırlar (100). Günümüzde E vitamininin etkileri zarlara ve proteinlere zararlı etkileri olan reaktif oksijen türevlerini ve nitrik oksidi uzaklaştırmaktır (101). E vitamini özel enzimler ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşim içerisine girerek ve onları düzenleyerek zarlar ve lipit bölümlerini korumakla görevlidir (102).

Membran akışkanlığındaki veya spesifik lipitlerdeki farklılaşmalar, a-tokoferol aracılığıyla kontrol edilir. E vitamini trombositlerde membran akışkanlığını azaltır. Membrandaki araşidonik asitle E vitamininin yakın ilişkisi vardır. a-Tokoferolün oksidatif stresten koruyucu etkisi hücre zarındaki yağ asitlerini korumaktadır (101). Tokoferoller oksitlenebilen lipitleri korumaya alarak membran özelliklerini, spesifik membran kısımlarında yerleşen reseptörlerde ve sinyal yollarında değişikliğe yol açabilirler (103).

Numakawa ve arkadaşları kortikal nöron hücre kültürünü peroksitle uyardıklarında hücre ölümü gözlenmiştir (104). Bu durum a-tokoferol, a-tokotrienol, y-tokoferol ve y-tokotrienol gibi E vitamini analoglarıyla 24 saatlik bir maruziyetten sonra hücre ölümü durdurulabilmiştir. İnsanlarda yükselmiş lipofusinozis gibi E vitamini azlığının göstergelerinin bazıları tahminen lipit fazda reaktif oksijen türevlerinin uzaklaştırılmasındaki zayıflık neden olmaktadır (105).

Oksidatif uyarıya maruz bırakılan ortamdaki bulunan reaktif oksijen radikallerinin miktarı ölçülerek E vitamininin oksijen radikallerini temizlemedeki gücü tesbit edilebilir (106). E vitamininin hücresel düzeydeki etkileri antioksidan etkilerinin önüne geçebilir (107). Doku rejenerasyonunda selenyum ve E vitamininin çok önemli etkileri vardır (108). E vitamini yaşlanma sürecinde beyindeki hücreleri oksidatif strese karşı korur ve bilişsel fonksiyonlardaki azalmayı önler (109).

E vitamininin lipit peroksidasyonu üzerindeki etkileri dışında hücresel ve humoral bağışıklık sistemini de korumaktadır (110). Protein kinaz C enzimi büyüme ve farklılaşmanın anahtar enzimidir. a-Tokoferol çeşitli hücrelerde bu enzimi inhibe eder. Bu da trombosit agregasyonunu, endotel hücrelerde nitrik oksit salınımını, nötrofil ve makrofajlarda süperosit radikal üretimini bloke eder. Bu durum protein kinaz C'nin aktive formunun bulunduğu hücre zarlarında antioksidan etkiler göstermektedir (101). E vitamininin eksik alınışı veya oksidasyonunun artmış olması vücudu transkripsiyon faktörleri veya spesifik enzimler için kofaktör olan bu enzimden mahrum bırakır (111). E vitamini azlığı çupra balığının dolaşım sisteminde süperoksit anyonunun üretiminde düşmeye yol açmaktadır. Süperoksit anyonu fagositozla hücreye alınan bakterinin parçalanması için kullanılır (112). Düşük doz E vitamini lökositlerdeki lipoksijenasyonu arttırdığı halde yüksek doz E vitamini ise bastırmıştır (103).

2.6.2. E vitamininin görevleri

E vitamini çift işlevli olarak çalışmaktadır. Birincisi proteine bağlı bir kofaktör olarak. İkincisi ise oksidatif radikalleri ortadan kaldıran bir molekül olarak. Membranda okside olan lipitler E vitamini/C vitamini döngüsüyle temizlenirler. E vitamini eksikliğiyle artmış lipit peroksidasyonu gözlenmektedir. Bu da E vitamininin tükenmesine yol açmakta ve E vitamininin kofaktör fonksiyonunda bozulmaya yol açmaktadır (113). E vitamini demir birikiminden kaynaklı doku hasarını da azaltmaktadır (114). E vitamini büyüme, üreme gibi çeşitli vücut işlevleri için

gerekmektedir. E vitamininin güçlü antioksidan özelliğinden dolayı çeşitli dejeneratif ve yangısal hastalıkları önleyebildiği görülmüştür (106). E vitamininin en önemli işlevi membranların lipit fazında zincir kıran bir antioksidan ve serbest radikal temizleyicisi olarak çalışmasıdır (110). E vitamini lipit hidroperoksit vermek kaydıyla membran fosfolipitleri ve lipoproteinlerdeki çoklu doymamış yağ asitleri tarafından elde edilen peroksit radikalleri ile reaksiyona girmektedir. E vitamini bu biyokimyassal reaksiyon aracılığıyla zararlı lipit serbest radikallerini azaltır ve dokuları serbest radikal saldırısından korur. E vitamininin lipit peroksidasyonunu engellemedeki bu görevi immün yanıtı da uyarmaktadır (115).

Tokotrienoller membranlarda tokoferollerden daha yüksek antioksidan etkiye sahip olmanın yanı sıra çoğunlukla tokoferollerde olmayan sinir koruyucu, kanser önleyici ve kolesterol düşürücü etkilere de sahiptir (113). Tokotrienoller hücrelerde sinyal iletimi ve gen ifadesi etkilerinin yanı sıra mevalonat kolesterol aksı üzerindeki etkileri ile de önemlidir (116). Yapılan bir araştırmada diyetteki a-tokoferol tavşanda kolesterol düşürücü bir etkiye sahiptir (117). E vitamini steroid sentezlenen dokularda bol miktarda bulunur. Bu dokulardaki sitokrom p-450'nin steroidojenik etkilerini lipit peroksidasyonuna karşı korur (114). a-Tokoferol tarafından lipoprotein reseptörlerinin sentezinin düzenlendiği görülmüştür. a-Tokoferol plazma ve düşük dansiteli lipoproteinlerde çözünebilir en kuvvetli antioksidandır. Yapılan in vitro çalışmalarda a-tokoferolün düşük dansiteli lipoproteinlerde çözünmesinden dolayı güçlü antioksidan özellik sergilemektedir (118). Ayrıca E vitamini düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonunu düşürerek ve damar duvarına zarar vermesini engelleyerek ateroskleroz oluşumunu engelleyebilir (108). E vitamini ile tedavi edilen bir çocukta glutatyon sentetaz eksikliğinden dolayı meydana gelen lökosit fonksiyon bozukluğu düzeltilmiştir (103). Baldi ve arkadaşları okratoksin asidotoksitesine duyarlı sığır meme epitelyal hücrelerinde E vitamininin koruyucu rolü olduğu görülmüştür (119). Antioksidan ile 3 saat inkübasyon okratoksin maruziyetinden kaynaklanan hücre hasarını önemli miktarda azaltmıştır. Bu bulgular okratoksinin zararlı etkilerine karşı E vitamininin koruyucu olduğunu göstermiştir. Çalışmada ayrıca a-tokoferolün okratoksin A'nın meydana getirdiği oksidatif radikallere karşı hücreleri koruduğu ve bunu konsantrasyon bağımlı olarak gerçekleştirdiği görülmüştür.

2.6.3. Oksidatif stres ve E vitamini

Serbest radikaller ya oksidatif stresin fazla olmasından ya da antioksidan sistemin yetersiz çalışmasından meydana gelmektedir (120). Oksidatif stres, serbest radikaller antioksidan sistemi aştığında meydana gelmektedir (121). Oksidatif stres ortadan kaldırılmadığı sürece hem direkt hem de dolaylı olarak sağlığı tesir altına alabilir. Oksidatif stres bağışıklığı baskılayabilmektedir (120). Oksidatif stres bağışıklığı, üremeyi ve büyümeyi içeren fizyolojik işlevlerde bozukluğa neden olmaktadır (122). Steroid üretiminde görevli olan enzimlerde oksidatif stres fonksiyon bozukluğu yapabilmektedir. Bu da üremeyi bozabilmektedir. Normal üreme gerekli zamanda üretilen östrojen ve progesteronun miktarına bağlıdır (112). Steroidojenik hormon üretiminin sitokrom p-450 sistemiyle olduğu görülecek olursa lipit peroksidasyonu bu enzimin fonksiyonunda bozulmalara yol açmaktadır ve bu hormonların üretimini azaltabilmektedir (101). Oksidatif stres değişik hastalıkların ve yaşlılığın başlamasının ve ilerlemesinin sebebidir (123). Oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu ateroskleroz ve karaciğer yağlanması da patolojisinde görev almaktadır. Bu sebeple redoks dengesini korumak amacıyla kronik hastalıkların önlenmesinde antioksidanların rolü oldukça önemlidir (124).

Lipit hidroperoksitler, lipit peroksidasyonunun bir diğer belirticidir. Malonaldehitler gibi hücreye zararlı aldehitler lipit peroksidasyonunun sonlanmasına rağmen kalıcı olurlar.

Reaktif oksijen türevlerinin fazla oluşumu apoptozise neden olan bir faktör olduğu görülmektedir. E vitamini tarafından reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi işlemin ilerlemesini yavaşlatmaktadır (106). Hücrenin kanser durumuna göre, oksidatif stresin kaynağına göre a-tokoferol hücreyi apoptozise sürükleyebilir (125). Colitti ve arkadaşları a-tokoferolün koyunların meme hücrelerinde apoptozisi inhibe eden bir etmen olan Bcl-2'nin üzerinde etkili olduğu tesbit edilmiştir (126).

Oksidatif stres arttığında, a-tokoferol membrandaki proteazların, protein kinaz C'nin ve sitozolik fosfolipaz A2'nin fonksiyonlarını yavaşlatmaktadır (101). Oksidatif stresin düzeyi, tahminen E vitamininin dokularda kullanımını da etkilemektedir (106).

2.6.4. Serum veya plazmada E vitamini

a-Tokoferol`ün plazma ile karaciğerdeki seviyeleri arasında ve diyetle alınan miktarı ile plazma seviyeleri arasında güçlü bir korelasyon bulunmaktadır. E vitamininin diyetle alınan miktarı plazma veya serumdaki miktarının hesaplanmasıyla bulunmaktadır. Kan serumu veya plazmasının a-tokoferol konsantrasyonu tahminen diyetle alınan son miktarının bir ölçümüdür. Plazma E vitamini konsantrasyonu düşüklüğü muhtemelen E vitamininin yetersiz alımından kaynaklanmaktadır. Eritrosit ve trombositlerdeki E vitamini miktarı bize daha kesin bilgi verebilmektedir. Serum veya trombositlerdeki a-tokoferol seviyesi lipit fraksiyonlarının etkisi altında kalmamıştır (108).

2.7. Okside LDL

Oksidatif stres ve inflamasyon lipitlerin ve lipoproteinlerin oksidasyonuna yol açmaktadır. Okside LDL oluşumu oksidatif stres ve reaktif oksijen radikalleri ile oluşmaktadır.

Makrofaja ox-LDL`nin alınımı LOX-1 reseptörü aracılığıyla olmaktadır. Ayrıca bu alım lizofosfatidilkolin, palmitik asit, glukoz ve ox-LDL`nin kendisiyle stimüle olmaktadır. Aktifleşmemiş trombositlerde CD36 reseptörü ile aktifleşmiş olanlarında ise hem CD36 hem de LOX-1 reseptörleri aracılığıyla ox-LDL alınır. Yüksek seviyelerdeki ox-LDL hücre ölümünü başlatan olayları aktive eder. Bunlar; reaktif oksijen radikali oluşumu, kaspaz ve protein kinaz aktivasyonu, kalsiyum dengesi ve apoptotik gen ekspresyon değişimidir. Endotel apoptozisi artmış damar geçirgenliğine yol açar, düz kas çoğalması ve koagülasyona meyil artışıyla birlikte aterosklerotik plak oluşumuna katkı sağlar (7).

2.7.1. Lektin benzeri okside-LDL reseptör-1

LOX-1, 273 aminoasitten oluşan 50 kDa ağırlığında tip II transmembran glikoproteini olan ox-LDL reseptörüdür (127, 128). Kısa N terminal sitoplazmik bölümü ve membran içinde bulunan bölümü bulunmaktadır. C terminal hücre dışı bölümü ve boyun bölümü bulunmaktadır. LOX-1 inflamasyon öncesi ve oksidatif stres öncesi endotel, monosit, makrofaj, düz kas hücresi, kalp kası hücresi, fibroblast, yağ dokusu hücresi, hava yolu epitel hücreleri, dentritik hücreler ve trombositlerden üretilir (127-129). LOX üretimini arttıran uyaranlar; sitokinler, interferon-gama (IFN-gama),

ox-LDL ve diğer modifiye lipoproteinler, serbest radikaller, TNF-a, IL-1B, dönüştürücü büyüme faktör-B1(transforming growth factor-beta(TGF-B1)), süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, 8-izoprostoglandin F2-a ve lizofosfotidil kolindir (7, 127, 129). Diğer uyaranlar; glikoz, serbest yağ asitleri, anjiotensin 2 ve endotelin 1 artışıdır. İskemi ve tekrar kanlanma kalp kası ve böbreklerde LOX-1 üretimini arttırır. Artmış yağlı diyetten sonra da adipoz dokuda LOX-1 düzeyi obezlerde artar. Bu da obezlerdeki aterosklerozdan sorumludur. LOX-1 üretimini inhibe eden ilaçlar: hipertansiyonu önleyen ilaçlar (anjiotensin reseptör antagonistleri, kalsiyum kanal blokörleri), diyabeti önleyen ilaçlar (sülfanilüreler, biguanidler, peroksizom proliferatif aktivatör reseptör agonistleri), yüksek kan yağ oranını düşüren ilaçlar ve pıhtı oluşumunu engelleyen ilaçlardır (aspirin).

2.7.2. Okside-LDL ve reseptörü lektin benzeri okside-LDL reseptör-1 etki mekanizması

LOX-1, ox-LDL'yi bağlayarak yağ hücresi sentezi, damar düz kas çoğalması, endotel fonksiyon bozukluğu, damar inflamasyonu, kollajen birikimi, apoptozisi, trombosit toplanmasını ve hücre adezyonunu düzenler (127, 128). LOX-1'in hiperlipidemi, diyabetes mellitus, tansiyon yüksekliği, ateroskleroz, koroner arter hastalığı, beyin damar hastalıklarında düzeyi yükselmiştir (127). LOX-1 protein kinaz C(PKC) B2 ve c-jun-N terminal kinazın aktive edilmesi ile ox-LDL'yi endotel hücresine alır. Ox-LDL'nin stimüle ettiği LOX-1 üretimi nükleer faktör kappa B (NF-kB) ve JNK sinyal yolları ile damar düz kaslarında gelişme ve çoğalma meydana getirir ve bu hücreleri mediadan subendotel alana göçüne yol açmaktadır. LOX-1, anjiotensin II ve TGF-B'nin arttırdığı fibroblast gelişmesi ve kollajen üretiminde önemli görevi vardır. Aktif hale getirilmiş trombositte LOX-1 bulunması trombüs oluşumu ile bağlantılıdır (128). Ox-LDL scavenger reseptörleri (SR) ile makrofajlara alınır ve böylece makrofaj yağ hücrelerine dönüşür. İnsan monositlerinde scavenger reseptör (SR-A) üretimi makrofaj koloni uyarıcı faktör ile uyarılır ve IFN-gama, TGF-B, TNF-a, PPAR gama, yağ asitleri, prostoglandin D2 metabolitleri ile azalır. IFN-gama ve TNF-a düz kas hücrelerinde SR-A üretimini stimüle eder. CD36 yağ hücresi, endotel, monosit ve trombositte yer alan bir başka reseptördür. CD68, makrofajlarda yer alan bir reseptördür. Ox-LDL parçacıkları kanda uzun süre kalmaktadır. Hafif olmayan ox-LDL parçacıkları yeniden düzenlenme adımları sürdükçe makrofajlar aracılığıyla tutulmaktadır. Ox-LDL parçacıkları lizozomal bölüme taşınıp

parçalanmadan orada kalmaktadır. Lizozoma yerleşen ox-LDL bozulmuş kolesterol ester hidrolizi veya lizozom pH'ında değişiklik yaparak lizozom zarını hasara uğratar. Lizozomlarda kolesterol toplanması, bozuk otofaji, inflamasyon ve apoptoza sebep olur (130). 15-lipooksijenazlar damar içini döşeyen hücreler, monosit ve makrofajlar aracılığıyla sentezlenerek çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) lipid hidroperoksitlere dönüştürerek LDL'de oksidasyona neden olurlar. Aktifleşmiş fagositler miyeloperoksidaz sentezleyerek reaktif maddeleri (hipoklorik asit, kloramin, tirozil radikalleri, nitrojen dioksit) meydana getirir. Bu reaktif maddeler antioksidanları ve LDL'nin lipidleri ve proteinlerini oksidasyona uğrattır. Monositlerin miyeloperoksidaz-H₂O₂-NO₂ mekanizması ile meydana getirilen RNS'leri LDL'yi okside duruma çevirir. Nitrik oksit (NO) radikali süperoksit anyonu ile tepkimeye girerek peroksinitrit anyonunu oluşturur. Daha sonra hidroksil radikaline çevrilerek LDL'yi oksidasyona uğratar. Ox-LDL hücre içerisinde metal iyonlarının dışında, enzimatik işlemler (lipooksijenaz, miyeloperoksidaz) ile meydana gelmektedir (131). Kronik kan glukoz yüksekliği ileri glikasyon ürünlerine neden olur ve bu da NADPH oksidaz aracılığıyla reaktif oksijen radikali oluşumuna ve LDL oksidasyonuna yol açar. İleri glikasyon ürünlerinin meydana getirdiği ox-LDL inflamasyonda elzem görevler alır. Yağ dokusundan üretilen serbest yağ asitleri karaciğerde insülin direncine ve bu da LDL oksidasyonuna neden olur. Ox-LDL'nin LOX-1'e bağlanması neticesinde NF-kB aktifleşmesi ile kemokinler (E selektin, P selektin) hücre içi adezyon molekül-1(ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekül-1(VCAM-1), granülosit ve makrofaj koloni uyarıcı faktörler ve monosit kemotaktik protein-1(MCP-1) üretim artışına yol açarak ateroskleroza zemin hazırlar. Bu moleküller endotele monosit hücumuna, yapışmasına ve makrofaja çevrilmesine neden olur. ICAM-1 ve VCAM-1 üretimi monositleri bölgeye çeker ve monositlerin endotele yapışmasını uyarır (6, 128). Endotelde ox-LDL, mitojen aktive protein kinaz aktifleşmesi ile MCP-1 üretiminde belirgin bir şekilde artmaya yol açar (7). Ox-LDL ile endotel LOX-1 aktifleşmesi damar genişlemesinin azalması, inflamasyona ve tromboza meyil yaparak endotel fonksiyonlarını bozmaktadır. Bundan dolayı endotel hücrelerde aktifleşme ve apoptozis meydana gelir. LOX-1 aktifleşmesinin bir başka tesiri CD40 ve CD40 ligand PKC aktifleşmesi ile P-selektin ve TNF-a'nın meydana gelmesini kalp arterlerinin endotel hücresinde arttırır (127). Ox-LDL, CD40 ve CD40L üretimini arttırarak ateroskleroza meyil eden yolların (adezyon moleküllerinin ve inflamasyona meyil eden sitokinlerin) aktifleşmesine sebep olur (7, 127). Ox-LDL

büyüme elemanlarının üretimini damar iç yüzeyini örten hücreler ve makrofajlarda fazlaştırır. Bunlar; PDGF, fibroblast büyüme faktörü olup damar düz kas hücrelerinin sayısının artmasını ve göçünün başlangıcını sağlar. Ox-LDL damar düz kası aracılığıyla kollajen yapıp ateroskleroz olan bölgede fibrozise neden olur. Ayrıca MMP 1, 3 ve 9 salgılanma artışı ve MMP'ların doku inhibitör yapımını düşürerek damar düz kas hücrelerinin apoptozisini sağlar. LDL'nin oksidasyonu damar hücrelerinde hücre öldürücü tesirle apoptozda ilerleme sağlar. Lipid ve lizozom enzimlerinin endotel altına girişine neden olarak aterosklerozun gelişmesine ve nekroza uğramış çekirdek kısmının yapımına neden olur. Okside LDL prostoglandin üretimini, prostasiklin yapımını stimüle ederek, endotelden nitrik oksit yapımını azaltarak trombosit yapışmasını ve toplanmasını uyarır (6). Okside LDL LOX-1'le bağlantı kurarak kaspaz 9 ve 3'ün aktifleşmesi ile apoptozu önleyici protein ve Bcl-2 üretimini azaltır. Fibröz plakta okside LDL'nin LOX-1'le bağlantı kurması damar düz kas hücrelerinin ölümüne sebep olarak ateroskleroz plağının yırtılmasına neden olur. Okside LDL ekstraselüler sinyal düzenleyen kinazın fosforile edilmesi ile LOX-1 üretimini artırır (128). NO değişik uyarılarla bağlantılı olarak endotel içerisinde NO sentetaz ile üretilir ve damar genişlemesine, lökosit yapışmasına, platelet yapışması ve toplanmasına, damar düz kas hücre çoğalmasını durdurur ve damar çoğalmasını artırır. Endotelde okside LDL endotel arjinaz II'yi aktifleştirerek nitrik oksit üretimini azaltır, buna ek olarak süperoksit gibi reaktif oksijen türevlerinin artışı da kimyasal tepkime ile nitrik oksit aktivitesini durdurur. Okside LDL endotelin-1 yapımını uyarır ve endotelin-1 de LOX-1 üretimi ile endotelde okside LDL'nin hücre içine geçişini artırır.

Endotelin-1 güçlü damar kasıcı, inflamasyon öncülü ve hasarlı endotelden salgılanan bölünmeyi aktifleyen bir peptid'dir. Renin-anjiyotensin sistemi endotelial fonksiyon bozukluğuna sebep olur. Anjiyotensin dönüştürücü enzim, anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürür. Anjiyotensin II, LOX-1 üretimini başlatarak endotel içine ox-LDL girişini artırır. Ox-LDL miktar ve süreye bağlı olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim üretimini artırır. Ox-LDL apoptozis öncülü protein Bcl-2 ilgili X protein (Bax) üretimini artırır. Fas ölüm reseptörüdür ve ligand FasL ile aktifleştirildiğinde apoptozis başlar. Ox-LDL damar hücrelerinde Fas üretimini artırarak apoptozise duyarlılaştırır. Ox-LDL, LOX-1 ile bağlanarak NADPH oksidazı aktifleştirir ve H₂O₂, süperoksit gibi intrasellüler reaktif oksijen türevi artışına neden olur.

Plazminojen aktifleyici damar içerisinde fibrin parçalanmasının kontrolü ile ilişkilidir. Plazminojen aktivatör inhibitör 1 fibrin parçalanmasını idare eder ve aterosklerozda üretimi artmıştır. Ox-LDL endotelde plazminojen aktivatör inhibitör 1 artışına neden olarak trombotik olaylara müdahale eder. Endotel progenitör hücreler neovaskülarizasyon ve zarar görmüş endotelin düzeltilmesi ile ilişkilidir. Ox-LDL endotel progenitör hücreler üzerinde olumsuz etkilidir, sayılarını düşürür, işlevini bozar ve ölümüne neden olur. Buna ek olarak ox-LDL endotel nitrik oksit sentaz üretimini ve nitrik oksit ekspresyonunu azaltarak endotel progenitör hücrelerin hayat ve işlevlerini etkiler.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

- Otomatik pipet: Transferpette S 10-100 mikrolitre ve S100-S1000 mikrolitre (Almanya)
- Vorteks: Wisemix VM (Kore)
- Santrifüj cihazı: NF 048 (Türkiye)
- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) okuyucu: EL X 800 (ABD)
- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yıkayıcı: EL X 50 (ABD)
- Etüv

3.2. Kullanılan Kimyasallar

- Human afamin ELISA kiti (BT LAB, Katalog No: E3471Hu, Lot No: 202106010)
- Human E vitamini ELISA kiti (BT LAB, Katalog No: E1547Hu, Lot No: 202106010)
- Human ox-LDL ELISA kiti (BT LAB, Katalog No: EA0054Hu, Lot No: 202106010)

3.3. Örnek Seçimi

Çalışmamız T.C. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Çalışmaya koroner arter hastalığı tanısıyla kardiyoloji klinik ve polikliniklerde takip ve tedavileri yapılan gönüllü 50 hasta ve 40 sağlam birey yer aldı.

Bu çalışmanın hasta gurubu koroner arter hastalığı tanısıyla takip edilen kadın ve erkek hastalardan oluşturulmuştur.

Çalışmaya dahil edilen bireylerden Ocak 2021-Mart 2021 tarihleri arasında 10-12 saatlik açlık ve 10-15 dakikalık dinlenme sonrası venöz kan örnekleri sarı kapaklı tüpe alındı. Daha sonra 15-20 dakikalık pıhtılaşma süresini takiben 4000g de 5dk santrifüje tabi tutuldu elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak -80 derecede muhafaza edildi.

Toplanan örnekler istediğimiz sayıya ulaşıncaya afamin, E vitamini, ox-LDL seviyeleri için topladığımız serumlar kit çalışma prensiplerine uygun şekilde ELISA yöntemiyle çalışılmıştır.

Katılımcılar çalışma ile ilgili olarak detaylı bilgilendirilmiştir. Bilgilendirme ve Onam Formu imzalatılıp onamları alındı ve çalışmaya 169/07.05.2020 karar sayısı ile T.C. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulu tarafından onay verildi. Çalışma için gereken harcamalar T.C. Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje no: TIP.20.024) tarafından karşılanmıştır.

Çalışmada sağlıklı grup ile hasta grubu arasında seviyeleri ölçülen parametreler arasında fark olup olmadığını tesbit etmek temel hedefti.

3.4. Yöntemler

3.4.1. Afamin ölçümü

Human Afamin ELISA kit BT LAB, Katalog No: E3471Hu, Lot No: 202106010 yardımıyla çalışma yapıldı. BioTek Instruments (A.B.D) markalı EL X 800 model cihaz ile 450nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi.

Test prensipleri

Kit, inceleme yapılacak örneklerde çift-antikor sandiviç ELISA yöntemi kullanarak afamin düzeylerinin saptanmasını sağlar. Afamin monoklonal antikorla döşenmiş enzim kuyularına önceden konulur. Biotinle işaretlenmiş antikorlar eklenip daha sonra Streptavidin-HRP katılarak inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra yıkama işlemine tabi tutularak bağlanmayan enzimler geride kaldı. Bunun ardından kromojen A ve B eklenerek numunelerin mavileşmesi izlendi. Bunun ardından ilave edilen asidin tesirine bağlı olarak sarı renge dönüşüm gözlemlenmiştir. Ortaya çıkan son rengin konsantrasyonu afaminin yoğunluğu ile koreledir.

Testin gerçekleştirilmesi

Standartlar(Std) test gerçekleştirilmeden önce gösterildiği şekilde hazırlanmıştır.

- Std 5 (320ng/mL): 120 mikrolitre orijinal std + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 4 (160 ng/mL): 120 mikrolitre std 5 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 3 (80ng/mL): 120 mikrolitre std 4 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 2 (40 ng/mL): 120 mikrolitre std 3 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 1 (20 ng/mL): 120 mikrolitre std 2 + 120 mikrolitre std dilüent

Testin Adımları

Kromojen A, kromojen B ve stop çözeltisi kör kuyucuğuna eklenir biyotin işaretli antikor ve numuneler katılmaz. Diğer kuyucuklarsa geriye kalan öteki işlemler yapılır. 50 mikrolitre standart ve 50 mikrolitre Streptavidin-HRP standartların konulması gereken kuyucuklara konuldu. Biyotin işaretli antikorlar, standartlar daha önceden biyotinlendiği için eklenmesine gerek duyulmadı. Daha sonra geri kalan kuyucuklara uygulamalar yapıldı. 40 mikrolitre örnek ve 10 mikrolitre afamin antikorlu ve 50 mikrolitre Streptavidin-HRP ile test kuyucukları doldurulmuştur. Sıvının iyice karışması ve kuyucukların zeminine yapışmasına özen gösterilmelidir.

Daha sonra 37 derecede ve 60 dakikada inkübe edildi. Sıvının dışarı atılıp yıkanmasının akabinde 50'şer mikrolitre kromojen A ve kromojen B eklenerek karıştırıldı. 10 dakika 37 derecede inkübe edildi. İnkübasyonun ardından stop solüsyonu eklenmesiyle işlem sona erdirildi.

3.4.2. E vitamini ölçümü

Human E vitamini ELISA kit BT LAB Katalog no: E1547Hu, Lot No: 202106010 yardımıyla çalışma yapıldı. BioTek instruments (A.B.D) markalı EL X 800 model cihaz ile 450nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi.

Test Prensipleri

Kit, inceleme yapılacak örneklerde çift-antikor sandviç ELISA yöntemi kullanarak E vitamini düzeylerinin saptanmasını sağlar. E vitamini monoklonal antikorla döşenmiş enzim kuyularına önceden konulur. Biotinle işaretlenmiş antikorlar eklenip daha sonra Streptavidin-HRP katılarak inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra yıkama işlemine tabi tutularak bağlanmayan enzimler geride kaldı. Bunun ardından kromojen A ve B eklenerek numunelerin mavileşmesi izlendi. Bunun ardından ilave edilen asidin tesirine bağlı olarak sarı renge dönüşüm gözlemlenmiştir. Ortaya çıkan son rengin konsantrasyonu E vitamini yoğunluğu ile koreledir.

Testin gerçekleştirilmesi

Standartlar(Std) test gerçekleştirilmeden önce gösterildiği şekilde hazırlanmıştır.

- Std 5 (80ng/mL): 120 mikrolitre orijinal std + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 4 (40ng/mL): 120 mikrolitre std 5 + 120 mikrolitre std dilüent

- Std 3 (20ng/mL): 120 mikrolitre std 4 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 2 (10 ng/mL): 120 mikrolitre std 3 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 1 (5ng/mL): 120 mikrolitre std 2 + 120 mikrolitre std dilüent

Testin Adımları

Kromojen A, kromojen B ve stop çözeltisi kör kuyucuğuna eklenir biyotin işaretli antikor ve numuneler katılmaz. Diğer kuyucuklarsa geriye kalan öteki işlemler yapılır. 50 mikrolitre standart ve 50 mikrolitre Streptavidin-HRP standartların konulması gereken kuyucuklara konuldu. Biyotin işaretli antikorlar, standartlar daha önceden biyotinlendiği için eklenmesine gerek duyulmadı. Daha sonra geri kalan kuyucuklara uygulamalar yapıldı. 40 mikrolitre örnek ve 10 mikrolitre afamin antikorunu ve 50 mikrolitre Streptavidin-HRP ile test kuyucukları doldurulmuştur. Sıvının iyice karışması ve kuyucukların zeminine yapışmasına özen gösterilmelidir.

Daha sonra 37 derecede ve 60 dakikada inkübe edildi. Sıvının dışarı atılıp yıkanmasının akabinde 50`şer mikrolitre kromojen A ve kromojen B eklenerek karıştırıldı. 10 dakika 37 derecede inkübe edildi. İnkübasyonun ardından stop solüsyonu eklenmesiyle işlem sona erdirildi.

3.4.3. Ox-LDL ölçümü

Human Ox-LDL ELISA kit BT LAB Katalog No: EA0054Hu, Lot No: 202106010 yardımıyla çalışma yapıldı. BioTek instruments (A.B.D) markalı EL X 800 model cihaz ile 450nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi.

Test prensipleri

Kit, inceleme yapılacak örneklerde çift-antikor sandiviç ELISA yöntemi kullanarak ox-LDL düzeylerinin saptanmasını sağlar. Ox-LDL monoklonal antikorla döşenmiş enzim kuyularına önceden konulur. Biotinle işaretlenmiş antikorlar eklenip daha sonra Streptavidin-HRP katılarak inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra yıkama işlemine tabi tutularak bağlanmayan enzimler geride kaldı. Bunun ardından kromojen A ve B eklenerek numunelerin mavileşmesi izlendi. Bunun ardından ilave edilen asidin tesirine bağlı olarak sarı renge dönüşüm gözlemlenmiştir. Ortaya çıkan son rengin konsantrasyonu ox-LDL yoğunluğu ile koreledir.

Testin gerçekleştirilmesi

Standartlar(Std) test gerçekleştirilmeden önce gösterildiği şekilde hazırlanmıştır.

- Std 5 (120ng/mL): 120 mikrolitre orijinal std + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 4 (60ng/mL): 120 mikrolitre std 5 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 3 (30ng/mL): 120 mikrolitre std 4 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 2 (15ng/mL): 120 mikrolitre std 3 + 120 mikrolitre std dilüent
- Std 1 (7,5ng/mL): 120 mikrolitre std 2 + 120 mikrolitre std dilüent

Testin Adımları

Kromojen A, kromojen B ve stop çözeltisi kör kuyucuğuna eklenir biyotin işaretli antikor ve numuneler katılmaz. Diğer kuyucuklaraysa geriye kalan öteki işlemler yapılır. 50 mikrolitre standart ve 50 mikrolitre Streptavidin-HRP standartların konulması gereken kuyucuklara konuldu. Biyotin işaretli antikorlar, standartlar daha önceden biyotinlendiği için eklenmesine gerek duyulmadı. Daha sonra geri kalan kuyucuklara uygulamalar yapıldı. 40 mikrolitre örnek ve 10 mikrolitre afamin antikor ve 50 mikrolitre Streptavidin-HRP ile test kuyucukları doldurulmuştur. Sıvının iyice karışması ve kuyucukların zeminine yapışmasına özen gösterilmelidir.

Daha sonra 37 derecede ve 60 dakikada inkübe edildi. Sıvının dışarı atılıp yıkanmasının akabinde 50`şer mikrolitre kromojen A ve kromojen B eklenerek karıştırıldı. 10 dakika 37 derecede inkübe edildi. İnkübasyonun ardından stop solüsyonu eklenmesiyle işlem sona erdirildi.

3.4.4. İstatiksel analiz

Bulduğumuz verileri SPSS (Statistical Package for Social Sciences) ve Microsoft Office Excel programlarıyla değerlendirdik. Verilerimize ait, yüzde değerleri, ortalama, standart sapma minimum ve maksimum değerleri tesbit ettik. Verilerimizin normal dağılıp dağılmadığını Kolmogrov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleriyle tesbit ettik. Normal dağılıma sahip gruplarda student-t testi kullanarak hastayla kontrol gurubu arasında anlamlı bir fark olup olmadığına bakılmıştır. Normal dağılıma uymayanlarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Korelasyonu tesbit etmek için Pearson ve Spearman gibi testlerden faydalanıldı. 0,5-0,75 güçlü korelasyon, 0,75-1 çok güçlü korelasyon var anlamına gelmektedir. $P < 0,05$ değeri istatistiki açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Yapmış olduğumuz çalışmamıza Ocak 2021-Mart 2021 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi tıp fakültesi kardiyoloji polikliniği ve kliniğine başvuru yapan 33 erkek ile 17 kadın hasta ile 26 kadın ve 14 erkek sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir.

Hasta ile kontrol gruplarının demografik verileri kıyaslandı.

		Cinsiyetler		Total
		Erkek	Kadın	
Gruplar	Hasta	33	17	50
	Kontrol	14	26	40
Total		47	43	90

Tablo 2:Gruplar ve cinsiyetlerin dağılımı

		Kolmogorov-Smirnow			Shapiro-Wilk		
	Gruplar	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Yaşlar	Hasta	,074	50	,200	,982	50	,622
	Kontrol	,107	40	,200	,958	40	,146

Tablo 3: Hasta ve kontrol grubunda yaşların normal dağılımını gösteren tablo

Burada hasta veya kontrollerdeki kişi sayıları 30'dan büyük olduğu için Kolmogorov-Smirnov testini baz alıyoruz. Anlamlılık (Significant) değeri 0.200 çıkmıştır. Bu değer $p < 0.05$ anlamlılık düzeyine göre değerlendirdiğimizde bariz yüksek çıkmaktadır. Bundan dolayı yaşlar hasta ve kontrol grubunda normal dağılıma uymaktadır. Bu yüzde student- t testini uygulayacağız.

Parametre	HASTA ort.	KONTROL ort.	P
Yaş	59,28	42,12	,000

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunda yaşların ortalamasının student-t testi ile kontrol edilmesi.

Sonuç olarak hastaların yaş ortalaması kontrollerin yaş ortalamasından bariz yüksek bulunmuştur. Bu yükseklik anlamlıdır ($p<0,05$).

		Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Cinsiyet	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Yaş	Erkek	,111	47	,196	,966	47	,187
	Kadın	,116	43	,171	,961	43	,152

Tablo 5: Erkek ve kadınların yaşlarının normal dağılıp dağılmadığını gösteren tablo

Erkeklerin yaşları ile kadınların yaşları normal dağılıma uymaktadır. Bu yüzden Student-t testi uyguladık.

Parametre	ERKEK ort.	KADIN ort.	P
Yaş	54,48	48,55	,061

Tablo 6: Erkek ve kadınların yaş ortalamaları arasındaki ilişki.

Erkeklerin yaş ortalaması ile kadınların yaş ortalaması arasında anlamlı bir fark yoktur.

HASTA	Kolmogorov-Smirnow			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df.	.Sig	Statistic	df.	.Sig
YAŞ	,074	50	,200	,982	50	,622
AFAMİN	,285	50	,000	,755	50	,000
VİTAMİN E	,260	50	,000	,787	50	,000
OX-LDL	,097	50	,200	,875	50	,000

Tablo 7: Hasta grubunun Kolmogorov-Smirnow ve Shapiro-Wilk testleriyle değerlendirilmesi.

Hasta grubunda sadece yaş ve ox-LDL normal dağılım göstermektedir.

KONTROL	Kolmogorov-Smirnow			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df.	Sig.	Statistic	df.	Sig.
YAŞ	,107	40	,200	,958	40	,146
AFAMİN	,312	40	,000	,675	40	,000
VİTAMİN E	,310	40	,000	,681	40	,000
OX-LDL	,084	40	,200	,977	40	,571

Tablo 8: Kontrol grubunun Kolmogorov-Smirnow ve Shapiro-Wilk testleriyle değerlendirilmesi.

Kontrol grubunda ise yaş ve ox-LDL normal dağılım göstermektedir.

Parametre	Grup	N	Minimum	Maximum	Ortalama	S.Sapma	p
Afamin	Hasta	50	29,07	320,62	97,41	73,18	,019
	Kontrol	40	0	403,13	87,73	94,27	
E vitamini	Hasta	50	7,75	76,25	25,80	17,89	,011
	Kontrol	40	0	89,82	22,83	23,34	

Tablo 9: Afamin ve E vitamininin hasta ve kontrol gruplarının Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi

Burada afamin ve E vitamini düzeyleri hasta ve kontrol gurubunda anlamlı bir fark göstermiştir. Afamin hastalarda yüksek bulunmuştur. E vitamini de hastalarda yüksek bulunmuştur.

Parametre	Grup	N	Minimum	Maximum	Ortalama	S.Sapma	p
Yaşlar	HASTA	50	37	81	59,28	9,95	,000
	KONTROL	40	19	78	42,12	14,87	
Ox-LDL	HASTA	50	0	87,45	64,53	14,39	,020
	KONTROL	40	46,96	86,62	70,30	8,37	

Tablo 10: Yaşların ve ox-LDL'nin student-t testi ile değerlendirilmesi

Ox-LDL'nin hasta ve kontrol grubundaki ortalamaları arasında anlamlı fark görülmüştür.Ox-LDL ortalamaları kontrol grubunda yüksek bulunmuştur.

Parametre	Grup	N	Mean Rank	p
Afamin	Kadın	43	43,02	,390
	Erkek	47	47,77	
E Vitamini	Kadın	43	42,56	,307
	Erkek	47	48,19	

Tablo 11: Afamin ve E vitamininin kadın ve erkekler arasında Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi.

Afamin ve E vitamini cinsiyetler arasında düzeyleri anlamlı bulunmamıştır.

Parametre	Grup	N	Ortalama	p
Ox-LDL	Erkek	47	66,76	,788
	Kadın	43	67,46	

Tablo 12: Ox-LDL'nin kadın ve erkekte student-t testi ile değerlendirilmesi.

Ox-LDL düzeyleri cinsiyetler arasında anlamlı bulunmamıştır.

Parametre	GRUP	N	Mean Rank	p
Afamin	Kadın hasta	17	28,76	,004
	Kadın kontrol	26	17,58	
E vitamini	Kadın hasta	17	28,35	,007
	Kadın kontrol	26	17,85	

Tablo 13: Kadın hasta ve kadın kontrol arasında Mann-Whitney U testinin uygulanışı

Kadın hasta ile kadın kontrol arasında anlamlı bir afamin farkı bulunmuştur. Kadın hastalarda kadın kontrollere göre anlamlı düzeyde yüksek afamin düzeyi tesbit edilmiştir. E vitamini düzeylerinin kadın hasta ile kadın kontroller arasındaki farkı anlamlı bulunmuştur. E vitamini de kadın hastalarda yüksek bulunmuştur.

Parametre	GRUP	N	Mean Rank	p
Afamin	Erkek hasta	33	24,15	,907
	Erkek kontrol	14	23,64	
E vitamini	Erkek hasta	33	24,39	,762
	Erkek kontrol	14	23,07	

Tablon 14: Erkek hasta ve erkek kontrol arasında Mann-Whitney U testinin uygulanışı

Afamin düzeyleri erkek hasta ile erkek kontrol arasında anlamlı bulunmamıştır. E vitamini düzeyleri erkek hasta ile erkek kontrol arasında anlamlı bulunmamıştır.

Parametre	GRUP	N	Ortalama	p
Ox-LDL	Erkek hasta	33	65,03	,093
	Erkek kontrol	14	70,82	
Ox-LDL	Kadın hasta	17	63,56	,141
	Kadın kontrol	26	70,02	

Tablo 15: Ox-LDL'nin kadın ve erkek hastalarda student-t testi ile ayrı ayrı değerlendirilmesi

Ox-LDL düzeyleri kadın hasta ile kadın kontroller arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ayrıca ox-LDL düzeyleri erkek hasta ile erkek kontrol arasında anlamlı bulunmamıştır.

			Afamin	Yaş	E vitamini	Ox-LDL
Spearman's rho	Afamin	Corelation Coefficient	1,000	,126	,919	-,179
		Sig.(2-tailed)	.	,236	,000	,091
		N	90	90	90	90
	Yaş	Corelation Coefficient	,126	1,000	,162	-,191
		Sig.(2-tailed)	,236	.	,128	,071
		N	90	90	90	90
	E vitamini	Corelation Coefficient	,919	,162	1,000	-,183
		Sig.(2-tailed)	,000	,128	.	,085
		N	90	90	90	90
	Ox-LDL	Corelation Coefficient	-,179	-,191	-,183	1,000
		Sig.(2-tailed)	,091	,071	,085	.
		N	90	90	90	90

Tablo 16: Hasta ve kontrol toplam korelasyonları

Hasta ve kontrol gurubu arasında afamin ve vitamin E düzeyleri arasında korelasyon tesbit edilmiştir. Burada korelasyon katsayısı 0,75-1 arasında çıktığı için çok güçlü korelasyon tesbit ettik. Diğerleri arasında herhangi bir korelasyon tesbit edilmemiştir.

HASTA			Afamin	Yaş	E vitamini	Ox-LDL
Spearman`rho	Afamin	Corelation Coefficient	1,000	,111	,861	-,141
		Sig.(2-tailed)	.	,443	,000	,327
		N	50	50	50	50
	Yaş	Corelation Coefficient	,111	1,000	,160	-,048
		Sig.(2-tailed)	,443	.	,266	,740
		N	50	50	50	50
	E vitamini	Corelation Coefficient	,861	,160	1,000	-,101
		Sig.(2-tailed)	,000	,266	.	,484
		N	50	50	50	50
	Ox-LDL	Corelation Coefficient	-,141	-,048	-,101	1,000
		Sig.(2-tailed)	,327	,740	,484	.
		N	50	50	50	50

Tablo 17: Hasta grubunun korelasyonları

Hasta grubunda E vitamini ve afamin arasında korelasyon tesbit edilmiştir.

KONTROL			Afamin	Yaş	E vitamini	Ox-LDL
Spearman's rho	Afamin	Corelation Coefficient	1,000	-,031	,920	-,072
		Sig.(2-tailed)	.	,848	,000	,660
		N	40	40	40	40
	Yaş	Corelation Coefficient	-,031	1,000	-,026	-,219
		Sig.(2-tailed)	,848	.	,876	,174
		N	40	40	40	40
	E vitamini	Corelation Coefficient	,920	-,026	1,000	-,125
		Sig.(2-tailed)	,000	,876	.	,441
		N	40	40	40	40
	Ox-LDL	Corelation Coefficient	-,072	-,219	-,125	1,000
		Sig.(2-tailed)	,660	,174	,441	.
		N	40	40	40	40

Tablo 18: Kontrol grubunun korelasyonları.

Kontrol grubunda da afamin ile E vitamini arasında korelasyon tesbit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında olduğu gibi hastaneye yatırılma ve ölümün en sık sebeplerinden biridir. Kardiyovasküler hastalıklardan dolayı gerçekleşen ölümlerin en sık sebebi koroner arter hastalığıdır. Efor anjinası, akut miyokard infarktüsü (AMİ) ve ani ölüme kadar çeşitli ciddiyette klinik durumlara sebep olan bir hastalıktır. Temel etkeni ateroskleroz olmakla beraber kötü gidişli tüm sistemi tutabilen inflamatuvar bir rahatsızlıktır (134).

Koroner arter hastalığının en birincil nedeni aterosklerozdur. Aterosklerozda damar duvarı kalınlaşır ve esnekliği kaybolur. Bu hastalık 'arteriyoskleroz' denen bir arteriyel hastalık ailesinin bir üyesidir. Bu ise arteriyosklerozun en önemli tipini oluşturmaktadır (135). Koroner arterioskleroz çocukluk dönemlerinde başlar. İlk önce damarlarda yağlı çizgilenme ile başlar ve yaş ilerledikçe kötü gidişat artar. Ayrıca buna ek olarak çeşitli risk faktörleri de bu kötü gidişata katkıda bulunur. Bu risk faktörlerinin en önemlileri sigara, hipertansiyon (HT), diyabetes mellitus (DM), hiperlipidemi, erkek olmak ve ailede erken yaşlarda aterosklerozun olmasıdır.

Afamin daha çok karaciğerde salınır. İnsan beyrinde, kalpte, böbrekte, testiste ve yumurtalıkta gösterilmiştir. Afamin in vitro ve in vivo olarak E vitamininin en önemli formlarından ikisi olan a-tokoferol ve y-tokoferol şeklindeki E vitamini türlerini bağlamaktadır. İki tokoferol için de çoklu bağlanma bölgesi içermektedir.

Afamin metabolik sendrom ve bileşenleri ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Metabolik sendromu olan hastalarda afamin bariz yüksek bulunmuştur.

Daha önce 60 hasta ile 60 kontrol arasında yapılmış bir çalışmada düşmüş afamin düzeyleri ve artmış preptin düzeylerinin koroner arter hastalığının progresyonu ile güçlü bir ilişkide olduğu tesbit edilmiştir (140). Hastalarda afamin düzeyi düşük tesbit edilmiştir (140). Ayrıca hastalarda kateterizasyondan önceye göre kateterizasyondan sonra daha yüksek afamin düzeyi tesbit edilmiştir (140). Afamin E vitaminini bağlama özelliğinden dolayı oksidatif strese çok önemli rolü vardır (140). Buna ek olarak LDL kolesterol düzeyi arttıkça afamin düzeyi azalmakta LDL kolesterol düzeyi azaldıkça afamin düzeyleri artmaktadır (140).

Başka bir çalışmada koroner arter hastalarında afaminin down-regüle olduğu tesbit edilmiştir (141).

1345 kişi üzerinde yapılmış bir diğer çalışmada afamin düzeyleri koroner arter hastalarında mortalite ile ilişkili bulunmuştur (142). Afamin düzeyleri koroner arter hastalığına bağlı ölmüş hastalarda yaşayanlara göre daha yüksek oranda bulunmuştur.

Bir başka çalışmada stent içi restenoz hastalarında afamin düzeyi düşük tesbit edilmiştir (143).

Daha önce 53 sağlıklı erkek ile koroner arter hastası olmayan 53 sağlıklı gönüllü üzerinde birçok proteinle yapılmış bir çalışmada afamin düzeyleri hastalarda kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur (144).

Yine 50 hasta ve 50 sağlıklı kontrol üzerinde yapılmış bir başka çalışmada koroner arter hastalığında serum biomarkerler bakılmış ve afamin düzeyleri hastalarda yüksek tesbit edilmiştir (145). Bu alışma 120 hasta ve 120 sağlıklı kontrol üzerinden doğrulanmıştır (145).

Jacquest Genest koroner arter hastalarında bakılan birçok protein içerisinde afamin düzeylerini kontrollere göre bariz yüksek tesbit etmiştir.

Familyal hiperkolesterolemi hastalığı artmış LDL kolesterol seviyeleri ve prematüre ateroskleroz ile giden bir hastalıktır. Heterozigot familyal hiperkolesterolemi hastalarında koroner arter hastalığı riski 3,5 kattan 16 kata kadar artmış risk tesbit edilmiştir. Bu hastalarda serum afamin düzeyleri kontrolleren daha yüksek bulunmuştur (146).

Biz de yapmış olduğumuz çalışmada 50 hasta ve 40 kontrol grubu kullandık. Hastalarda bariz oranda yüksek afamin düzeyleri tesbit ettik.

Afamin ve E vitamini arasında güçlü pozitif korelasyon tesbit ettik. Bu durumun afaminin E vitamini bağlamasından kaynaklandığı sonucuna ulaşabiliriz.

Daha önce yapılmış bir çalışmada E vitamini kalp hastalıkları ve inmeden korunmada oldukça anlamlı faydaları olduğu grlmştir. E vitamini LDL peroksidasyonunda azalma, trombosit biraraya gelmesinde azalmaya sebep olmuştur. Ayrıca HDL düzeylerinde artış, fibrinolitik aktivasyonda artış özellikleriyle aterosklerozdan koruyucu olduğu grlmştir. İnslinden bağımsız diyabetiklerde, insülin sensitivitesinde düzelme ve plazma lipit düzeylerinde azalmaya neden olmuştur.

Bir başka çalışmada ise E vitamininin kolesterol ve kolesterol taşıyıcı protein oksidasyonunu engellediği görülmüştür. İleride damar duvarı hasarının sebep olduğu ateroskleroz oluşumunu önler. Yağlar ve kolesterol oksidatif stres yaratan serbest radikal hasarının sebebidir. Hasar oluştuğunda yağlar ve kolesterol, lipid peroksidaz ve okside kolesterol denilen zararlı bileşikler oluşumuna neden olurlar. E vitamin ve diğer antioksidanlar bunun gibi hasara sebep olan bileşiklerin oluşumuna engel olurlar.

Önceleri yapılmış bir başka çalışma göstermiştir ki tüm antioksidanlar içerisinde LDL oksidasyonuna karşı en yüksek korumayı E vitamini sağlar. E vitamini LDL molekülü ile kolayca biraraya gelme özelliğini taşır.

Daha önce yapılmış bir başka çalışmada koroner arter hastalarında sağlıklılara göre E vitamini düzeyleri anlamlı bulunmamıştır (147).

Çalışmalar göstermiştir ki E vitamininin artmış alımı koroner arter hastalığı riskini azaltmaktadır (148).

Seri koroner anjiyografik taramalarda E vitamininin alımı koroner arter hastalığının progresyonunu yavaşlatabilmektedir (149).

LDL'deki E vitamini ile koroner arter hastalığının ciddiyeti arasında ters bir ilişki tesbit edilmiştir (150).

Hücre kültürü ve hayvan deneylerinde a-tokoferolün koroner arter hastalığında koruyucu rolü olduğu sinyal yollarının düzenlenmesi ve gen ekspresyonu yolu ile gerçekleşmektedir (151).

Yalnızca E vitamini takviyesi miyokard infarktüsü riskini azaltıyor (152).

Bazı yapılmış çalışmalarda E vitamininin koroner arter hastalıklarından koruyucu olduğu tartışmalı bir konu olmuştur. Yapılan çalışmaların bir kısmı E vitamini faydalı bulmuşken bir kısmı ise faydasız bulmuştur (153).

Prentice ve ark (2019) 3780 bayan üzerinde yapılmış bir kohortta E vitamini düzeylerini kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu olduğuna dair önemli veriler elde edememiştir (153).

Stepaniak ve ark. (2016) 12.642 erkek 14.351 bayan üzerinde yapmış oldukları kohort çalışmalarında E vitamininin kardiyovasküler hastalıktan koruyucu olduğuna dair önemli bulgular elde edememiştir (153).

Otero-Losada ve ark. (2013) 51 erkek 61 bayan hastada yapmış oldukları çalışmada 2 ay boyunca günlük 400 mg a-tokoferol takviyesi ile kardiyovasküler risk koruyuculuğu arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (153).

Espe ve ark.(2013) 565 erkek 481 bayan üzerinde yapmış oldukları bir kohortta serum a-tokoferol düzeylerini kardiyovasküler hastalığı olan diyabetik hemodiyaliz hastalarına anlamlı bulmamışlardır. Ayrıca kardiyovasküler hastalık mortalitesi ile de ilişkili bulamamışlardır (153).

Goyal ve ark. (2013) 7510 erkek 8498 bayan üzerinde yapmış oldukları bir kohort çalışmasında serum E vitamini düzeyleri ile kardiyovasküler morbidite ve mortalite arasında ilişki bulunamamıştır (153).

Naido ve ark. (2012) 456 erkek 243 bayan üzerinde yaptıkları vaka kontrol çalışmalarında alfa tokoferol ile gama tokoferol seviyelerinin azalmış veya artmış akut miyokard enfarktüsü riski ile herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Fakat delta tokoferolün artmış akut miyokard enfarktüsü riski ile ilişkili bulunmuştur (153).

Nagao ve ark. (2012) 13.382 erkek ve 24.776 bayan hasta üzerinde yapmış oldukları vaka kontrol çalışmalarında alfa ve gama tokoferol düzeyleri ile koroner arter hastalığı arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır (153).

Familiyal hiperkolesterolemide kontrollerde alfa tokoferol ve gama tokoferol düzeyleri hastalardan daha düşük düzeyde tesbit edilmiştir (146).

Günümüzde yapılmış bir çok çalışmada E vitamini düzeylerinin koroner arter hastalarında koruyucu olduğuna dair veriler elde edilememiştir. Çok az çalışmada koruyucu olduğuna dair veriler elde edilmiştir.

Biz de 50 hasta ve 40 kontrolle yaptığımız çalışmada E vitamini düzeylerini hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulduk.Bunun sebebi afaminden kaynaklanıyor olabilir. Çünkü afamin ile çok güçlü korelasyon tesbit ettik. Afamin düzeyleri arttıkça E vitamini düzeyi artmaktadır. Afamin düzeyleri azaldıkça E vitamini düzeyleri azalmaktadır.

Aterosklerozun altında yatan en önemli moleküllerden olan Ox-LDL, KKH için oldukça önemli bir biyokimyassal markerdir (Miyazaki ve ark 2005, Anselmi ve ark 2006).

Koroner arter hastalığı (KAH) insidansı ve mortalitesi doğu Avrupa ülkelerinde batı Avrupa ve ABD'ye göre daha yüksektir. Örneğin 1994 yılındaki bir çalışmada Litvanya'da KAH öldürücülüğü 50-54 yaş arası erkeklerde İsviçre'dekilere göre 4 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bu farkın Litvanya'daki erkeklerin LDL oksidasyonuna meyilinin daha yüksek ve antioksidan seviyelerinin daha düşük olmasından kaynaklandığı sonucuna ulaşılmıştır (Zieden ve ark 1999).

Anjiyografik olarak koroner arter darlığı olan (üç koroner arterden en az birinde %50 stenoz, MI öyküsü veya anstabil anjina pektoris bulunan) 32 stabil koroner arter hastası ve 32 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan çalışmada plazma ox-LDL seviyeleri koroner arter hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş total kolesterol seviyeleri ile pozitif bir ilişki göstermiştir (Weinbrenner ve ark 2003).

Anselmi ve ark (2006), stabil ve anstabil anjinası olan hastalar ile hasta olmayan grubunda ox-LDL seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında, ox-LDL seviyelerini, stabil ve anstabil hastalarda hasta olmayanlara göre bariz derecede daha yüksek, stabil hastalarda anstabillere göre daha düşük seviyeler göstermiştir. Anjiyografik olarak gösterilen plak varlığı ile ox-LDL seviyeleri arasında ilişki olduğu tesbit edilmiştir.

Anstabil koroner arter hastalığına sahip 490 kişi ve 431 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan çalışmada ox-LDL seviyeleri hasta grubunda kontrollere göre bariz derecede yüksek olduğu tesbit edilmiştir (Johnston ve ark 2006).

Başka bir çalışmada (Fredrikson ve ark 2003) akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda ox-LDL/kolesterol oranının hasta olmayan grubuna göre önemli derecede daha yüksek olduğu ve ox-LDL/kolesterol oranının artan MI riski için olası marker olabileceği öne sürülmüştür.

Suzuki ve ark (2002), koroner arterlerinde %50'den daha büyük darlığı olan 361 koroner kalp hastası 710 sağlıklı şahıs üzerinde yaptıkları çalışmalarında, koroner arter hastalarında ox-LDL ve LDL kolesterol seviyeleri kontrollere göre önemli derecede yüksek, HDL kolesterol seviyeleri ise daha düşük gözlemlenmiştir.

192 akut MI, 109 unstabil anjina ve 358 stabil anjinalı hasta ile yapılan çalışmada (Ndrepepa ve ark 2005), ox-LDL ölçümleri akut MI grupta 69,5U/L, unstabil anjina'lı grupta 65,6 U/L, stabil anjinalı grupta 67,6 U/ L tesbit edilmiştir. Bu ölçümlerin istatistiksel açıdan önem arzetmediği görülmüştür. Buna ek olarak aterosklerotik

lezyonlarda ox-LDL düzeyleri ile plazma ox-LDL seviyeleri arasında bir ilişkinin olduğu ve özellikle anstabil aterosklerotik plaklarının bolca ox-LDL içerdiği tesbit edilmiştir.

Toshima ve ark (2000), koroner arterlerde >%75 darlık bulunan 65 koroner arter hastası ve 181 sağlıklı kontrol üzerindeki çalışmalarında, plazma ox-LDL seviyeleri hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Yine bir başka araştırmada (Shimada ve ark 2004), koroner arterlerin en az birinde >%50 darlık olan koroner arter hastalarının plazma ox-LDL seviyelerinin kontrollere göre anlamlı derecede yüksek tesbit edilmiştir.

Ehara ve ark. (2002) 70 akut MI, 70 unstabil anjina pektoris, 70 anjina pektoris hastası ve 50 sağlıklı gönüllüler üzerinde yaptıkları araştırmalarında, plazma ox-LDL seviyeleri MI grubunda, unstabil anjina pektoris, anjina pektoris ve sağlıklı kontrol grubundan önemli derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca, ox-LDL düzeyi yüksek olup akut MI'dan ölen hastaların otopsilerinde, aterosklerotik lezyonlarda immünohistokimyasal olarak makrofaj kökenli köpük hücrelerinin çok sayıda bulunduğu görülmüştür.

Faviou ve ark (2005) 41 unstabil anjina pektoris, 62 anjina pektorisli koroner arter hastası ve 170 sağlıklı kontrolle yaptıkları çalışmalarında, plazma ox-LDL düzeyleri hasta gruplarında sağlıklılara göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Unstabil hasta grubunun ox-LDL düzeyleri stabil anjinalı hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek tesbit edilmiştir.

Familyal hiperkolesterolemide hastalarda daha yüksek ox-LDL olmasına rağmen LDL aferezi sonrası yani tedavi sonrası ox-LDL düzeyleri kontrollerden daha düşük tesbit edilmiştir (146).

Biz de 50 hasta ve 40 kontrolle yapmış olduğumuz çalışmamızda ox-LDL düzeylerini hasta grubunda anlamlı derecede düşük bulduk. Bunun sebebi hastaların aldıkları tedaviden kaynaklanıyor olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Koroner Arter Hastalığı, en çok görülen kalp damar sistemi hastalığıdır. Miyokardı besleyen koroner damarların daralma veya tıkanması ile miyokardın kan akımının kısmen ya da tam durmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Daha çok nedeni ateroskleroz olan koroner arter hastalığının klinik ortaya çıkışı genellikle sessiz iskemi, kararlı anjina pectoris, kararsız anjina pectoris, miyokard infarktüsü (MI), kalp yetmezliği ve ani kardiyak ölüm biçimindedir (136-139).

Dünya sağlık örgütü'nün (WHO) verilerine göre kalp damar hastalıkları ilk 10 ölüm nedeni içerisinde birinci sırada yer almaktadır. Her yıl Avrupa'da 4 milyon kişi kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle ölmekte, bu sayı tüm ölümlerin %45'ini oluşturmaktadır. Kalp damar hastalıklarında oksidatif stresin önemi çok büyüktür. Özellikle E vitamini ve bunu taşıyan afamin ve de okside LDL oluşumu gibi birbirleriyle bağlantılı olayları inceledik.

Çalışmamıza 33 erkek 17 kadın hasta ve 14 erkek 26 kadın sağlıklı kontrol dahil edilerek serumlarında ELISA yöntemi kullanarak afamin, E vitamini ve ox-LDL seviyelerini inceledik.

- Hasta ile kontrol grubu arasında afamin açısından karşılaştırıldığında hastalarda yüksek olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$).
- Hasta ile kontrol grubu E vitamini açısından karşılaştırıldığında, hastalarda daha yüksek E vitamini tesbit edildi.
- Hasta ile kontrol grubu ox-LDL açısından karşılaştırıldığında, hastalarda bariz oranda düşük tesbit edilmiştir.
- Afamin ile E vitamini arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tesbit edildi.

Sonuç olarak afamin, E vitamini ve ox-LDL düzeyleri incelenmiş olup, afamin E vitaminini taşır. Daha sonra E vitamini LDL'yi oksidasyondan korur ve ox-LDL oluşumunu engellemektedir. Afaminin yüksek çıkması E vitamini seviyelerinin de yüksek çıkmasına neden olmuş olabilir. ox-LDL'nin düşük çıkması hastaların almış olduğu tedaviden kaynaklanıyor olabilir.

Oksidatif stresin ateroskleroz oluşumundaki rolüne değindik. Bu markerların birlikte incelenmesi kalp damar hastalıklarının önlenmesi ve ilerlemesinin engellemesi açısından önem arz etmektedir.

Bu alanda akademik düzeyde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.



7. KAYNAKLAR

1. Omran AR. The epidemiologic transition. A theory of the epidemiology of population change. *Milbank Mem Fund Q* 1971;49:509-38.
2. Kannel WB, Feinleib M. Natural history of angina pectoris in the Framingham study. Prognosis and survival. *Am J Cardiol* 1972;29:154-63.
3. Murabito JM, Evans JC, Larson MG, Levy D. Prognosis after the onset of coronary heart disease. An investigation of differences in outcome between the sexes according to initial coronary disease presentation. *Circulation* 1993;88:2548-55.
4. Pepine CJ, Handberg EM, Cooper-DeHoff RM, Marks RG, Kowey P, Messerli FH, et al. A calcium antagonist vs a non-calcium antagonist hypertension treatment strategy for patients with coronary artery disease. The International Verapamil-Trandolapril Study (INVEST): a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;290:2805-16.
5. Kim HJ, Yuan J, Norris K, Vaziri ND. High-calorie diet partially ameliorates dysregulation of intrarenal lipid metabolism in remnant kidney. *J Nutr Biochem* 2010; 21:999-1007.
6. Maiolino G, Rossitto G, Caielli P et al. The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the facts. *Mediators Inflamm* 2013;2013:714653.
7. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. *Mediators Inflamm* 2013;2013:152786.
8. Homma Y. Predictors of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2004;11:265-70.
9. Sakurai K, Sawamura T. Stress and vascular responses: endothelial dysfunction via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1: close relationships with oxidative stress. *J Pharmacol Sci* 2003;91:182-6.
10. WHO. The World Health Report 2002. 2002. Geneva, WHO/ OMS.
11. Ebrahim S, Smith GD. Exporting failure? Coronary heart disease and stroke in developing countries. *Int.J.Epidemiol.* 2001;30:201-5.
12. Basic Pathology, Kumar, Cotran, Robbins Temmuz 2000. Sayfa 283-289
13. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet* 1999;353:1547-57
14. Müller-Nordhorn J, Binting S, Roll S, Willich SN. An update on regional variation in cardiovascular mortality within Europe. *Eur Heart J.* 2008;29:1316-26.
15. Onat A, Dursunoğlu D, Kahraman G, Ökçün B, Dönmez K, Keleş İ et al. Türk erişkinlerinde ölüm ve koroner olaylar: TEKHARF çalışması kohortunun 5 yıllık takibi. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi* 1996;24:8-15.

16. Onat A, Uğur M, Tuncer M, ve ark. TEKHARF taramasında ölüm yaşı: 56,700 kişi-yıllık izlemede dönemsel eğilim ve bölgesel dağılım. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2009 37; 155-160.
17. Hurt's The Heart. Valentin Fuster, R. Wayne Alexander, Robert O'Rourke. 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd.Şti. 1. Basım. 2002 Sayfa, 1065-1109
18. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, et al: Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Eng J Med* 2000; 342;454-60
19. 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) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02- 5215 September 2002
20. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, et al. Diabetes and cardiovascular disease : A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999; 100: 1134
21. Haffner SM, Letho S, Ronnema T, et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Eng J Med* 1998; 339: 229
22. Stona PH, Muller JE, Hartwell T, et al. The effect of diabetes mellitus on prognosis and serial left ventricular function after acute myocardial infarction; Contribution of both coronary disease and diastolic left ventricular dysfunction to the adverse prognosis. The MILIS Study Group. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14:49
23. JW, Marcus FI, Serokman R. Prognosis of patients with diabetes mellitus after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1984; 54:718
24. Hergenc G., Schulte H., Assmann G., von Eckardstein A.: Associations of Obesity Markers, Insulin, and Sex Hormones with HDL-Cholesterol Levels in Turkish and German Individuals. Are differences in HDL-cholesterol among Turks and Germans determined by obesity, insulin, or sex hormones. *Atherosclerosis* , 145:147-156, 1999.
25. İçli A., Gök H., Altunkeser BB., Ozdemir K., Gurbilek M., Gederet TY., Sokmen G. :Diyabetik olmayan akut koroner sendromlarda erken donem yeni bir risk onbelirleyicisi 45 olarak "Geliş İnsulin Rezistans İndeksi (GİRİ)'nin değerlendirilmesi. *Anadolu Kardiyol Derg* , 3:194-201, 2002.
26. Walden CE, Knopp RH, Wahl PW, et al. Sex differences in the effect of diabetes mellitus on lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations. *N Eng J Med* 1984; 311: 953
27. Bagdade J.D., Ritter M.C., Subbaiah P.V.: Accelerated cholesteryl ester transfer in patients with insulin-depent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*, 21:161-7,1991.
28. Gordon DJ, Probsfelt JL, Garrison JW, et al. High dencity lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: Four perspective American Studies. *Circulation* 1989; 79:8-15

29. 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) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02- 5215 September 2002
30. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education 46 Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA, 285:2486-2497,2001.
31. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines.2004 Jul Circulation 13; 110(2):227-39
32. Ridker P.M., Rifai N., Rose L., Buring J.E., Cook N.R. :Comparison of Creactive protein and low-density protein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. N Engl J Med ,347:1557-65, 2002.
33. Bersot T.P., Palaoglu E., Mahley W.M.: Managing dyslipidemia in Turkey: Suggested guidelines for population characterized by low levels of high density lipoprotein cholesterol. Anadolu Kardiyol Derg., 4:315-22, 2002.
34. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R,: High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. Atherosclerosis, 168:195-211, 2003.
35. Schaefer E.J., Lamon-Fava S., Ordovas J.M., Chon S.D., Shaefer M.M.,Castelli W.P., Wilson P.W.:Factors associated with low and elevated plasma high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I levels in the Framingham Offspring Study. J Lipid Res. , 35:871-882, 1994.
36. Mahley R.W., Mahley L.L., Bersot T.P., Pepin G.M., Palaoglu K.E. :The Turkish lipid problem: low levels of high density lipoproteins. Turk J Endocr Metab ,1:1-12, 2002.
37. Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Korunma 2001. Prof. Dr Hakan Kültürsay. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. Sayfa 101-190
38. Hopkins PN, Williams RR. Human genetics and coronary heart disease: A public heart perspective. Annu Rev Nutr 1989; 9:303
39. Hurt's The Heart. Valentin Fuster, R. Wayne Alexander, Robert O'Rourke. 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 1. Basım. 2002 Sayfa, 1065-1109
40. İç Hastalıkları. İliçin, Biberoglu, Süleymanlar, Ünal. Güneş Kitabevi , 2. baskı, 2003. Sayfa, 449-474
41. Rissanen AM. Familial aggregation of coronary heart disesase in a high incidence area. Br Heart J 1979; 42:294
42. Williams RR, Hopkins PN, Wu LL,et al. Evaluating family history to prevent early coronary heart disease. In: Person TA, ed. Primer in Preventive Cardiology . Dallas:American Heart Association; 1994:93
43. Wilhelmsson C, Vedin JA, Elmfeldt D,et al. Smoking and myocardial infarction. Lancet 1975; 1: 415-419.

44. TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı. Prof. Dr. Altan Onat, Prof. Dr. Vedat Sansoy, Prof. Dr. İnan Soydan, Prof. Dr. Lale Tokgözoğlu, Prof. Dr. Kamil Adalet. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. Temmuz 2003, İstanbul.
45. Tsevat J, Weinstein MC, Williams LW, et al. Expected gains in life expectancy from various coronary heart disease risk factor modifications. *Circulation* 1991; 83 : 1194
46. Hermanson B, Omenn GS, Kronmal RA, et al. Beneficial six-year outcome of smoking cessation in older men and women with coronary artery disease: Results from the CASS Registry. *N Eng J Med* 1988; 319: 1365
47. Fielding JE, Phenov KJ. Health effects oh involuntary smoking. *N Eng J Med* 1988;319: 1452
48. Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease: Mechanisms and risk. *JAMA*, 1995; 273: 1047
49. He J, Vupputuri S, Allen K, et al. Passive smoking and risk of coronary heart disease: A meta- analysis of epidemiologic studies. *N Eng J Med* 1999; 340: 920
50. Frei B, Forte TM, Ames BN. et al. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma: Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 1991; 277: 133
51. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D. et al. Cigarette smoking is associated with dose related and potentially reversible improvement of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149
52. Rival J, Riddle JM, Stein PD. Effects of chronic smoking on platelet function. *Thromb Res* 1987; 45: 75
53. Fletcher GF, Balady G, Blair SN, et al. Statement on exercise: Benefits and recommendations for physical activity. *Circulation* 1996; 94:857
54. Hambrecht R, Niebauer J, Marburger C, et al. Various intensities of leisure time physical activity in patients with coronary artery disease: Effects on cardiorespiratory fitness and progression of coronary atherosclerotic lesions. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22:468
55. Haskell WL. Sedentary lifestyle as a risk factor for coronary heart disease. In: Pearson TA, ed. *Primer in Preventive Cardiology*. Dallas: American Heart Association; 1994:173
56. Scholler DA, Shay K, Kushner RF: How much physical activity is needed to minimize weight gain in previously obese women? *Am J Clin Nutr* 1997;66:239-46
57. Williams PT: High-density lipoprotein cholesterol and other risk factors for coronary heart disease in female runners. *N Eng J Med* 1996;334:1298-1303
58. Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW, Paffenbarger RD.Jr: Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1991;325:147-52
59. GA, Kelley KS: Progressive resistance exercise and resting blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension* 2000;35:838-4375

60. Chakravarthy MV, Joyner MJ, Booth FW: An obligation for primary care physicians to prescribe physical activity to sedantary patients to reduce the risk of chronic health conditions. *Mayo Clin Proc* 2002;77:165-73
61. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, et al: Effect of exercise on coronary endotelial function in patients with coronary artery disease. *N Eng J Med* 2000;342:454-60
62. Stratton JR, Chandler WL, Schwartz RS, et al: Effects of physical conditioning on fibrinolytic variables and fibrinogen in young and old healthy adults. *Circulation* 1991;83:1692-7
63. Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. *Angiology* 2007;58:513-22
64. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71
65. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-50
66. Libby P, Braunwald E. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. Edinburgh: Saunders Elsevier 2008
67. Drouet L. Atherothrombosis as a systemic disease. *Cerebrovasc Dis.* 2002;13 Suppl 1:1-6
68. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. *Arterioscler Thromb* 1992;12:120-34
69. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. *Circulation* 1992;85:391-405
70. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. *Circulation* 1994;89:2462-78
71. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43
72. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, et al. Intimomedial interface damage and adventitial inflammation is increased beneath disrupted atherosclerosis in the aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation* 2002;105:2504-11
73. Gensini GG. Coronary arteriography. Mount Kisco, NY: Futura, 1975:271-74.
74. Gensini GG. Coronary arteriography. In: E. Braunwald (ed). *Heart Disease*, Vol. 2. Philadelphia: WB Saunders; 1980:352-53.
75. Sullivan DR, Marwick TH, Freedman SB, et al. A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors. *Am Heart J* 1990;119:1262-1266.
76. Lichenstein HS, Lyons DE, Wurfel MM, et al. Afamin is a new member of the albumin, a-fetoprotein, and vitamin D-binding protein gene family. *J Biol Chem* 1994;269: 18149-54.
77. Araki T, Haupt H, Hermentin P, et al. Preparation and partial structural characterization of alpha1T-glycoprotein from normal human plasma. *Arch Biochem Biophys* 1998;351:250-6.

78. Jerkovic L, Voegelé AF, Chwatal S, et al. Afamin is a novel human vitamin E-binding glycoprotein characterization and in vitro expression. *J Proteome Res* 2005;4: 889–99
79. L. Bélanger , S. Roy , D. Allardı -fetoprotein lokusuna bitişik yeni albümin geni 3 *J Biol Chem* , 269 (1994) , s. 5481 – 5484
80. Allard D, Gilbert S, Lamontagne A, Hamel D, Belanger L. Identification of rat aalbumin and cDNA cloning of its human ortholog. *Gene* 1995;15:287–8.
81. Jin L, Long L, Green MA, Spear BT. The alpha-fetoprotein enhancer region activates the albumin and alpha-fetoprotein promoters during liver development. *Dev Biol* 2009;336:294–300.
82. Liu H, Ren H, Spear BT. The mouse alpha-albumin (afamin) promoter is differentially regulated by hepatocyte nuclear factor 1alpha and hepatocyte nuclear factor 1beta. *DNA Cell Biol* 2011;30:137–47.
83. Voegelé AF, Jerkovic L, Wellenzohn B, et al. Characterization of the vitamin E-binding properties of human plasma afamin. *Biochemistry* 2002;41:14532–8.
84. H. Haupt , K. Heide İnsan serumundan izlerde meydana gelen birkaç triptofan bakımından fakir alfa 1-glikoproteininin izolasyonu
85. Dieplinger B, Egger M, Gabriel C, et al. Analytical characterization and clinical evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of afamin in human plasma. *Clin Chim Acta* 2013;425:236–41.
86. Dieplinger H, Ankerst DP, Burges A, et al. Afamin and apolipoprotein A-IV: novel protein markers for ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18: 1127–33
87. Jackson D, Craven RA, Hutson RC, et al. Proteomic profiling identifies afamin as a potential biomarker for ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13:7370–9.
88. Kronenberg F, Kollerits B, Kiechl S, et al. Plasma concentrations of afamin are associated with the prevalence and development of metabolic syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 2014;7:822–9.
89. Heiser M, Hutter-Paier B, Jerkovic L, et al. Vitamin E binding protein afamin protects neuronal cells in vitro. *J Neural Transm Suppl* 2002:337–45.
90. Melmer A, Fineder L, Lamina C, et al. Plasma concentrations of the vitamin E-binding protein afamin are associated with overall and progression-free survival and platinum sensitivity in serous ovarian cancer — a study by the OVCAD consortium. *Gynecol Oncol* 2013;128:38–43.

91. Humphries JM, Penno MA, Weiland F, et al. Identification and validation of novel candidate protein biomarkers for the detection of human gastric cancer. *Biochim Biophys Acta* 1844;2014:1051–8.
92. Ringman JM, Schulman H, Becker C, et al. Proteomic changes in cerebrospinal fluid of presymptomatic and affected persons carrying familial Alzheimer disease mutations. *Arch Neurol* 2012;69:96–104.
93. Rosenling T, Stoop MP, Attali A, et al. Profiling and identification of cerebrospinal fluid proteins in a rat EAE model of multiple sclerosis. *J Proteome Res* 2012;11: 2048–60.
94. Song F, Poljak A, Kochan NA, et al. Plasma protein profiling of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using iTRAQ quantitative proteomics. *Proteome Sci* 2014;12:5.
95. Basaran A. Pregnancy-induced hyperlipoproteinemia: review of the literature. *Reprod Sci* 2009;16:431–7.
96. Koninger A, Edimiris P, Koch L, et al. Serum concentrations of afamin are elevated in patients with polycystic ovary syndrome. *Endocr Connect* 2014;3:120–6.
97. Seeber B, Morandell E, Lunger F, Wildt L, Dieplinger H. Afamin serum concentrations are associated with insulin resistance and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;12:88.
98. Percy AJ, Chambers AG, Yang J, Hardie DB, Borchers CH. Advances in multiplexed MRM-based protein biomarker quantitation toward clinical utility. *Biochim Biophys Acta* 1844;2014:917–26.
99. Singh U, Devaraj S, Jialal I: Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*. 2005;25:151-174
100. Ortuno J, Esteban MA, Cuesta A, Meseguer J: Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2001;79:167-180
101. Traber MG, Atkinson J: Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43:4-15.
102. Zingg JM, Azzi A: Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current Medicinal Chemistry*. 2004;11:1113-1133.
103. Tengerdy RP: Vitamin E, immune response, and disease resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1990;587:24-33.
104. Numakawa Y, Numakawa T, Matsumoto T, et al.: Vitamin E protected cultured cortical neurons from oxidative stress-induced cell death through the activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Journal of Neurochemistry*. 2006;97:1191-1202.

105. Porta EA: Dietary factors in lipofuscinogenesis and ceroidogenesis. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2002;34:319-327.
106. Baldi A: Vitamin E in dairy cows. *Livestock Production Science*. 2005;98:117-122.
107. Azzi A: Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43:16-21.
108. McDowell LR, Williams SN, Hidirolou N, et al.: Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science Technology*. 1996;60:273-296.
109. Fukui K, Omoi NO, Hayasaka T, et al.: Cognitive impairment of rats caused by oxidative stress and aging, and its prevention by vitamin E. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2002;959:275-284.
110. Niu ZY, Liu FZ, Yan L, Li WC: Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry Science*. 2009;88:2101-2107.
111. Azzi A, Ricciarelli R, Zingg JM: Non-antioxidant molecular functions of α -tocopherol (vitamin E). *FEBS Letters*. 2002;519:8-10.
112. Montero D, Tort L, Robaina L, Vergara JM, Izquierdo MS: Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*. 2001;11:473-490.
113. Zingg JM: Vitamin E: An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*. 2007;28:400-422.
114. Infante JP: A function for the vitamin E metabolite α -tocopherol quinone as an essential enzyme cofactor for the mitochondrial fatty acid desaturases. *FEBS Letters*. 1999;446:1-5.
115. Chew BP: Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. *Animal Feed Science and Technology*. 1996;59:103-114.
116. Sen CK, Khanna S, Roy S: Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences*. 2006;78:2088-2098.
117. Schwenke DC, Rudel LL, Sorci-Thomas MG, Thomas MJ: Alpha-tocopherol protects against diet-induced atherosclerosis in New Zealand white rabbits. *Journal of Lipid Research*. 2002;43:1927-1938.
118. Thomas SR, Stocker R: Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000;28:1795-1805.

119. Baldi A, Losio MN, Cheli F, et al.: Evaluation of the protective effects of α -tocopherol and retinal against ochratoxin A cytotoxicity. *British Journal of Nutrition*. 2004;91:507-512.
120. Dimri U, Sharma MC, Yamdagni A, Ranjan R, Zama MMS: Ranjan psoroptic mange infestation increases oxidative stress and decreases antioxidant status in sheep. *Veterinary Parasitology*. 2010; 168:318-322.
121. Fang YZ, Yang S, Wu G: Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002;18:872-879.
122. Gladine C, Rock E, Morand C, Bauchart D, Durand D: Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*. 2007;98:691-701.
123. Nimalaratne C, Wu J: Hen Egg as an Antioxidant Food Commodity: A Review. *Nutrients*. 2015;7(10):8274-8293.
124. Niki E: Evidence for beneficial effects of vitamin E. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2015;30(5):571 - 579.
125. Cheng K, Song ZH, Zheng XC, et al.: Effects of dietary vitamin E type on the growth performance and antioxidant capacity in cyclophosphamide immunosuppressed broilers. *Poultry Science*. 2016;Sep.24:1 -8.
126. Colitti M, Stradaioli G, Stefanon B: Effect of α -tocopherol deprivation on the involution of mammary gland in sheep. *Journal of Dairy Science*. 2000;83:345 -350.
127. Yoshimoto R, Fujita Y, Kakino A et al. The discovery of LOX-1, its ligands and clinical significance. *Cardiovasc Drugs Ther* 201;25:379-91.
128. Xu S, Ogura S, Chen J et al. LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers. *Cell Mol Life Sci* 2013;70:2859-72.
129. Navarra T, Del Turco S, Berti S, Basta G. The lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and its soluble form: cardiovascular implications. *J Atheroscler Thromb* 2010;17:317-31.
130. Walenbergh SM, Koek GH, Bieghs V, Shiri-Sverdlov R. Non-alcoholic steatohepatitis: the role of oxidized low-density lipoproteins. *J Hepatol* 2013;58:801-10.
131. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J* 2001;15:2073-84.
132. Li R, Oteiza A, Sørensen KK et al. Role of liver sinusoidal endothelial cells and stabilins in elimination of oxidized low-density lipoproteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011;300:G71-81.

133. Oteiza A, Li R, McCuskey RS, Smedsrød B, Sørensen KK. Effects of oxidized low-density lipoproteins on the hepatic microvasculature. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011;301:G684-93.
134. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340: 115-126.
135. Crawford MH, DiMarco JP. Crawford Kardiyoloji. Editör: Dursun AN, 1. Baskı, AND Yayıncılık, İstanbul, 2003; 2-14.
136. Martinez LG., Bucher L. (2005) Coronary Artery Disease and Acute Coronary Syndrome, *Medical Surgical Nursing*, Discover Books, USA. 784-785.
137. Badır A., Korkmaz FD. (2014). Koroner Arter Hastalıkları, Dahili ve Cerrahi Hastalıklarda Bakım, Üçüncü Baskı, İstanbul, Akademisyen Kitapevi. 431-445, 2014
138. ESC Klavuzları, Avrupa Klinik Uygulamada Kardiyovasküler Hastalıklardan Korunma Klavuzu. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi, 2012; 40: 126-128
139. Montalestcot G. (2014). ESC Kararlı Koroner Arter Hastalığı Yönetimi Kılavuzu. *Türk Kardiyoloji Derneği Araştırma*. 6: 96-100
140. Hasan, Mohammed Saeed Salman, et al. "Assessment of Serum Afamin and Preptin Levels as a Potential Diagnosis Markers for Cardiovascular Patients Undergoing Catheterization." *Medico Legal Update* 20.2 (2020): 479-484.
141. Moreira-Costa, Liliana, et al. "Exosome-Derived Mediators as Potential Biomarkers for Cardiovascular Diseases: A Network Approach." *Proteomes* 9.1 (2021): 8.
142. Dieplinger, H., et al. "Afamin—A novel marker for the presence and incidence of metabolic syndrome and related diseases." *Atherosclerosis* 241.1 (2015): e174.
143. Judkins, Christopher. *Protein and lipid markers of coronary artery disease*. Diss. 2017.
144. Donahue, Mark P., et al. "Discovery of proteins related to coronary artery disease using industrial-scale proteomics analysis of pooled plasma." *American heart journal* 152.3 (2006): 478-485.
145. Shin, Miji, et al. "Serum biomarker discovery related to pathogenesis in acute coronary syndrome by proteomic approach." *Bioscience reports* 41.6 (2021): BSR20210344.
146. Varga, Viktória E., et al. "Changes in serum afamin and vitamin E levels after selective LDL apheresis." *Journal of clinical apheresis* 33.5 (2018): 569-575.

147. Cavalca, V., et al. "Glutathione, vitamin E and oxidative stress in coronary artery disease: relevance of age and gender." *European Journal of Clinical Investigation* 39.4 (2009): 267-272.
148. Spencer, Anne P., Deborah Stier Carson, and Michael A. Crouch. "Vitamin E and coronary artery disease." *Archives of internal medicine* 159.12 (1999): 1313-1320.
149. Hodis, Howard N., et al. "Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis." *Jama* 273.23 (1995): 1849-1854.
150. Regnström, J., et al. "Inverse relation between the concentration of low-density-lipoprotein vitamin E and severity of coronary artery disease." *The American journal of clinical nutrition* 63.3 (1996): 377-385.
151. Sozen, Erdi, Tugce Demirel, and Nesrin Kartal Ozer. "Vitamin E: Regulatory role in the cardiovascular system." *Iubmb Life* 71.4 (2019): 507-515.
152. Loffredo, L., et al. "Supplementation with vitamin E alone is associated with reduced myocardial infarction: a meta-analysis." *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 25.4 (2015): 354-363.
153. Shah, Sunil, et al. "A Systematic Review of Effects of Vitamin E on the Cardiovascular System." *Cureus* 13.6 (2021).