

**T.C**

**RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KORONER ARTER HASTALIĞINI VE ŞİDDETİNİ  
DEĞERLENDİRMEDE ERİTROSİT ZAR KOLESTEROL  
MİKTARININ ÖNEMİ**

**ESRA PINARBAŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. HÜSEYİN AVNİ UYDU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**RİZE-2017**

**Her Hakkı Saklıdır**

T.C

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KORONER ARTER HASTALIĞINI VE ŞİDDETİNİ DEĞERLENDİRMEDE  
ERİTROSİT ZAR KOLESTEROL MİKTARININ ÖNEMİ**

Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU danışmanlığında, Esra PINARBAŞ tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 04/07/2017 tarihinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**Unvanı Adı Soyadı**

**İmzası**

Başkan : Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Üye : Doç. Dr. Ömer ŞATIROĞLU

Üye : Yar. Doç. Dr. Sermet YILDIRMIŞ

Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada her konuda bana yardımcı olmaya çalışan, bilgi ve deneyimlerini aktaran tez danışmanım Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU başta olmak üzere, anabilim dalımızın diğer öğretim üyeleri Doç. Dr. Adnan YILMAZ ve yüksek lisans eğitimim süresinde vefat eden değerli hocam Prof. Dr. Hasan EFE' ye,

Doç. Dr. Ömer ŞATIROĞLU başta olmak üzere Kardiyoloji ABD öğretim üyelerine,

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda destek olan Tıbbi Biyoloji ABD öğretim üyesi Yar. Doç. Dr. Hatice SEVİM NALKIRAN' a,

Tez çalışmamın hem deney aşamasında hem de yazım aşamasında bana büyük katkıları olan Uzman Mehtap ATAK' a,

Tezimin düzenlenmesinde yardımını esirgemeyen Uzman Sibel KARAKAŞ' a,  
Mesai arkadaşlarıma,

Akademik hayatıma attığım ilk adımdan itibaren her zorlukta yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem Rabia PINARBAŞ ve babam Avni PINARBAŞ' a, kardeşlerim Ali Emre PINARBAŞ, Tuğba PINARBAŞ ve Muhammed Ali PINARBAŞ' a en içten dileklerle teşekkür ederim.

**Arş. Gör. Esra PINARBAŞ**

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan ‘Koroner Arter Hastalığını ve Şiddetini değerlendirmede Eritrosit Zar Kolesterol Miktarının Önemi’ başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.

04/07/2017



Esra PINARBAŞ

**Uyarı:** Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### KORONER ARTER HASTALIĞINI VE ŞİDDETİNİ BELİRLEMEDE ERİTROSİT ZAR KOLESTEROL MİKTARININ ÖNEMİ

ESRA PINARBAŞ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
Danışmanı: Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Ateroskleroz belli bir genetik altyapı ve potansiyel riske sahip kişilerde çevresel risk faktörlerinin de etkisiyle ortaya çıkan en önemli mortalite ve morbitide nedenidir. Ateroskleroz etyolojisini açıklamada ileri sürülen hipotezlerden en çok kabul göreni lipit hipotezi, özellikle hiperkolesterolemidir. Aterosklerotik plak yapısını oluşturan kolesterol daha çok hücre zarında bulunan serbest kolesterol formudur ve bu serbest kolesterolün eritrositlerden köken aldığı ileri sürülmektedir. Bu çalışmada da koroner arter hastalığı (KAH) gösterilmesi ve hastalığın şiddetini tıkalı damar sayısı üzerinden ortaya konmasında eritrosit membran kolesterol (EMK) miktarının katkısının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma grupları; herhangi bir anjiyografik bulgusu olmayan anjiyo kontrol (n=81) grubu, 1 damarı tıkalı (n=47), 2 damarı tıkalı (n=71) ve 3 damarı tıkalı olan (n=44) gruplar ile hasta gruplarıyla benzer demografik özellikler taşıyan sağlıklı kontrol grubundan (n=49) oluşturulmuştur. Bütün çalışma gruplarında rutin lipit profilleri (TAG, TK, LDL, HDL) ve hsCRP değeri otoanalizörde çalışıldı. EMK değeri ise eritrositlerden Folch ve Stanley metoduna göre yapılan ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktlarda kolesterol oksidaz metoduna göre belirlendi. Sağlıklı kontrol grubuna göre toplam hasta grubunda, anjiyo kontrol, 1 ve > 1 damar tıkalı gruplarında EMK değeri daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Ancak EMK düzeyleri hasta alt gruplar arasında anlamlı bir değişim göstermedi ( $p>0.05$ ). TAG ve hsCRP değerleri ise sağlıklı kontrol grubuna göre toplam hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak EMK düzeylerinin anjiyografik bulgulardan bağımsız olarak sağlıklı kontrol grubuna göre bütün hasta gruplarında daha yüksek olduğu gözlenmiştir. EMK düzeylerinin hastalığın şiddeti hakkında yeterli kullanım potansiyeline sahip olmamasına rağmen, KAH gösterilmesinde hsCRP'ye alternatif güçlü bir marker olabileceği düşünülmektedir.

2017, 67 sayfa

**Anahtar kelimeler:** Eritrosit zar kolesterolü, Ateroskleroz, C-Reaktif Protein

## ABSTRACT

### THE IMPORTANCE OF ERYTHROCYTE MEMBRANE CHOLESTEROL AMOUNT IN DETERMINING CORONARY ARTERY DISEASE AND SEVERITY

ESRA PINARBAŞ

Recep Tayyip Erdoğan University  
Graduate School of Health Sciences  
Department of Medical Biochemistry  
Master's Thesis  
Supervisor: Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Atherosclerosis is the most important cause of mortality and morbidity arise due to the effect of environmental risk factors for individuals who have certain genetic pattern and potential risks for atherosclerosis. Lipid hypothesis, in particular hypercholesterolemia, is the most widely accepted hypothesis among the other hypotheses proposed to explain the etiology of atherosclerosis. The cholesterol that forms atherosclerotic plaque structure is essentially the free form of cholesterol present in cell membrane and this form of cholesterol is theorized to originate from the erythrocytes. This study aims to determine the contribution of the amount of the erythrocyte membrane cholesterol (EMC) in defining the severity of the disease in correlation with the number of clogged arteries in patients with coronary artery disease (CAD). An angio control group consist of individuals without angiographic findings (n=81) and group of patients with one (n=47), two (n=71) and three (n=44) clogged arteries and also a healthy control group with similar demographic characteristics were included in this study. Lipid profiles (TAG, TC, LDL, HDL) and hsCRP levels were examined using auto-analyzer. EMC levels were measured according to the cholesterol oxidase methodology in extracts collected using Folch and Stanley method for lipid extraction from erythrocytes. EMC levels were found to be significantly elevated in total patient group, angio control group, one clogged artery and more than one clogged arteries groups compared to healthy control group ( $p<0.05$ ). However, EMC levels did not show a significant difference between patient sub-groups ( $p>0.05$ ). TAG and hsCRP levels were detected to be considerably higher in total patient group compared to healthy control group ( $p<0.05$ ). It is concluded that EMC levels were observed to be elevated in all patient groups independent of angiographic findings compared to healthy control group. Although it is considered that EMC levels might not have a high potential to discriminate between the severity levels of the disease, it could be a powerful diagnostic marker as an alternative to hsCRP in diagnosis of KAH.

**2017, 67 page**

**Keywords:** Erythrocyte membrane cholesterol, atherosclerosis, C reactive protein

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT .....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş .....	1
1.2. Biyolojik Membranların Yapısı ve Fonksiyonları.....	3
1.2.1. Hücre Membranında Yer Alan Lipitler .....	4
1.2.1.1. Fosfolipitler .....	5
1.2.1.2. Glikolipitler .....	6
1.2.1.3. Kolesterol .....	7
1.2.2. Hücre Membranında Yer Alan Proteinler .....	7
1.2.3. Hücre Membranında Yer Alan Karbohidratlar.....	9
1.2.4. Eritrositlerin Yapısı Ve Fonksiyonu.....	10
1.2.5. Eritrositlerin Membran Yapısı.....	10
1.3. Ateroskleroz ve Patogenezi .....	12
1.3.1. Normal Arter Duvarı .....	13
1.3.2. Aterogeneizde Rol Alan Hücreler .....	14
1.3.2.1. Endotel hücresi .....	14
1.3.2.2. Düz Kas Hücreleri .....	14

1.3.2.3.	Makrofajlar .....	15
1.3.2.4.	Trombositler .....	15
1.3.2.5.	T-Lenfositleri.....	15
1.3.3.	Aterogeneizde Temel basamaklar.....	16
1.3.3.1.	Endotel Disfonksiyonu .....	16
1.3.3.2.	LDL'nin Oksidasyonu .....	17
1.3.3.3.	Köpük Hücre Oluşumu.....	17
1.3.3.4.	Lipit Çekirdeğinin Oluşumu.....	18
1.3.3.5.	Fibröz Başlık Oluşumu.....	18
1.3.3.6.	İmmun Mekanizmalar .....	18
1.3.3.7.	Plak Vaskülarizasyonu.....	18
1.4.	Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri.....	20
1.4.1.	Lipoproteinlerin Aterosklerozla İlişkisi .....	20
1.4.1.1.	Şilomikronlar.....	21
1.4.1.2.	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (VLDL).....	21
1.4.1.3.	Ara Yoğunluklu Lipoprotein (IDL).....	22
1.4.1.4.	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) .....	22
1.4.1.5.	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL).....	23
1.4.1.6.	Lipoprotein a .....	24
1.4.2.	Eritrositlerin Aterosklerozla İlişkisi .....	25
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	26
2.1.	Kullanılan Cihazlar.....	26
2.2.	Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar .....	27
2.3.	Çalışma Örneklerinin Toplanması.....	29
2.3.1.	Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	29
2.4.	Eritrosit Kolesterolünün Tayini.....	29
2.4.1.	Eritrosit Süspansiyonunun Oluşturulması ve Eritrosit Zarının Eldesi .....	29



2.4.2.	Eritrosit Zarından Lipit Ekstraktının Eldesi .....	29
2.4.3.	Lipit Ekstraktlarından Kolesterol Tayini Yapılması .....	30
2.4.4.	Eritrosit Zarı Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	31
2.5.	İstatistiksel Analiz .....	33
3.	BULGULAR .....	34
4.	TARTIŞMA.....	43
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	47
KAYNAKLAR.....		48
EKLER.....		53
ÖZGEÇMİŞ.....		54

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Hücre membranının akışkan mozaik modeli .....	4
Şekil 2.	Hücre membranında yer alan lipitler.....	4
Şekil 3.	Fosfolipitlerin yapıları.....	6
Şekil 4.	Kolesterolün yapısı ve membrandaki yerleşimi.....	7
Şekil 5.	Hücre membranında yer alan proteinler.....	9
Şekil 6.	Hücre membranında yer alan glikolipitler .....	10
Şekil 7.	Eritrosit membranında yer alan fosfogliseritler .....	11
Şekil 8.	Eritrosit membranında yer alan proteinler ve yerleşim yerleri .....	12
Şekil 9.	Normal arter duvarının yapısı .....	14
Şekil 10.	Aterogenezde yer alan hücreler ve etkileri.....	16
Şekil 11.	Aterogenezin temel basamakları .....	19
Şekil 12.	Şilomikronun yapısı .....	21
Şekil 13.	VLDL yapısı .....	22
Şekil 14.	LDL yapısı .....	23
Şekil 15.	HDL yapısı.....	24
Şekil 16.	Lp (a) yapısı .....	24
Şekil 17.	Kolesterol oksidaz metodu.....	30
Şekil 18.	Protein standart grafiği.....	32
Şekil 19.	Sağlıklı kontrol ve toplam hasta grubunun ölçülen parametrelerin grafiği.....	36
Şekil 20.	Sağlıklı kontrol, anjiyo kontrol, tek damar ve çok damar tıkalı grupların ölçülen parametrelerin grafiği .....	38
Şekil 21.	Sağlıklı kontrol ve tıkalı damar sayısına göre oluşturulan grupların ölçülen parametrelerinin grafiği.....	40
Şekil 22.	EMK ve hsCRP değerlerinin ROC grafiği.....	41
Şekil 23.	Hasta gruplarının EMK/hsCRP değerlerinin korelasyon grafikleri.....	42

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	İnsan plazma lipoproteinlerinin kimyasal kompozisyonu (%).....	20
<b>Tablo 2.</b>	Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları.....	26
<b>Tablo 3.</b>	Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar ve firmaları .....	27
<b>Tablo 4.</b>	Tez çalışmasında kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları .....	28
<b>Tablo 5.</b>	Protein için pipetleme miktarları .....	32
<b>Tablo 6.</b>	Sağlıklı kontrol ve toplam hasta grubunun demografik özellikleri .....	35
<b>Tablo 7.</b>	Sağlıklı kontrol ve toplam hasta grubunun ölçülen parametrelerinin değerleri	35
<b>Tablo 8.</b>	Sağlıklı kontrol, anjiyo kontrol, tek damar ve çok damar tıkalı gruplarının demografik özellikleri.....	36
<b>Tablo 9.</b>	Sağlıklı kontrol, anjiyo kontrol, tek damar ve çok damar tıkalı grupların ölçülen parametrelerin değerleri.....	37
<b>Tablo 10.</b>	Sağlıklı kontrol ve tıkalı damar sayısına göre oluşturulan grupların demografik özellikleri .....	39
<b>Tablo 11.</b>	Sağlıklı kontrol ve tıkalı damar sayısına göre oluşturulan grupların ölçülen parametre değerleri .....	40

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>BMI</b>	:	Vücut kitle indeksi
<b>BSA</b>	:	Albümin standartı (bovin serum albumin)
<b>CETP</b>	:	Kolesterol ester transfer proteini
<b>EMK</b>	:	Eritrosit Membran Kolesterolü
<b>FE</b>	:	Fosfatidiletanolamin
<b>FI</b>	:	Fosfatidilinositol
<b>FK</b>	:	Fosfatidilkolin
<b>FS</b>	:	Fosfatidilserin
<b>Gh-K</b>	:	Ghost Kolesterolü
<b>Ghost</b>	:	Eritrosit zarı
<b>HDL</b>	:	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
<b>HDL-K</b>	:	Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü
<b>hsCRP</b>	:	Yüksek duyarlı C- Reaktif Protein
<b>IDL</b>	:	Orta yoğunluklu lipoprotein
<b>KAH</b>	:	Koroner Arter Hastalığı
<b>LCAT</b>	:	Lesitin kolesterol açıl transferaz
<b>LDL</b>	:	Düksek yoğunluklu lipoprotein
<b>LDL-K</b>	:	Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü
<b>Lp (a)</b>	:	Lipoprotein a
<b>N<sub>2</sub></b>	:	Azot gazı

- NO** : Nitrik Oksit
- PBS** : Fosfat-tuz tamponu
- PLTP** : Fosfolipit Transfer proteini
- SM** : Sifingomiyelin
- TAG** : Triaçilgliserol
- TK** : Total Kolesterol
- VLDL** : Çok düşük yoğunluklu lipoprotein



## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Erişkinlerde en önemli mortalite ve morbitide nedeni olan ateroskleroz, belli bir genetik altyapı ve riske sahip kişilerde çevresel risk faktörlerinin de etkisiyle ortaya çıkar. Bütün orta boy ve küçük arterleri tutabilen ateroskleroz, çocukluk yaşlarından itibaren başlar ancak erken dönemde damar lümenini tıkamadığı için bulgu vermez. Klinik bulgular erkekte 40, kadında 50'li yaşlarından sonra aterosklerotik plağın iyice gelişip komplike olmasıyla ortaya çıkar (Dursunoğlu vd., 2004). Aterosklerozda rol oynayan risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörleri olarak ikiye ayrılır. Değiştirilebilir risk faktörleri; hiperkolesterolemi, hipertansiyon, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), lipoprotein (a), hipertrigliseridemi, diyabet, sigara içilmesi, obezite ve yaşlanma, değiştirilemez risk faktörleri ise; aile öyküsü, yaş ve cinsiyet (Çobanoğlu, 2011).

Türkiye'de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) verilerine göre ülkemizde koroner arter hastalığı (KAH) prevalansı 45-54 yaş grubunda %6 iken, 55-64 yaş grubunda %17 civarında, 65 yaş ve üzerindeki bireylerde %28 düzeyindedir. Bu prevalanslar 1990 yılındakilere göre 50 yaş üstü kişilerde %80 oranında artmıştır. Ülkemizde yine TEKHARF çalışmasının verilerine göre tüm ölümlerin %42'si koroner kalp hastalığına, %10'u da serebrovasküler hastalıklara bağlıdır (Onat, 2009). Bu verilere baktığımızda aterosklerozdan kaynaklanan ölümler, tüm ölümlerin yarısından sorumlu gibi gözükmektedir.

Ateroskleroz patogenezi açıklamaya yönelik çeşitli hipotezler bulunmaktadır. Bunlar; zedelenmeye yanıt hipotezi, tutulmaya yanıt hipotezi ve oksidatif modifikasyon hipotezi (Çobanoğlu, 2011). Ancak yakın bir zamanda Kolodgie ve arkadaşları eritrositten köken alan serbest kolesterolün aterosklerotik plak oluşumuna katkısı üzerine odaklanan çalışmalar yapmışlar ve bu çalışmalarda eritrosit membranlarında bulunan kolesterolün dolaşımdaki kolesterolü yansıttığı için akut iskemik olaylarda bağımsız bir risk faktörü olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yaptığımız çalışma ile koroner arter hastalığını ve şiddetini değerlendirmede eritrosit Membran kolesterol (EMK) miktarının öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda her bir çalışma grubunda EMK miktarı analiz edilecek ve belirlenen EMK miktarı gruplar arasında karşılaştırılacaktır. Bu bulgular ışığında da EMK miktarının, koroner arter hastalığını ve hastalığın şiddetini belirlemede bir parametre olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlenmesi hedeflenmektedir.



## 1.2. Biyolojik Membranların Yapısı ve Fonksiyonları

Hücre, yaşamın temelini oluşturan, protein, lipit ve karbohidrat moleküllerinden oluşmuş bir membran ile çevrilmiştir (Onat, 2006). Hücre membranı seçici geçirgen bir yapıdır; hücreyi sararak dış ortamlarından ayırır, hücreye yapısal ve mekanik bütünlük sağlar. Hücre membranının %50-60'ı proteinden, %40-50'si lipitten ve çok az miktarda karbohidrattan oluşmuştur. Membranın protein: lipit oranı 1'dir ve bu oran membranın bulunduğu yer ve tipine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin; sinir liflerini saran miyelin kılıfta %18 protein ve %76 lipit, eritrosit membranında ise protein (%43) ve lipit (%44) içerikleri yaklaşık olarak birbirine eşittir (Gürdol, 2015). Genel olarak membranların fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir:

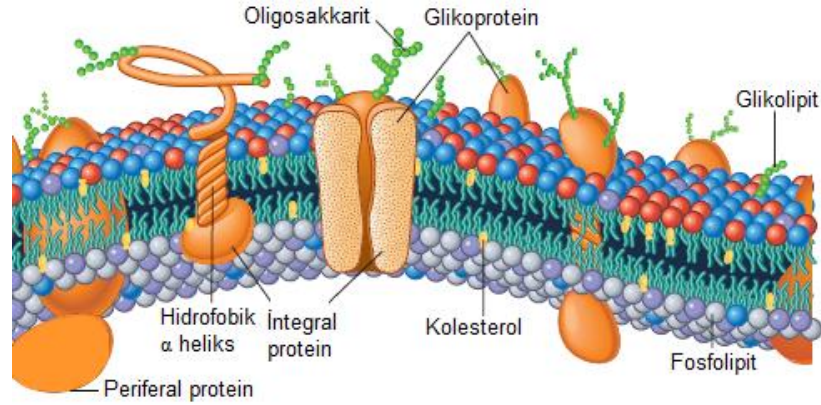
1. Hücrenin veya çevrelediği organelin bütünlüğünü sağlar,
2. Hücrenin iç ortamını düzenler,
3. Çeşitli maddelerin hücre içine veya dışına taşınmasını sağlar,
4. Dışardan gelen uyarıların alınmasında etkin rol oynar,
5. Hücrel tepkimeleri katalizleyen enzimleri bulundurur,
6. Hücreler arasında bağlantı oluşturur,
7. Hücrelerin ve organelerin tanınabilmesini sağlar (Akay, 2007 ).

Membranda bulunan lipitler ve proteinler, membrana 1972 yılında Singer ve Nicolson tarafından *akışkan mozaik modeli* olarak tanımlanan zar modeline göre yerleşmektedir. Hücre membranının akışkan mozaik modeli Şekil 1' de gösterilmiştir. Bu modelin başlıca özellikleri şunlardır:

1. Membranların çoğunda glikolipitler ve fosfolipitler ikili tabaka hâindedir. Bu tabakanın iki görevi vardır; a) proteinler için bir çözücüdür, b) geçirgenlik engelidir.
2. Membranda bulunan lipitlerin az bir kısmı membran proteinleri ile etkileşir, belki de onların aktiviteleri için gereklidir.
3. Membranda bulunan proteinler membran düzleminde yana doğru (lateral) difüze olabilir. Fakat membranın bir yüzeyinden diğerine dönmezler, yani, takla hareketi (flip-flop hareketi) yapamazlar (Keha ve Küfrevioğlu, 2007).

Membranda bulunan karbohidratlar ise lipit tabakanın yüzeyindeki protein ve lipitlere bağlanırlar (Gürdol, 2015).

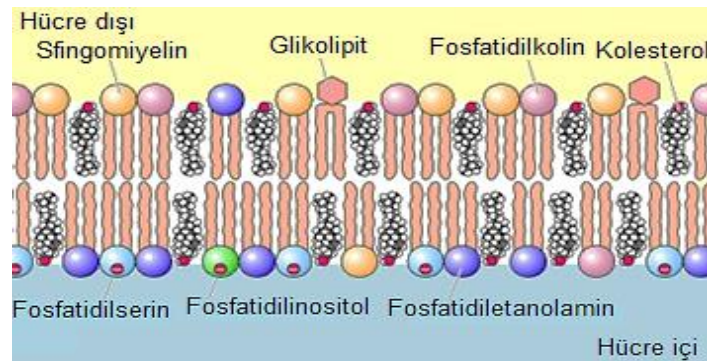




**Şekil 1.** Hücre membranının akışkan mozaik modeli (Karp, 2006)

### 1.2.1. Hücre Membranında Yer Alan Lipitler

Biyolojik membranların temel yapısı, fosfolipitlerden, glikolipitlerden ve kolesterolden oluşur. Membranlarda bulunan lipit bileşenlerinin %69-75'i fosfolipit, %20-26'sı kolesterol ve %4'ü diğer lipitlerdir. Membranda bulunan bu bileşiklerin miktarı hücreden hücreye, alınan diyet ve çevre faktörlerine bağlı olarak değişir (Uydu, 2001). Amfipatik moleküller olan fosfolipitler ve glikolipitler lipit çift tabakanın çatısını oluşturur. Kolesterol, çift tabaka oluşumuna katılmaz, membran akışkanlığının düzenlenmesinde rol alır (Gürdol, 2015). Şekil 2' de hücre membranında yer alan lipitler gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Hücre membranında yer alan lipitler (Cooper, 2000)

### 1.2.1.1. Fosfolipitler

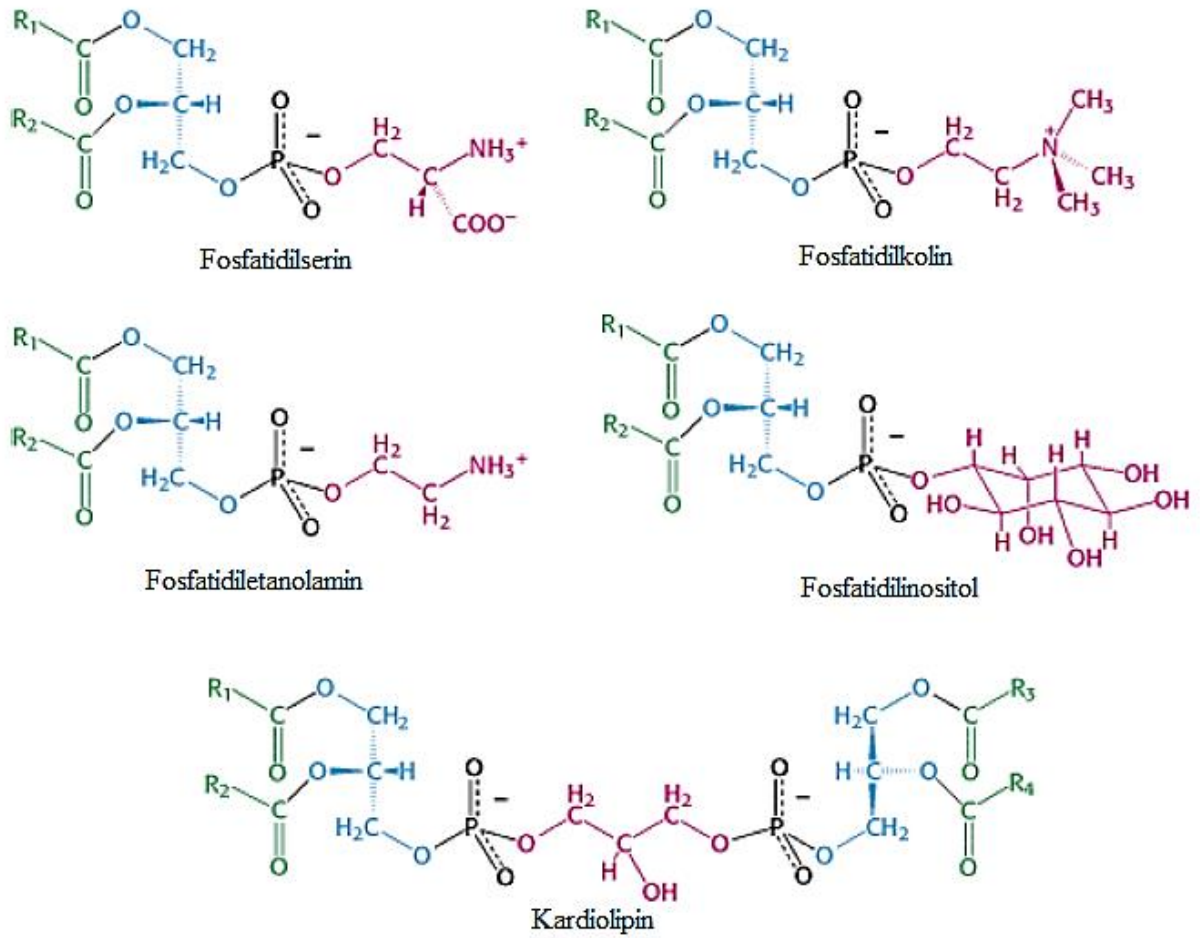
Gliserol ve sfingozin alkollerinden türetilmişlerdir. Gliserolden türetilen fosfolipitlere fosfogliserit, sfingozinden türetilenlere ise sfingomiyelin denir. Hücresel membranlarda bulunan en önemli bileşiklerinden olan fosfolipitler salgı bezlerinde, kan plazmasında, yumurta sarısında ve baklagillerin tohumlarında yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Eritrosit membran lipitlerinin yaklaşık %40'ını oluştururken, mitokondri iç membranının %95'ten fazlasını oluşturur.

Fosfogliserit temel yapıyı oluşturan fosfatidik asit, gliserolün iki alkol grubunun birer yağ asidi ve son alkol grubunun ise bir fosforik asit ile esterleşmesi sonucu oluşur. Fosfatidik asidin fosforu, çeşitli alkol grupları ile esterleşerek değişik türlerde fosfogliseritleri oluşturur. En polar lipitler olan fosfogliseritler, hidrofilik ve hidrofobik grupları birlikte taşıdıkları için amfipatiklerdir. Negatif ve pozitif yüklü grupları birlikte taşıdıkları için ise amfoteriktirler. Başlıca fosfogliseritler; fosfatidilkolin (FK), fosfatidiletanolamin (FE), fosfatidilserin (FS), fosfatidilinositol (FI) ve kardiyolipindir. Şekil 3' de fosfolipitlerin yapıları gösterilmiştir.

- a) FK (lesitin), fosfatidik asidin fosfat grubu ile kolinin esterleşmesi sonucu oluşan lesitin, hücre membranında en çok bulunan fosfolipittir. Sinir uyarılarının iletilmesinde rol oynayan lesitin, labil metil grubu vericisi olarak görev yapan kolinin vücuttaki depo şeklidir. Akciğer alveollerinde surfaktant (yüzey aktif bileşik) fonksiyonunun en önemli bileşenidir.
- b) FE (kefalin), yapısı lesitine benzeyen fosfatidiletanolaminde, kolin yerine bir amino alkol olan etanolamin yapıya katılır. FK'dan sonra membranda en fazla bulunan fosfogliserittir.
- c) FS, yapısında serin amino asidi vardır. Eritrosit membran lipidinin başlıca bileşenidir.
- d) FI, yapısında stearik asit ve araşidonik asit bulunur.
- e) Kardiolipin, fosfatidik asit moleküllerinin gliserol ile kondensasyon ürünüdür. En kompleks fosfolipittir. Mitokondri iç membranında bol bulunur.

Sfingomiyelinler, gliserol yerine doymamış bir alkol olan 18 karbonlu sfingozin içermektedirler. Sfingozin amino grubunun bir yağ asidi ile amid bağı yapması sonucu

seramid oluşmaktadır. Sfingozinin primer alkol grubu, fosfokolinle ester bağı yapmaktadır. Özellikle beyin ve sinir dokusunda bulunmaktadır (Onat vd., 2006).



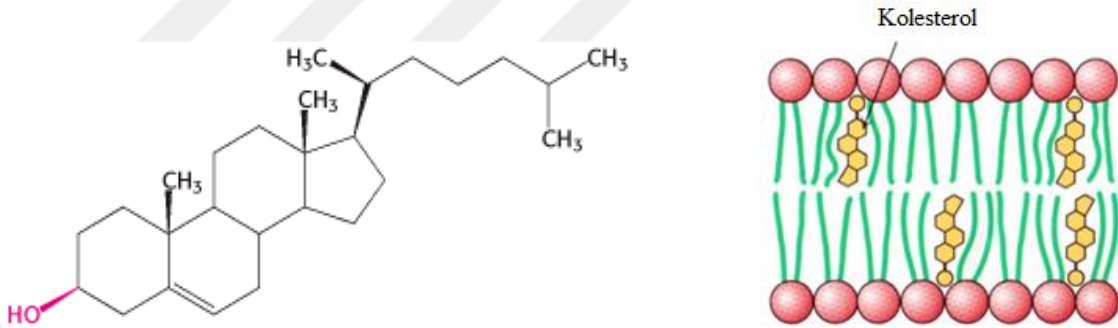
Şekil 3. Fosfolipitlerin yapıları (Stryer vd., 2012)

### 1.2.1.2. Glikolipitler

Karbohidrat grubu içeren lipitlerdir. Glikolipit de sfingomiyelin gibi seramiden türemiştir. Primer hidroksil grubu fosforilli kolin yerine bir veya daha fazla sayıda monosakkarit ile birleşmiş durumdadır. En basit glikolipitler, yalnız bir tek glukoz ve galaktoz molekülü ile bağlanmış bileşiklerdir ve bunlara serebrositler adı verilir. Bu moleküllerde karbohidrat grubu dallanmış veya dallanmamış bir oligosakkarit zinciri de olabilir. Bu yapıdaki glikolipitlere globositler denilmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

### 1.2.1.3. Kolesterol

Kolesterol 27 karbonlu siklopentanoperhidrofenantren halkasından oluşmuş bir steroid türevidir. 3 nolu karbona bağlı hidroksil grubu polar özelliğinden, geriye kalan stearan halkası ve hidrokarbon zinciri ise apolar özelliğinden sorumludur. Kolesterolün suda çözünürlüğü çok düşüktür. Plazmada total kolesterolün  $\frac{3}{4}$ 'ü ester,  $\frac{1}{4}$ 'ü serbest şekilde bulunur. Membranlarda çoğu serbest kolesterol şeklindedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2005; Gürdol, 2015). Kolesterol, membranların yapısında bulunan ve membranın akışkanlık özelliğini düzenleyen bir bileşiktir. İki komşu hidrokarbon zinciri arasına girerek membran akışkanlığını azaltır. Yüksek kolesterol konsantrasyonlarında membran akışkanlığı azalır ve rijiditesi artar. Kolesterol, lipid çift tabakaya kovalent bağlarla tutunmadığından plazma membranından içeriye ve dışarıya hareket edebilir. Bu özelliği ile kolesterol plazma lipoproteinlerine ya da lipoproteinlerden membrana aktarılabilen ve membrandaki fosfolipit:kolesterol oranı bir dereceye kadar sabit tutulabilmektedir (Gürdol, 2015). Şekil 4'te kolesterolün yapısı ve membrandaki yerleşimi gösterilmiştir.



Şekil 4. Kolesterolün yapısı ve membrandaki yerleşimi (Stryer vd., 2012)

### 1.2.2. Hücre Membranında Yer Alan Proteinler

Membranların lipidlerle birlikte diğer önemli bileşeni proteinlerdir. Farklı hücre membranlarında %25-75 arasında değişen oranda bulunmaktadır (Onat vd., 2006). Membran yapısını lipidler belirlerken, spesifik işlevlerin yerine getirilmesini ise proteinler sağlamaktadır. Lipit ikili tabakasının içine dağılmış olarak bulunur ve fosfolipitler gibi amfipatik moleküller olan bu proteinlerin hidrofobik kısımları, hücrenin dışına ve içine

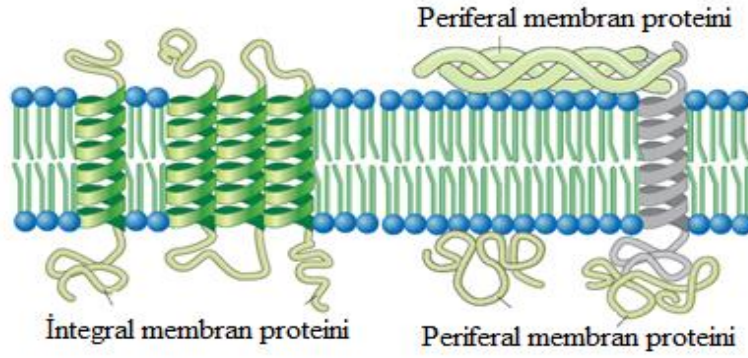
doğru uzanmıştır (Onat, 2006). Membran proteinlerinin büyük kısmını enzimler, kalanını iyon kanalları, taşıyıcı proteinler, yapısal proteinler ve reseptörler oluşturur.

Farklı tipteki hücrelerde bulunan membran proteinleri farklı görevlere sahiptir. Örneğin bağırsak epitel hücresi membranındaki proteinler glikoliz ve amino asitlein taşınmasıyla, lenfosit membranındaki proteinler yabancı molekülleri tanımakla görevlidir (Grdl, 2015). Membranların tür ve fonksiyonlarına göre protein miktarlarında da farklılık olur. Örneğin mitokondri ve kloroplastların i membranlarında protein miktarları %75 iken bazı sinir liflerinin etrafında yalıtkanlık vazifesi gören miyelin kılıfında ise %18'dir. Membranlarda bulunan protein eşitleri de farklılık gzterir. Genel olarak 20-30 farklı sayıda protein olmakla beraber, bazı özelleşmiş membranlarda bu sayı 1-2 arasındadır. Mesela retina hücre membranında sadece rodopsin bulunurken, eritrosit membranlarında 20 çeşit protein bulunur (Toker, 2000).

Membrandaki yerleşim yerine göre proteinler integral ve periferel membran proteinleri olarak iki gruba ayrılır. Şekil 5' te membran yapısındaki proteinler gösterilmiştir.

İntegral membran proteinleri, membran proteinlerinin %70'ini oluşturur. Lipit ift tabakaya hidrofobik etkileşimlerle sıkıca bağlanmış haldedir. Bu proteinler *transmembran proteinler* de denilir, membranın bir tarafından diğerine geçecek Şekilde yerleşmişlerdir. Bazı transmembran proteinler membranı bir defada geçerken bazılarında birden çok sayıda geçen bölgeler bulunur. İntegral membran proteinlerini membrandan ayırmak için deterjan, organik çözücüler veya denatüre edici ajanlarla parçalamak gerekir.

Periferel membran proteinleri, membran proteinlerinin %30'unu oluşturur. Genellikle membrana integral proteinler ya da lipitlerin polar grupları aracılığıyla tutunur. Bu tutunma iyonik etkileşimlerle gerçekleşir. Ortam pH'mın veya iyonik Őiddetin değişmesiyle bu proteinler membrandan kolayca ayrılır. (Grdl, 2015).



Şekil 5. Hücre membranında yer alan proteinler (Karp, 2006)

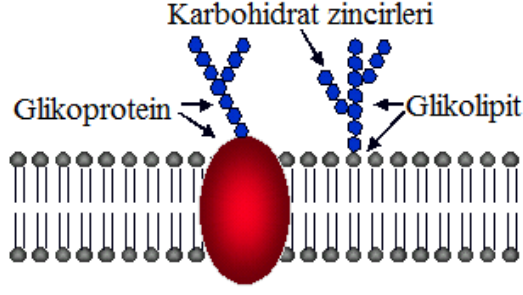
### 1.2.3. Hücre Membranında Yer Alan Karbohidratlar

Hücre zarında, karbohidratlar ile bağlı proteinlere glikoprotein, lipitlere ise glikolipit denir. İkisi birlikte glikokaliksi oluştururlar. Glikokaliks, membranın dış yüzeyindeki karbohidratça zengin kısımdır, az miktarda başka maddeleri ve enzimleri içerir. Aslında yüzeyi kaplayıcı bir tabaka olmayıp, kesintili ve zarın bir parçası halindedir.

Glikoproteinler, protein moleküllerine oligosakkarit ve polisakkaritlerin kovalent bağlanması ile oluşurlar. Glikolizasyon adını alan glikoprotein sentezi endoplazmik retikulumda başlar, golgide devam eder ve oluşan glikolipitler hücre zarına taşınır. Glikoproteinler hücreye antijen özelliği kazandırır. Böylece glikokaliks hücrelerin moleküler düzeyde birbirini tanımasını ve etkileşimini sağlar. Örneğin, eritrosit zarında bir glikoprotein olan mukopolisakkaritler antijen özelliği göstererek kan gruplarının belirlenmesini sağlar.

Glikolipitler, şekerlerin lipitlere kovalent bağlanmasıyla oluşur. Sentezi glikoproteinler gibi endoplazmik retikulumda başlar ve golgide sona erer. Glikolipitlerin çeşidi golgide seramide bağlanan şeker sayısı ve tipine göre değişkenlik gösterir. Dolayısıyla hücrede farklı glikolipitler meydana gelir. Golgide olgunlaşan glikolipitler integral zar proteini halinde hücre zar sistemine katılır ve glikokaliks oluşumunda görev alır (Başaran, 2005). Şekil 6' da membranda yer alan glikolipitler gösterilmiştir.





**Şekil 6.** Hücre membranında yer alan glikolipitler (URL-1, 2017)

#### 1.2.4. Eritrositlerin Yapısı Ve Fonksiyonu

Kan, %55'i plazma deneni ekstraselüler bir sıvı ve %45'i özelleşmiş hücrelerden oluşan yaşamsal sıvıdır. Plazma ve hücreler (eritrositler, lökositler ve trombositler) farklı yoğunluklara sahiptir. Bu yüzden santrifügasyonla birbirlerinden ayrılabilirler. Santrifüj sonrası en alttaki tabakada eritrositler yer alır (Uydu, 2001).

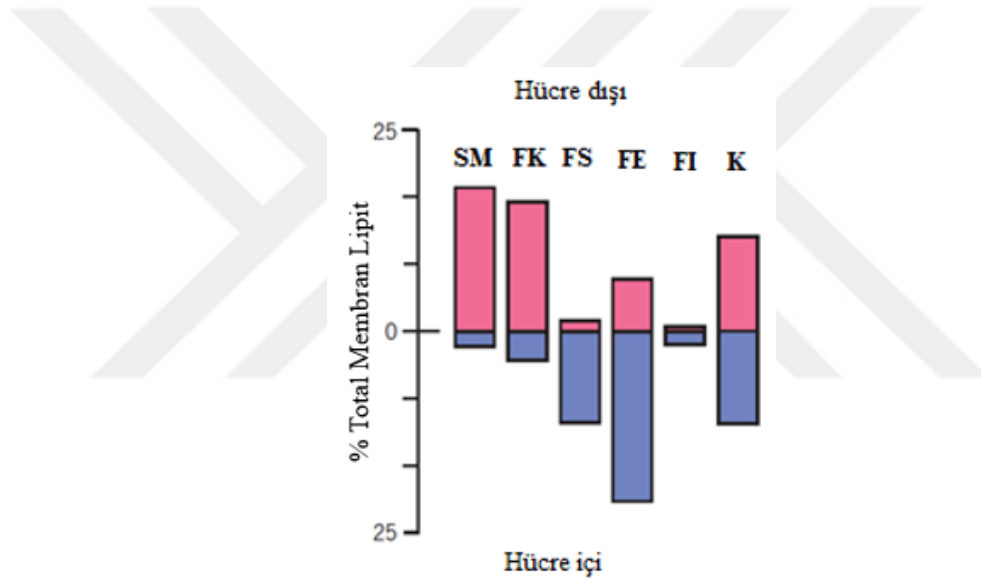
Eritrositler, çekirdeksiz, bikonkav disk şeklinde ve yarı ömrü 100-120 gün olan hücrelerdir. Çapı 6-9  $\mu\text{m}$ , kalınlığı merkezde 1  $\mu\text{m}$ , kenarlarda 2-2.5  $\mu\text{m}$  kadardır. En önemli katyonları potasyum, sodyum, kalsiyum ve magnezyumdur. Önemli anyonları ise klorür ve bikarbonattır. Ayrıca inorganik fosfor ve 2,3-bisfosfoglisarat da diğer önemli moleküllerdir (Onat vd., 2006). İnsan kanının 1  $\text{mm}^3$ 'ünde yaklaşık 4.5-5.5 milyon eritrosit bulunur. Sentezi, fetüste sacculus vitellinustaki kan adacıklarında, fetal hayatın 3.-5. aylarında karaciğer ve dalakta, 5. aydan itibaren kemik iliği tarafından yapılmaya başlanır ve hayat boyunca kemik iliği alyuvar yapımına devam eder (Noyan, 2010). Yaşam sürelerini tamamlayan eritrositler, retikuloendotelial sistem (RES) tarafından dolaşımdan alınarak parçalanmaktadır (Onat, 2006).

#### 1.2.5. Eritrositlerin Membran Yapısı

Eritrosit membranı 100-600 Å kalınlığında, kimyasal olarak birbirinden farklı 100-150 çeşit lipit ve 20 kadar farklı proteinden meydana gelmiştir. Eritrositler buldukları ortamın osmotik basıncına karşı çok duyarlı olduklarından şişerek veya büzülerek osmometre gibi davranırlar. Hipotonik ortamda şişer ve membran yapısı parçalanır. İçindekilerin çıkmasıyla çözünür olmayan, membran iskeleti (sitoskeleton) yapının ikili lipit

tabakasıyla bütünleştiği hayalet (ghost) şekli meydana gelir. Eritrosit membran yapısının ve fonksiyonunun aydınlatılmasında eritrosit ghost'u sıkça kullanılmaktadır.

İnsan eritrosit membranında yaklaşık olarak %44 lipit, %49 protein ve %7 karbohidrat bulunur. Eritrosit membran lipitlerini %25 kolesterol, %60 fosfogliserit, %5-10 glikolipit ve daha az miktarda serbest yağ asitleri (FA), sülfatlar ve triaçilgliserollerden (TAG) oluşturur. Fosfogliseritler, her biri %15-16 kadar olmak üzere SM, FK, FE ve %7-8 kadar FS bileşiklerinden meydana gelmiştir. Bunlar dışında yapıda %1-1.9 fosfotidik asit, %0.6-2.2 poligliserofosfolipit ve %1-1.4 arasında lizofosfotidil kolon de yer alır (Uydu, 2001). Şekil 7' de eritrosit membranında yer alan fosfogliserit çeşitleri gösterilmiştir.

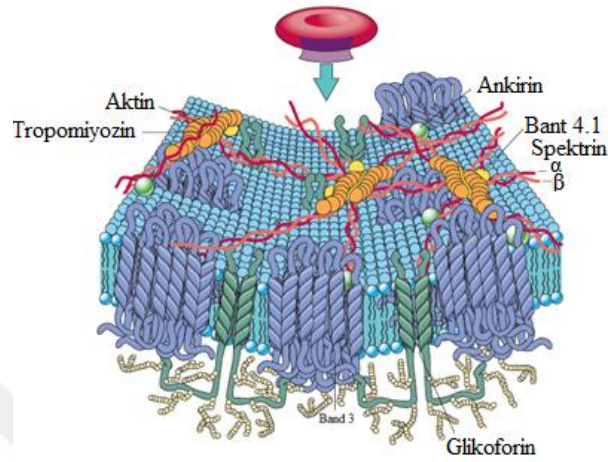


Şekil 7. Eritrosit membranında yer alan fosfogliseritler (Karp, 2006)

İntegral membran proteinleri ile hücre iskeletini oluşturan periferik proteinler (ekstrinsik proteinler) arasındaki bağlanma eritrosit membranının sağlamlığı ve esnekliğini sağlayan etkenler arasında önem taşımaktadır. Plazma membranının sitoplazmik yüzünde yer alan hücre iskeletinin yapısında spektrin, aktin, protein 4.1 ve tropomiyozinin bulundurulur. Membrana integral membran proteinlerinden glikoforin C ve band 3 proteinleri ile bağlıdır. Band 3 membran proteini (integral protein) üçlü kompleksle (spektrin, aktin, band 4), diğer hücre iskeleti proteini olan ankrin ve glikoforin C ise band 4.1 proteini (hücre iskeleti proteini) aracılığı ile bağlanır. Tipik bağlanmalar sonucunda meydana gelen kafes görünümündeki yapı eritrositlerin deformasyondan sonra orijinal



durumlarına dönmesini sağlamaktadır (Onat vd., 2006). Eritrosit membranında yer alan proteinler ve yerleşim yerleri Şekil 8’ de gösterilmiştir.



Şekil 8. Eritrosit membranında yer alan proteinler ve yerleşim yerleri (Karp, 2006)

### 1.3. Ateroskleroz ve Patogenezi

Ateroskleroz, arter duvarının iç tabakası (intima) ve orta tabakasındaki (media) değişimlerin eşlik ettiği, lipitlerin, kanın öteki yapı taşlarının ve fibröz dokunun yerel birikiminden doğan değişikliklerin bir kombinasyonu olarak tanımlanır (Baykal vd., 1998). Ateroskleroz yaşamın ilk yıllarında başlar ve yavaş yavaş ilerler. Yaşlanma ile birlikte, arter duvarında ilerleyici bir kalınlaşma olmakta, damarların iç çapı daralmakta ve komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır. 65 yaşından sonra ölümlerin %85’i ateroskleroza bağlı koroner kalp hastalığından ileri gelmektedir (Yardımcı, 1993).

Aterosklerozun en belirgin tutulum bölgeleri; aort, serebral, koroner, karotid ve renal arterler gibi sistemik arterlerdir. Büyük sistemik arterlerin dallanma bölgeleri, ateroskleroz gelişimine en elverişli bölgelerdir. Daha sonra, arterlerin kavis yerleri, iç biçimindeki genişleme bölgeleri ve anevrizmalar gelmektedir. Normalde kan basıncının düşük olduğu venlerde, ateroskleroz çok yavaş gelişir. Arteriyovenöz anastomozlar ve venöz bypass yapılan damarlarda ise ateroskleroz gelişimi hızlanmaktadır (Yardımcı, 1993).

Ateroskleroz için risk faktörleri:

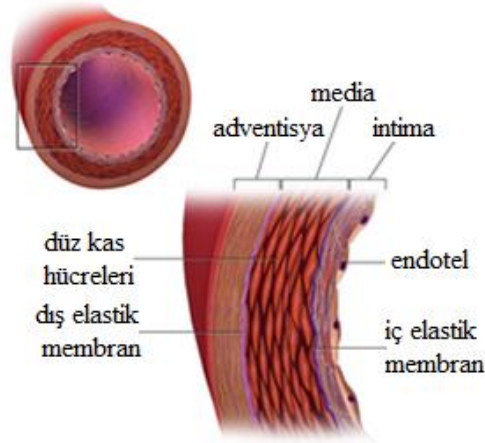
1. Yaş
2. Yüksek kan basıncı
3. Diyabet
4. Aile hikayesi
5. Sigara
6. LDL-Kolesterol
7. Total kolesterol
8. T. Kol/HDL-Kol
9. LDL-Kol/HDL-Kol
10. Triglicerid
11. Düşük HDL-Kolesterol
12. Obezite
13. Metabolik sendrom
14. Hareketsiz hayat tarzı (Hergenç, 2012).

### **1.3.1. Normal Arter Duvarı**

3 tabakadan oluşur. En iç tabaka intimadır. Tek sıra hâlinde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelyal matriks ve bazal membrandan oluşur. İnsan intimasında az sayıda düz kas hücresi de bulunur.

Orta tabakaya media adı verilir. Kollajen, elastik lifler ve glikozaminoglikanlardan oluşan bir matriks içinde konsantrik olarak dizilmiş düz kas hücrelerinden oluşur.

En dış tabaka ise adventisiadır. Gevşek bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka, boyuna dizilmiş kollajen liflerden, vaza vazorumlardan ve sinir uçlarından oluşur (Kültürsay, 2001). Şekil 9' da normal arter yapısı gösterilmiştir.



Şekil 9. Normal arter duvarının yapısı (Garcia vd., 2015)

### 1.3.2. Aterogenezde Rol Alan Hücreler

#### 1.3.2.1. Endotel hücresi

Endotel, arter duvarı ile kan elemanları arasında düzgün ve kesintisiz bir sınır oluşturan tek sıra dizilmiş hücrelerden oluşan bir tabakadır. Normal endotel oldukça seçici geçirgen bir bariyer, nontrombojenik bir yüzey, pek çok vazoaktif madde ile bağ dokusu yapılarının sentezinden sorumlu metabolik olarak aktif bir dokudur. Endotel zedelendiğinde, lipoproteinlerin subendotelyuma geçişinin hızlandığı ileri sürülmüştür. Ancak, aterosklerozun gelişimini hızlandıran esas basamağın serbest lipoprotein girişi değil, bundan sonra gelişen olaylar (oksidasyon vs.) olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. İntimaya yerleşen lipoprotein moleküllerinin ilk oksidasyonu da yine endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Okside LDL'nin oluşması aterogenezde bir dizi zincirleme olayı tetikleyen ilk temel basamaktır (Kültürsay, 2001).

#### 1.3.2.2. Düz Kas Hücreleri

Normal arter duvarının medya tabakasında yer alan düz kas hücrelerinin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın gelişimi sırasında medyadan intimaya geçen bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde görev alır. Bu yüzden düz kas hücrelerinin intimada birikmesi, ilerlemiş lezyonun göstergesi kabul edilir. Ayrıca düz kas hücreleri, makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip kolesterol esterleri şeklinde depolayarak köpük hücrelerini (foam cells) oluştururlar (Kültürsay, 2001).

### **1.3.2.3. Makrofajlar**

Makrofajlar, dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir. Her inflamatuvar olayda olduğu gibi, aterosklerotik plakta da yoğunlukla bulunurlar. Ayrıca köpük hücre oluşturan asıl hücreler makrofajlardır. Makrofajlar, ‘scavenger’ (çöpçü) reseptör aracılığı ile okside LDL’yi fagosite edip parçalarlar. Oluşan kolesterol bileşikleri, kolesterol esterleri şeklinde depolanır. Ancak hücrenin kolesterol yüklenmesiyle, ‘scavenger’ reseptörlerde bir down regülasyon olmadığından, depolanma işi hücrenin ölümüne dek sürer. Böylelikle lipit damlacıkları ile dolan makrofajlar ‘köpük hücreleri’ne dönüşür (Kültürsay, 2001).

### **1.3.2.4. Trombositler**

Aterogenezin hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri veya mural trombüsler görülebilir. Çekirdeksiz hücreler olduklarından protein üretmemelerine karşın, içerdikleri granüllerde çok sayıda değişik mitojenler, sitokinler ve vazoaaktif maddeler taşırlar. Endotel hasarında olduğu gibi herhangi bir biçimde tetiklenen trombosit aktivasyonu ve agregasyonu, sonuçta degranülasyona ve bu maddelerin salıverilmesine neden olur. Yine de, trombositlerin asıl etkisi, aterosklerozun bu erken evrelerinde değil, ilerlemiş lezyonun tehlikeli bir komplikasyonu olan trombüs oluşumundadır (Kültürsay, 2001).

### **1.3.2.5. T-Lenfositleri**

Aterosklerotik lezyonda hem CD4<sup>+</sup> hem de CD8<sup>+</sup> hücrelerinin bulunması, aterosklerozun patogenezinde bağışıklık sistemine, hatta belki de otoimmüniteye ilişkin bileşenlerin de rol oynayabileceği fikrini doğurmaktadır. Makrofajların, bağışıklık sisteminde T-lenfositlerine antijen sunan birincil hücreler olduklarının bilinmesi ve aterosklerotik plakta T-lenfositlerle yoğun etkileşimlerin gösterilmiş olması da bu kanıyı desteklemektedir (Kültürsay, 2001).

Aterogenezde rol alan hücreler ve etkileri Şekil 10’da gösterilmiştir.



4. Endotel hücrelerinde asimetrik dimetilarginin yıkımının azalması nedeniyle düzeyi artar ve bu da NO sentezini inhibe eder,
5. Yüksek kolesterol düzeyi, endotelden serbest oksijen radikallerinin salgılanmasına neden olur ve bunlar, NO'e bağlanarak aktivitesini bozarlar (Kültürsay, 2001).

### **1.3.3.2. LDL'nin Oksidasyonu**

Kronik hiperlipidemide dolaşımdaki düşük molekül ağırlıklı lipoproteinler endotel hücreleri tarafından alınarak oksitlenir. Bu oksitlenmede lipoproteinlerin yapısındaki apo E proteini çok az değişikliğe uğradığından oluşan lipoprotein partiküllerine 'minimally modified LDL' (mmLDL) adı verilir. Okside LDL'nin aterogenezdeki etkileri şu şekildedir:

1. Scavenger reseptörlerce tanınarak makrofajlar ve düz kas hücrelerince fagosite edilir,
2. Endotel hücreleri ve düz kas hücrelerine sitotoksik etki gösterir,
3. Dolaşımdaki monositler için kemotaktiktir,
4. Endotel adhezyon moleküllerinin üretimini uyararak monosit ve T-lenfositlerin damar duvarına yapışmasını kolaylaştırır,
5. Plak içindeki makrofajların motilitesini inhibe ederek, lezyondaki makrofaj sayısının artmasına neden olur,
6. Bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanmasını uyarır,
7. İmmünojeniktir, antikor oluşumunu etkiler (Kültürsay, 2001).

### **1.3.3.3. Köpük Hücre Oluşumu**

LDL molekülünün ilk modifikasyonu endotel hücrelerinde olur. Mm LDL daha sonra makrofajlardan salgılanan lipooksijenaz, reaktif oksijen türevleri ve malondialdehitin etkisiyle tekrar okside edilir. Malondialdehit, apo B proteininin lizin halkasını değiştirerek lipoprotein molekülünü, makrofajlar üzerindeki çöpçü reseptörlerce daha kolay tanınabilecek yönde şekillendirir. Böylelikle makrofajlar, okside LDL partiküllerini fagosite edip parçalar ve kolesterol esterleri biçimde depo eder. Hücrenin kolesterol yüklenmesi, çöpçü reseptör sayısında bir down regülasyona neden olmadığından, bu depolanma devam eder. Sonuçta köpük hücreleri oluşur. Düz kas hücrelerinin üzerinde de

Çöpçü reseptörler vardır. B hücreler de okside LDL'yi fagosite ederek köpük hücrelerini oluşturur (Kültürsay, 2001).

#### **1.3.3.4. Lipit Çekirdeğinin Oluşumu**

Lezyon ilerledikçe hücre dışında da lipit birikmeye başlar. Ekstrasellüler lipitin olası iki kaynağı vardır: Dolaşımdaki LDL'nin doğrudan doğruya intima tabakasındaki proteoglikanlara bağlanması ya da köpük hücrelerinin ölmesi sonucu depolanmış kolesterol esterlerinin açığa çıkması. Hücre dışı lipitlerin çoğunluğunun bu ikinci yoldan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Sonuçta oluşan lipit çekirdek, intima tabakasının bağ dokusu yapısı içinde kolesterol ve hücre yıkım ürünleri ile dolu boşluklardır. Bu aşamada lipit çekirdeğin üzerinde henüz fibrotik bir tabaka yoktur (Kültürsay, 2001).

#### **1.3.3.5. Fibröz Başlık Oluşumu**

Olgunlaşmış aterom plağında lipit çekirdeğinin üstü fibröz bir başlıkla örtülüdür. Fibröz başlık yoğunlukla düz kas hücreleri ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur. Bir yandan düz kas hücreleri tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer yandan proteazlar tarafından sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır. Lipit çekirdek ve etrafındaki fibröz başlıktan oluşan ilerlemiş lezyona 'fibroaterom' adı verilir. Lipit çekirdek ve fibröz tabakanın lezyondaki miktarı, plağın vulnerabilitesini (zedelenebilirliğini), bir başka deyişle, komplikasyon gelişimine ne kadar açık olduğunu belirleyen esas etkidir. Fibröz başlık ne kadar kalınsa plak o kadar stabil, fibröz başlık ne kadar inceyse, yırtılmaya o kadar yatkın ve dolayısıyla plak da komplikasyona o kadar açıktır (Kültürsay, 2001).

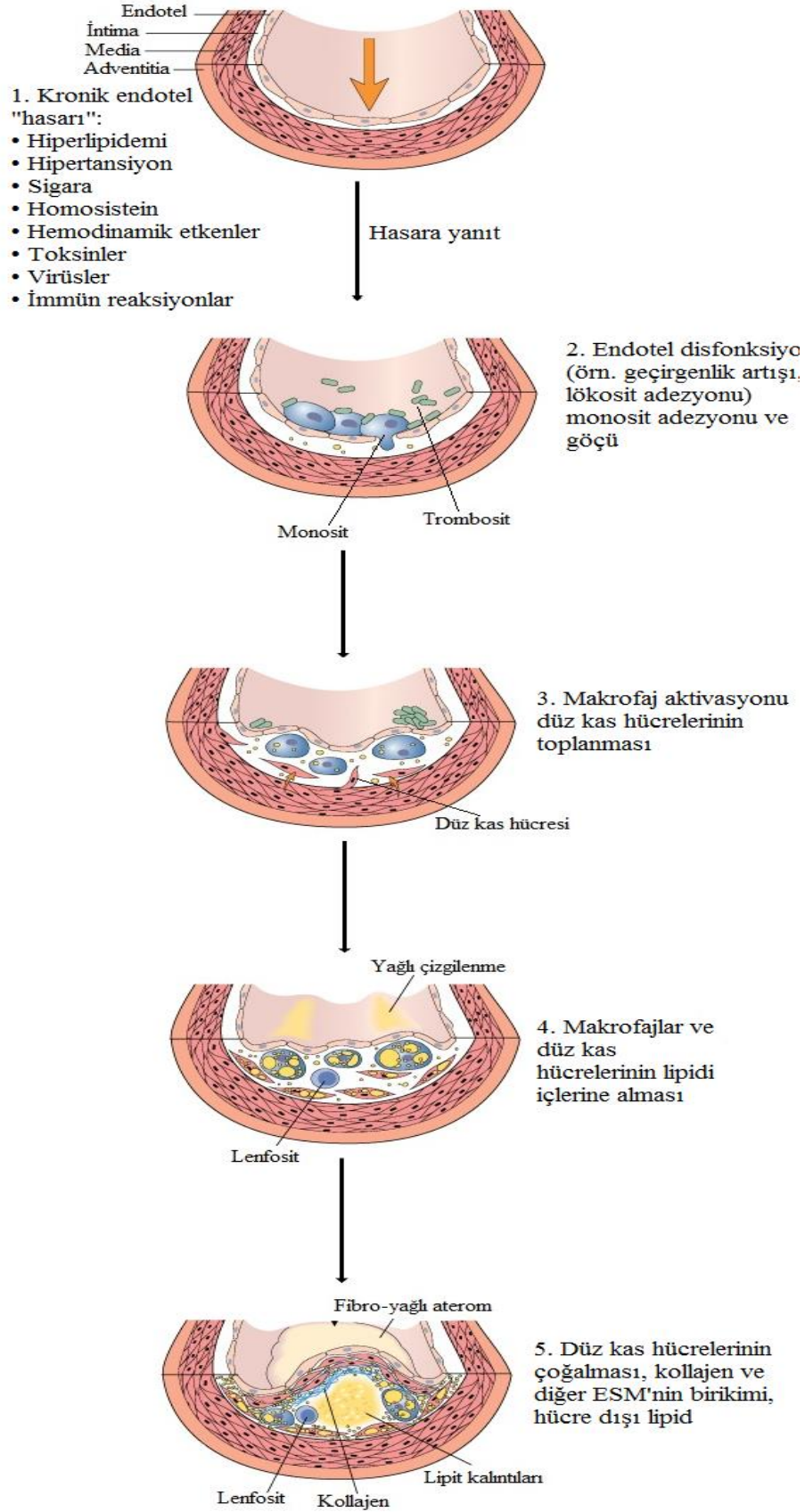
#### **1.3.3.6. İmmun Mekanizmalar**

Plaklardaki T-lenfositlerin görevi, interferon-g salgılayarak düz kas hücre proliferasyonunu düzenlemektir. B-lenfositler ise plakların yapısında bulunmalarına rağmen, çevre adventitiada bol miktarda bulunurlar ve okside LDL'ye karşı antikor üretirler (Kültürsay, 2001).

#### **1.3.3.7. Plak Vaskülarizasyonu**

Normal media damarsız bir yapıdır. Ancak intimal kalınlaşma olduğunda, adventitia tabakasından lezyonun tabanına doğru yönelen yeni damarlanmalar meydana gelir (Kültürsay, 2001). Aterogenezin temel basamakları Şekil 11'de gösterilmiştir.





Şekil 11. Aterogenezin temel basamakları (Robbins ve Cotran, 2005)



#### 1.4. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri

Aterosklerozun ana sebebi hiperlipidemi, özellikle de hiperkolesterolemidir. Plaklardaki kolesterolün kaynağına ilişkin olarak kabul edilen ilk görüş, lipoproteinlerin yapısındaki kolesterolün enzimatik ve enzimatik olmayan oksidasyonu sonucu oluştuğudur. İkinci görüş ise eritrositlerden köken alan serbest kolesterolün aterosklerotik plak oluşumuna katkı sağlamasıdır (Kolodgie vd., 2007).

##### 1.4.1. Lipoproteinlerin Aterosklerozla İlişkisi

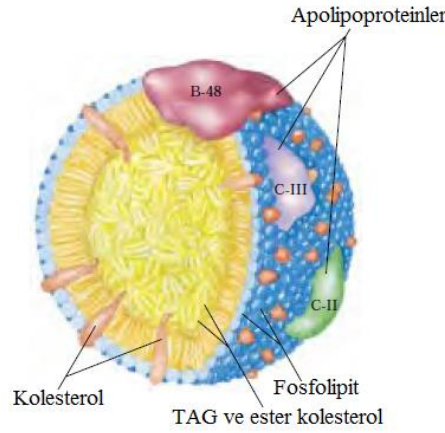
Lipitlerin kanda taşınabilmeleri için lipoprotein diye adlandırılan suda çözünebilen bir formda olmaları gerekir. Lipoproteinler merkezlerinde ester kolesterol ve trigliseritler gibi hidrofobik molekülleri, dışa bakan yüzeylerinde ise serbest kolesterol ve fosfolipitler gibi daha hidrofilik lipitleri ve apoproteinleri içerirler. Lipoproteinler büyüklükleri, yoğunlukları, lipit ve protein içeriklerine göre farklı ailelere ayrılabilirler. En büyük, en az yoğun ve trigliserit içeriği en çok olan lipoprotein şilomikronlardır. Büyüklük ve giderek artan yoğunluk ve kolesterol esterleri içerikleriyle şilomikronları, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), ara yoğunluklu lipoprotein (IDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) takip eder (Hergenç, 2012). İnsan plazma lipoproteinlerinin kimyasal kompozisyonu Tablo 1’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** İnsan Plazma Lipoproteinlerinin Kimyasal Kompozisyonu (%)

	Protein	Kolesterol	Ester Kolesterol	Trigliserit	Fosfolipit
Şilomikron	1-2	1-3	2-4	80-95	3-6
VLDL	6-10	4-8	16-22	45-65	15-20
IDL	VLDL ile LDL arasında değerler				
LDL	18-22	6-8	45-50	4-8	18-24
HDL	45-55	3-5	15-20	2-7	26-32

#### 1.4.1.1. Şilomikronlar

İçeriklerinin %98-99'u lipit, %80'nden fazlası trigliserit olan şilomikronların yoğunlukları 0.95 g/ml'den küçüktür. Şilomikronlar diyetle alınan eksojen lipitleri ve yağda çözünen vitaminleri taşımaktadırlar. Barsakta sentezlenirler ve lenfatik sistemden torasik duktus vasıtasıyla sistematik dolaşıma geçerler. Apolipoproteinleri A-I, A-II, A-IV, B-48 ve C'lerdir (Hergenç, 2012). Şilomikronun yapısı Şekil 12'de gösterilmiştir.

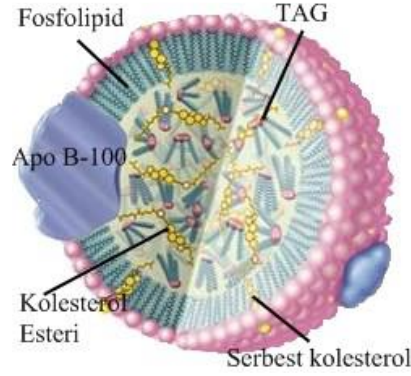


Şekil 12. Şilomikronun yapısı (Nelson and Cox, 2005)

#### 1.4.1.2. Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (VLDL)

Yoğunluğu 0.95-1.006 g/mL arasında olan VLDL, karaciğer ve daha az bir oranda barsaklarda sentezlenir. Yapısının %60-70'ini trigliserit, %10-15'ini fosfolipit ile kolesterol ve %10'unu proteindir. Apolipoproteinleri A'lar, B-100, C'ler ve E'dir. VLDL yapısı Şekil 13'de gösterilmiştir (Hergenç, 2012).

Artmış VLDL düzeyi, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için artmış risk ile ilişkilidir. Bu durum, VLDL'nin trigliserit ve apo C-III içermesi ile açıklanabilir. Başka bir durum ise hipertrigliseridemi olan hastalarda VLDL partiküllerinin apo E'den zengin olmasıdır. Bu durum, VLDL partikülünün makrofaj çöpçü reseptörüne kontrolsüz biçimde bağlanmasını kolaylaştırmaktadır (Koçyiğit ve Özer, 2016).



Şekil 13. VLDL yapısı ( Suryaatmadja, 2015 )

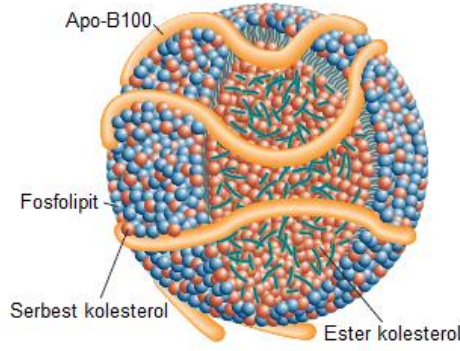
#### 1.4.1.3. Ara Yoğunluklu Lipoprotein (IDL)

VLDL'nin LDL'ye dönüşümünde kolesterolden zengin olan IDL (VLDL artığı) oluşur. Yoğunluğu 1.006-1.019 g/mL'dir. Apolipoproteinleri B-100 ve E'dir. IDL'nin iki akıbeti vardır: (1) %60-70'i LDL reseptörü aracılığıyla karaciğere girer ve yıkılır. (2) %30-40'ı LDL'ye dönüşür (Gürdol, 2015).

Her ne kadar LDL ateroskleroz gelişimi ve ilerlemesinde başlıca risk faktörü olarak kabul edilse de, çeşitli çalışmalarda serum IDL konsantrasyonunun artmış koroner arter hastalığı insidansı ve daha önceden koroner arter hastalığı tanısı almış olan bireylerde koroner olay insidansı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. IDL'de LDL'ye benzer biçimde makrofajlar tarafından alınarak köpük hücre oluşumuna yol açabilmekte ve insan koroner arterlerinde endotel bağımlı vazomotor fonksiyon üzerinde olumsuz etki gösterebilmektedir (Koçyiğit ve Özer, 2016).

#### 1.4.1.4. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL)

Yoğunluğu 1.006-1.063 g/mL arasında olan LDL, primer olarak VLDL'nin yıkımı sonucu ortaya çıkar. LDL'nin ağırlığının %25'ini apoprotein B-100 teşkil eder. Geriye kalan kısmın %50'sini kolesterol esterleri, %30'unu fosfolipitler, %10'unu esterleşmemiş kolesterol ve %10'unu ise trigliseritler oluşturur. Dolaşımdaki kolesterolün ana kaynağı LDL'dir. Yıkım karaciğerde, karaciğer dışı hücrelerde, dokularda bulunan LDL reseptörleri ile olmaktadır. LDL yapısı Şekil 14'te gösterilmiştir (Dalgıç ve Yetkin, 1985).



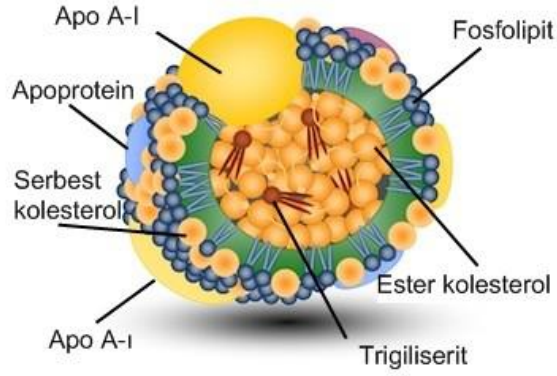
**Şekil 14.** LDL yapısı (Karp, 2006)

Tüm LDL partikülleri, boyutlarından bağımsız olarak, artmış aterosklerotik kardiyovasküler olay riski ile ilişkili bulunmuştur. Artmış Apo B-100 içeren lipoprotein plazma konsantrasyonunun, diğer risk faktörleri yokluğunda dahi, ateroskleroz gelişimini uyarabildiği düşünülmektedir. Küçük LDL partikülleri, büyük LDL partiküllerine kıyasla endotel bariyerini 1.7 kat daha fazla geçmektedir ve pozitif yüklü intimal proteoglikanlar ile etkileşime geçmektedir. Artmış okside LDL düzeyi, koroner arter hastalığı ile ilişkilidir (Koçyiğit ve Özer, 2016).

#### 1.4.1.5. Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL)

Lipoproteinlerin en ufak olanı 7-10 nm'lik çapıyla HDL'dir. Yapısındaki protein (%50) ve lipit (%50) miktarı birbirine eşittir. Lipit çekirdeğinde kolesterol esterleri bulunur. Majör apoproteinleri A-I ve A-II'dir, az miktarda E ve C'ler de bulunur. HDL yapısı Şekil 15'te gösterilmiştir.

HDL'nin HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> isimli iki alt fraksiyonu vardır. Dolaşımında öncü HDL'ye bağlı LCAT enzimi (lesitin kolesterol açil transferaz) fosfatidil kolinin 2. karbonundan bir yağ asidinin kolesterole aktarılmasını ve ester kolesterolün oluşmasını katalizler. Esterleşen kolesterol, lipoprotein çekirdek kısmına geçer ve böylece HDL taneciği küre şekline dönüşür. HDL'nin ufak ve küre şeklindeki ilk formu HDL<sub>3</sub> olarak adlandırılır. HDL<sub>3</sub> giderek küresellenen yapısına yine LCAT aracılığıyla ester kolesteroleri alarak, lipoprotein lipaz ve PLTP (fosfolipit transfer proteini) etkisiyle diğer lipoproteinlerden ayrılan yüzey bileşenlerini alarak büyür ve HDL<sub>2a</sub> haline dönüşür. HDL<sub>2a</sub>'nın bir kısmı ise ester kolesterolerini CETP (kolesterol ester transfer proteini) aracılığı ile VLDL'ye aktarır; yerine bu lipoproteinden triaçilgliserol alır ve HDL<sub>2b</sub> haline dönüşür (Gürdol, 2015).

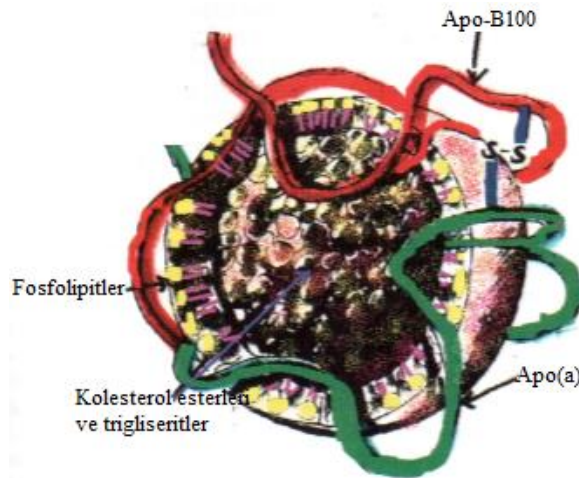


Şekil 15. HDL yapısı (Atak, 2010)

HDL partikülleri, LDL ve VLDL partiküllerinden farklı olarak, ‘makrofaj kolesterol efflux’ olarak da bilinen makrofajlardan kolesterol uzaklaştırma işlemine yardımcı olarak antiaterojenik etki göstermektedir. Bunun yanı sıra antioksidasyon, tromboza karşı koruma, endotel fonksiyonlarının korunması ve kan viskozitesinin düşük tutulması yönünde de rol oynamaktadır (Koçyiğit ve Özer, 2016).

#### 1.4.1.6. Lipoprotein a

Lipoprotein a, LDL’ye lipid ve protein yapısı bakımından çok benzeyen bir lipoproteinden ve karbohidrattan zengin, oldukça hidrofilik bir protein olan apo(a)’nın birleşmesinden meydana gelmektedir. Yoğunluğu 1.050-1.100 kg/L arasındadır. Lipoprotein a’nın yapısı Şekil 16’da gösterilmiştir.



Şekil 16. Lp (a) yapısı (Hergenç, 2012)

Koagülasyon, tromboz ve fibrinolizdeki rolü dışında, hücre içi adezyon moleküllerini arttırma, arter duvarı ve serebral damarlarda birikme, fibrinojen, fibronektin gibi inflamasyon molekülleri düzeyleri ile gösterdiği ilişki ile koroner arter ve inme gibi aterosklerotik hastalıklar için risk faktörüdür (Hergenç, 2012).

#### **1.4.2. Eritrositlerin Aterosklerozla İlişkisi**

Eritrositlerden köken alan serbest kolesterol, aterosklerotik plak oluşumuna katkı sağlar. Çünkü, akut hemorajik olaylar esnasında anlamlı düzeyde kırmızı kan hücresi, ‘sızdıran vasa vasorum’ mikro damarlardan plağa sızmakta ve burada birikmektedir. Eritrosit membranı giderek lipitten zenginleşir ve ağırlığının %40’ını lipitler oluşturur, serbest kolesterol içeriği diğer tüm hücre tiplerinde olduğundan daha yüksektir. Plaklardaki sfingomiyelinaz enzim aktivitesi, eritrosit membranından serbest kolesterol salınımını kolaylaştırır. Ayrıca membranda bulunan kolesterolün fazlası fazlara ayrılarak, molekülün kuyruk kısımları peşpeşe gelecek şekilde, kristal oluşumunu kolaylaştıran bir konformasyonda saf kolesterolden oluşan, suda çözünmeyen ve diğer fazlar ile karışmayan membran bölgeleri oluşturur. İlerlemiş koroner ateromlarda, eritrosit hücre membranına özgü bir protein olan glikoforin-A için yapılan immün boyama kuvvetli pozitif sonuç verirken, erken evre plaklarda glikoforin-A ekspresyonu ya hiç yoktur ya da zayıftır (Kolodgie vd., 2007).

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve üretici firmaları Tablo 2’de verilmiştir.

**Tablo 2.** Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz Adı	Markası
Soğutmalı santrifüj	Thermo scientific Heraeus multifuge 3SR+
Spektrofotometreler	Thermo scientific Multiskan GO
Hassas terazi	Acculab sartarius group
Vorteks	Velp scientifica
pH metre	Hanna instrument
Etüv	Memmert
-80	New Brunswick Scientific-U570
Buzdolabı	Arçelik
Mikroplaka yıkayıcısı	BioTek E1X50
Manyetik karıştırıcı	Wids Laboratory Instruments
Çalkalayıcı	HLC-BioTech

## 2.2. Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler ve üretici firmaları Tablo 3’de, çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 4’ te verilmiştir.

**Tablo 3.** Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar ve firmaları

Kimyasal Adı	Firma
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	SIGMA
NaOH	MERCK
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	HIMEDIA
SDS	SIGMA
Na-K tartarat	PANREAC
Folin-Ciocalteu reaktifi	MERCK
NaCl	MERCK
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	HIMEDIA
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	MERCK
KOH	HIMEDIA
Kloroform	MERCK
İzopropil alkol	SIGMA
KCl	HIMEDIA
Kolesterol reaktifi	ABBOTT
Kolesterol standartı	ABBOTT



**Tablo 4.** Tez çalışmasında kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
Lowry A Çözeltisi	20 g $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 260 mL, 0,4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 20 mL ve 0,2 g Na-K tartarat 20 mL saf suda çözüldükten sonra üçü karıştırılır.
Lowry B Çözeltisi	10 g SDS 100 mL saf suda çözülür.
Lowry C Çözeltisi	4 g NaOH 100 mL saf suda çözülür.
Lowry Reaktifi	Lowry A, B, C çözeltileri sırasıyla 3:1:1 oranında karıştırılarak hazırlanır.
0,2 N Folin-Ciocalteu Reaktifi	2 N'lik Folin-Ciocalteu reaktifi saf su ile 10 kat seyreltilerek hazırlanır.
10 mg/mL stok BSA Çözeltisi	0,01 g albümin 100 mL saf suda çözülerek hazırlanır.
Kloroform-Metanol Ekstraksiyon Çözeltisi	Sırasıyla 2 : 1 oranında karıştırılarak istenilen miktarda hazırlanır.
%0,9 NaCl	0,9 g NaCl 100 mL saf suda çözülerek hazırlanır.
20 mM PBS	1,63 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ve 1,39 g $\text{K}_2\text{HPO}_4$ tartılıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH 7,4'e ayarlanıp 1 L'ye tamamlanır.
5 mM Patlatma Tamponu	0,54 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ve 0,17 g $\text{K}_2\text{HPO}_4$ tartılıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH 8'e ayarlayıp 1 L'ye tamamlanır.
2,5 mM 1. Yıkama Tamponu	0,272 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ve 0,087 g $\text{K}_2\text{HPO}_4$ tartılıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH 8'e ayarlayıp 1 L'ye tamamlanır.
1,25 mM 2. Yıkama Tamponu	0,136 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ve 0,043 g $\text{K}_2\text{HPO}_4$ tartılıp bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH 8'e ayarlayıp 1 L'ye tamamlanır.
0,1 N KOH	2,80 g KOH tartılır ve 500 mL saf suda çözülerek hazırlanır.

### **2.3. Çalışma Örneklerinin Toplanması**

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Polikliniğine başta göğüs ağrısı şikayetiyle başvuran ve anjiyografi uygulanan hastalar ile hasta gruplarıyla benzer demografik özelliklere sahip olan sağlıklı kontrol grupları üzerinde gerçekleştirildi.

#### **2.3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması**

Çalışma grupları; üç damarı tıkalı (n=44), iki damarı tıkalı (n=71), bir damarı tıkalı (n=47), anjiyografisi olup damarı tıkalı olmayan (anjiyo kontrol, n=81) hasta grubu ve sağlıklı olan (n=49) kontrol gruplarından oluşturuldu.

### **2.4. Eritrosit Kolesterolünün Tayini**

#### **2.4.1. Eritrosit Süspansiyonunun Oluşturulması ve Eritrosit Zarının Eldesi**

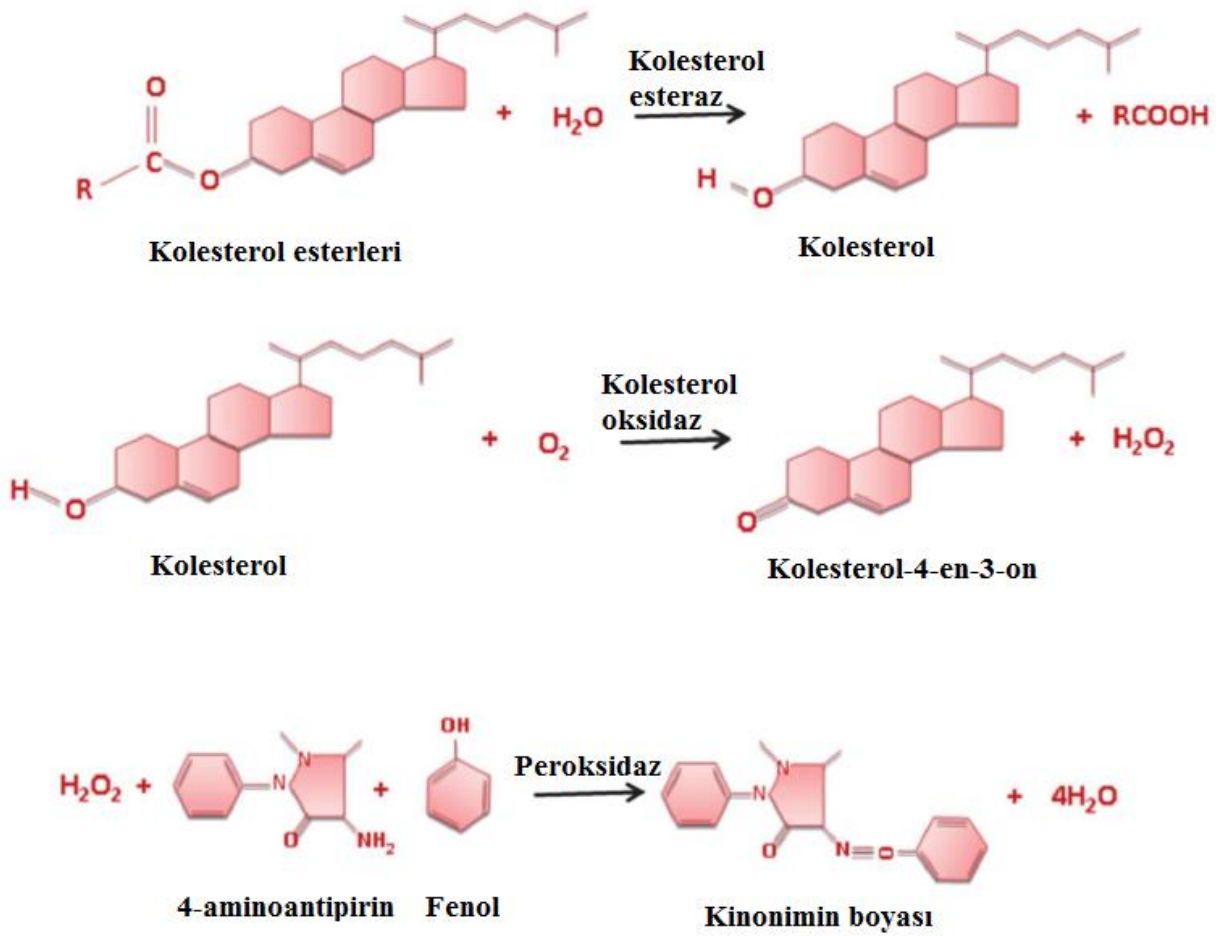
Eritrosit hücre zarı Dodge ve ark. metodunun modifiye edilmesiyle hazırlandı (Dodge ve ark., 1963). Her kişiden 10 mL kan antikoagülanlı (EDTA, 1 mg/dL) tüpe alındı. Örnekler 1500 g'de 10 dk santrifüj edildi. Plazma ve lökositler uzaklaştırıldı ve eritrositler 20 mL PBS tamponu ile üç kez süspansiyon edildi. Her süspansiyon 3000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen son eritrositler üzerine 30 mL patlatma tamponu ilave edip kuvvetlice çalkalandı ve 20.000 g'de 20 dk santrifüj edildi. Daha sonra 30 mL birinci yıkama tampon ve aynı miktarda ikinci yıkama tampon ilave edilerek (herbir işlem iki kere yapıldı) 20.000 g'de 20 dk santrifüj edildi. Beyaz görünümde elde edilen eritrosit zarına (ghost) KOH ilave edilerek bir gece oda sıcaklığında bekletildikten sonra aligotlanarak -80°C'de saklandı.

#### **2.4.2. Eritrosit Zarından Lipit Ekstraktının Eldesi**

Eritrosit zar lipit ekstraksiyonu modifiye Folch ve Stanley metoduyla yapıldı (Folch ve Stanley, 1957). Steril ve teflon kapaklı 10 mL'lik tüpe 1 mL ghost ve 9 mL ekstrakt karışımı pipetlendi. Tüpün ağzı kapatılarak 2-3 dakika kuvvetlice çalkalandı ve süspansiyon N<sub>2</sub> gazı ile oda sıcaklığında çalkalayıcıda 15-30 dakika bekletildi. Ardından tüp hızlıca santrifüj yapılarak süpernatant temiz ve kuru bir tüpe aktarıldı. Üzerine 0.2 mL NaCl ilave edilerek 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında tüp hızlıca santrifüj edilerek lipitlerin bulunduğu alt faz alındı ve -20°C'de saklandı.

### 2.4.3. Lipit Ekstraktlarından Kolesterol Tayini Yapılması

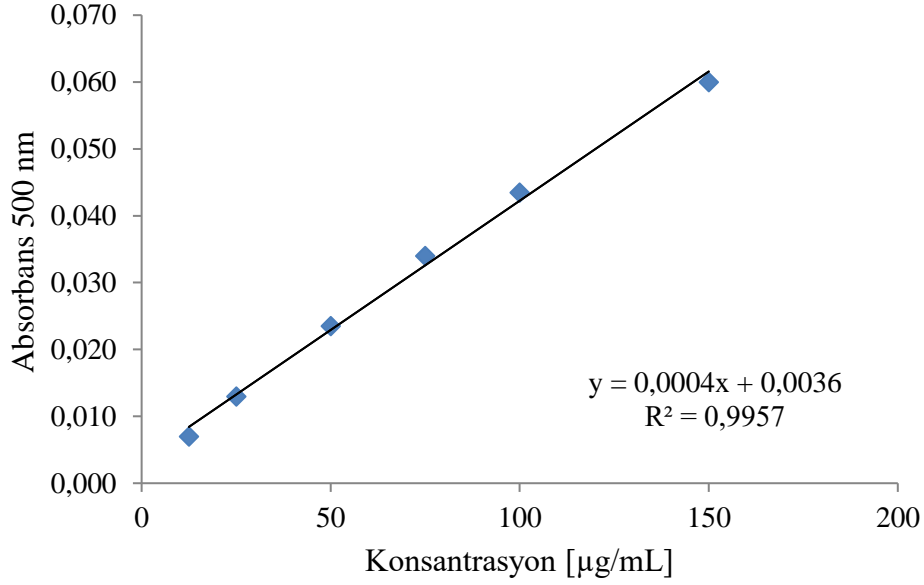
Kolesterol tayini kolesterol oksidaz metoduyla yapıldı (Ott vd., 1981). Bu metotta membran yapısında bulunan ester kolesterol (EK), kolesterol oksidaz ile hidroliz edilerek kolesterol oksidaz enziminin substratı haline getirilir. Oksidaz aktivitesiyle, kolesterol oksidasyona uğratılır ve kolesterol-4-en-3-on ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) açığa çıkar. Daha sonra peroksidaz aktivitesiyle  $H_2O_2$ , fenol ve 4-aminoantipirin ile reaksiyona girerek absorbandsı ölçülecek kırmızı renkli kompleksi (kinonimin boyası) oluşturur (Şekil 17).



Şekil 17. Kolesterol oksidaz metodu (Ahmadraji and Killard, 2013)

Tayin için 0.1 mL alınan lipit ekstraktları evapore edildi. Ardından 0.2 mL kolesterol oksidaz reaktifi ilave edildi ve  $37^{\circ}C$ 'de 10 dakika bekletildikten sonra rengin absorbandsı 500 nm'de ölçüldü. Konsantrasyonu mg zar protein başına  $\mu g$  kolesterol olarak ifade etmek için kolesterol standart grafiği hazırlandı. Kolesterol standart grafiği,

konsantrasyonu 750 µg/mL olan stok kolesterol standartı kullanılarak hazırlandı (Şekil 18). Bu stok çözeltiden 12.5 µg, 25 µg, 50 µg, 75 µg, 100 µg ve 150 µg konsantrasyonlarda 6 farklı kolesterol standartı hazırlandı.



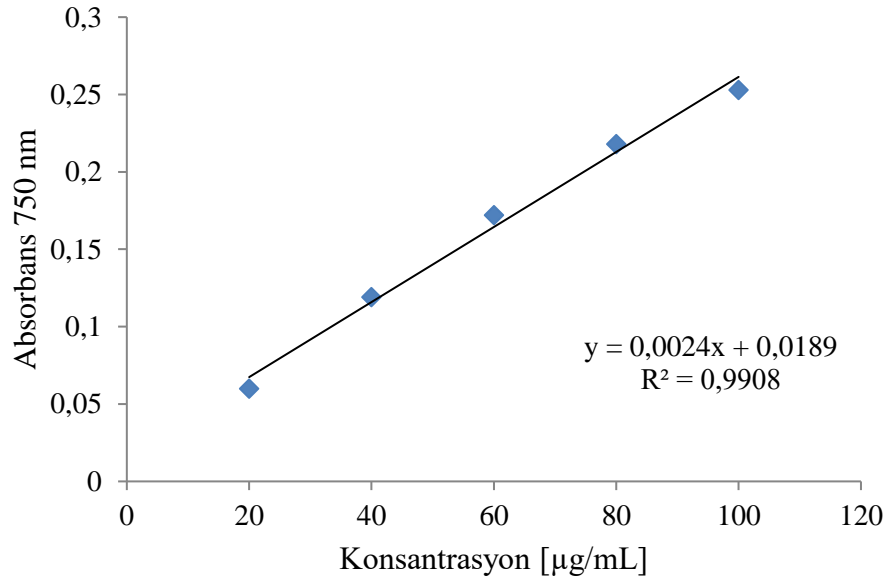
Şekil 18. Kolesterol standart grafiği

#### 2.4.4. Eritrosit Zarı Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Eritrosit zarı protein içeriği Lowry metoduyla BSA standartı kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi (Lowry vd., 1951). Bu metoda göre protein önce alkali bakır çözeltisi ile muamele edilir. Alkali ortamdaki  $Cu^{+2}$ , proteinlerin peptit bağları ile kompleks oluşturarak  $Cu^{+1}$ 'e indirgenir. Daha sonra Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilerek oluşan mavi renk 750 nm'de ölçülür. Standart grafiği 20-40-60-80-100 µg/mL'lik BSA standartı kullanılarak elde edildi ve ölçümler mikropalakada yapıldı. Pipetlemeler Tablo 5'te verilmiştir. Ölçülen absorbans albümin standart grafiği yardımı ile hesaplandı (Şekil 19).

**Tablo 5.** Protein için pipetleme miktarları

Reaktifler	Kör (µL)	Numune (µL)	Standart (µL)
Saf su	100	-	-
Numune	-	100	-
Standart	-	-	100
Lowry	100	100	100
Oda sıcaklığında 10 dak. bekletilir.			
Folin-Ciocalteu	50	50	50
Oda sıcaklığında 30 dak. Bekletilir ve 750 nm’de absorbans okutulur.			



**Şekil 19.** Protein standart grafiği

## 2.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov–Smirnov testine göre belirlendi. Sayısal olan verilerin merkezi eğilimleri parametrik olanlar aritmetik ortalama (X) ve standart sapma (SD), nonparametrik olanlar ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] şeklinde ifade edildi. Kategorik değişkenler yüzde (%) olarak verildi. Normal dağılım gösteren verilerin gruplar arası varyans analizi ANOVA tesine göre, nonparametrik olanlar ise Kruskal-Wallis (ikili karşılaştırılması Mann-Whitney U testi) testine göre yapıldı. Parametrik dağılım gösteren 2 grubun varyans analizi Student t testine göre analiz edildi. Gruplar arası kategorik değişkenlerin farklılığı ise ki-kare testine göre tespit edildi. Gruplardaki değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon testine göre tespit edildi. Ayrıca hastalığın gösteriminde ROC analizi ile EMK ve hsCRP karşılaştırıldı ve şu şekilde belirtilen skalaya göre değerlendirildi: 0.90-1.00; mükemmel, 0.8-0.9; iyi, 0.7-0.8; orta, 0.6-0.7; zayıf ve 0.5-0.6; başarısız (URL-2, 2017).

### 3. BULGULAR

Çalışmaya katılanlar; toplam hasta ve sağlıklı kontrol olarak 2 gruba, hastalar ise anjiyografik bulgularına göre 4 alt gruba ayrılmıştır; herhangi bir anjiyografik bulgusu olmayan (anjiyo kontrol, n=81), 1 damarı tıkalı olan (n=47), 2 damarı tıkalı olan (n=71) ve 3 damarı tıkalı olan (n=44) grup. Çalışma grupları oluşturulurken çalışmaya katılan katılımcıların yaş değerleri birbirine yakın olmasına özen gösterilmiştir. Ancak ateroskleroz patogenezindeki olaylar belli bir zaman periyodu boyunca geliştiği için damarda plak oluşumu ve buna bağlı stenoz (tıkanıklık) yüksek yaş düzeylerinde gerçekleştiği bilinmektedir. Bu yüzden hasta grubunun yaş ortalaması kontrol grubuna göre daha yüksek olması kaçınılmazdır. Sağlıklı kontrol grubuna göre toplam hasta grubunda yaş ortalaması farkı istatistiksel olarak anlamlı gözlenmiştir ( $p<0.01$ ). Çalışma sonuçlarının daha hassas değerlendirilmesi için sağlıklı grubun yaş ortalamasının hasta grubuna yakın tutulması bel çevresi ve BMI değerlerinin birbirine yakın olmasına hatta sağlıklı grupta yüksek çıkmasına neden olduğu düşünülmüştür. Sklerotik damar bozukluğunun göstergelerinden biri olarak hipertansiyon sıklığında, sağlıklı gruba göre toplam hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ( $p<0.001$ ). Sigara kullanım oranı sağlıklı gruba göre toplam hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Fakat tıkalı damar sayısı arttıkça hasta grupları arasında bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Diyabet varlığında sağlıklı kontrol ile toplam hasta grubu arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Sağlıklı kontrol grubu ve toplam hasta grubu demografik özellikleri Tablo 6'da gösterilmiştir. Toplam hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubuna ait TAG, TK, LDL-K, HDL-K gibi serum lipit profili ile EMK ve hsCRP değerleri Tablo 7'de ve Şekil 20'da verilmiştir. Yapılan çalışmada eritrosit zar yapısındaki kolesterol miktarı analiz edilmiş ve belirlenen EMK miktarının sağlıklı kontrol grubu ile toplam hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ( $p<0.01$ ). Ayrıca toplam hasta grubunda TAG ve hsCRP düzeylerinde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p<0.01$ ).

**Tablo 6.** Sağlıklı kontrol ve toplam hasta grubunun demografik özellikleri

Parametre	Sağlıklı Kontrol (n=49)	Toplam Hasta Grubu (n=243)
Yaş (Yıl)	56 ± 6**	61 ± 10
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29 (29-31)	29 (28-30)
Bel Çevresi (cm)	106 (103-117)	102 (100-105)
Cinsiyet, ♂, % (n)	71 (34)	67 (162)
Hipertansiyon, var, % (n)	0***	60 (146)
Diyabet, var, % (n)	0***	27 (65)
Sigara, var, % (n)	20 (10)*	38 (93)

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 ve \*\*\*: p<0.001. Yaş için X ve SD, BMI/bel çevresi ise ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] değerleri verildi.

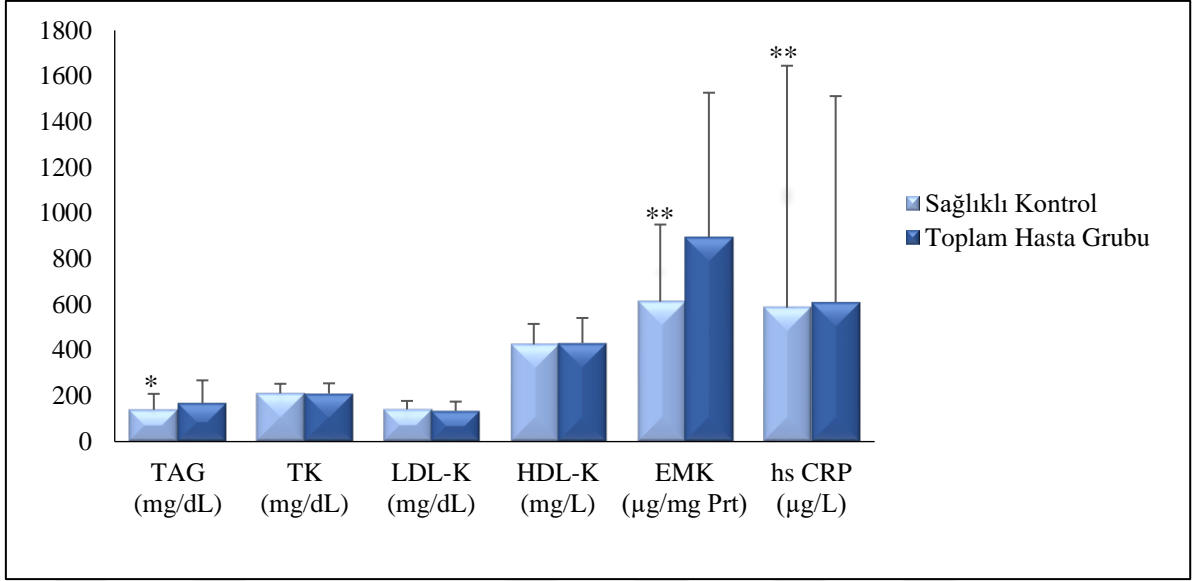
**Tablo 7.** Sağlıklı kontrol ve toplam hasta grubunun ölçülen parametrelerinin değerleri

Parametre	Sağlıklı Kontrol (n=49)	Toplam Hasta Grubu (n=243)
TAG (mg/dL)	125 (117-162)*	144 (155-194)
TK (mg/dL)	211 ± 42	210 ± 45
LDL-K (mg/dL)	142 (130-152)	129 (129-143)
HDL-K (mg/dL)	41 (39-44)	40 (40-44)
EMK (µg/mg Prt)	608 (533-744)**	661 (727-919)
hsCRP(µg/mL)	0,18 (0,3-1,01)**	0,41 (0,49-0,87)

\*: p<0.05 ve \*\*: p<0.01. Ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] değerleri verildi. TK için X ve SD değeri verildi.

Çalışmamızda damarı tıkalı olmayan (anjiyo kontrol), 1 damarı tıkalı olan ve 1'den fazla damarı tıkalı olan grupların oluşturulmasıyla koroner arter hastalığının şiddetinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak çalışma gruplarının demografik özellikleri Tablo 8'de gösterilmiştir.





\*: p<0.05 ve \*\*: p<0.01

Şekil 20. Sağlıklı kontrol ve toplam hasta grubunun ölçülen parametrelerin grafiği

Tablo 8. Sağlıklı kontrol, anjiyo kontrol, tek damar ve çok damar tıkalı gruplarının demografik özellikleri

Parametre	Sağlıklı Kontrol (n=49)	Anjiyo Kontrol (n=81)	1 Damar Tıkalı (n=47)	Çok Damar Tıkalı (n=162)
Yaş (Yıl)	56 ± 6 <sup>a***</sup>	53 ± 11	57 ± 10	63 ± 10
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29 (29-31)	29 (28-31)	28 (27-30)	29 (29-31)
Bel Çevresi (cm)	106 (103-117)	101 (98-105)	98 (95-102)	104 (101-107)
Cinsiyet, ♂, % (n)	71 (34)	53 (43) <sup>b**,c**</sup>	81 (38)	70 (81)
Hipertansiyon, Var, % (n)	0 <sup>d***,e***,f***</sup>	48 (39)	47 (22)	74 (85)
Diyabet, Var, % (n)	0 <sup>g***,h***</sup>	16 (13)	28 (13)	34 (39)
Sigara, Var, % (n)	20 (10)	37 (30)	44 (20)	37 (43)

\*\* : p<0.01 ve \*\*\* : p<0.001. Yaş için X ve SD, BMI/bel çevresi ise ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] değerleri verildi.

- a: Sağlıklı kontrol ile çok damarı tıkalı grup,
- b: Anjiyo kontrol ile 1 damar tıkalı grup,
- c: Anjiyo kontrol ile çok damar tıkalı grup,
- d: Sağlıklı gruba göre anjiyo kontrol grup,
- e: Sağlıklı kontrol grubuna göre 1 damarı tıkalı grup,
- e: Sağlıklı kontrol grubuna göre çok damarı tıkalı grup,
- g: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup,
- h: Sağlıklı grup ile çok damar tıkalı grup karşılaştırılması.

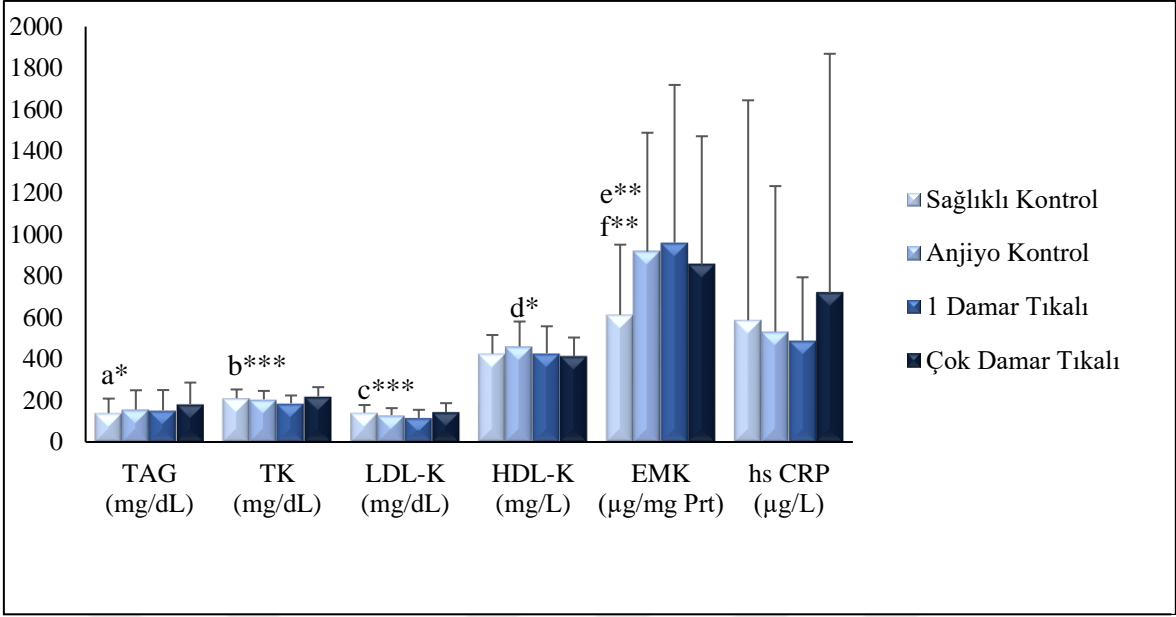
Çalışma gruplarına ait TAG, TK, LDL-K, HDL-K gibi serum lipit profili ile EMK ve hsCRP değerleri Tablo 9’da ve Şekil 21’de verilmiştir. EMK miktarının sağlıklı gruba göre anjiyo kontrol, 1 damar ve çok damar tıkalı gruplarında yüksek olduğu görülmüştür. Fakat sağlıklı kontrole göre anjiyo kontrol ve 1 damarı tıkalı grup arasında istatistiksel anlamlılık vardır (p<0.01). Sağlıklı grup ile çok damarı tıkalı grup arasında istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir.

**Tablo 9.** Sağlıklı kontrol, anjiyo kontrol, tek damar ve çok damar tıkalı grupların ölçülen parametrelerin değerleri

Parametre	Sağlıklı Kontrol (n=49)	Anjiyo Kontrol (n=81)	1 Damar Tıkalı (n=47)	Çok Damar Tıkalı (n=162)
TAG (mg/dL)	125 (117-162) <sup>a*</sup>	116 (128-177)	108 (105-175)	160 (165-211)
TK (mg/dL)	211 ± 42 <sup>b***</sup>	205 ± 41	186 ± 38	219 ± 45
LDL-K (mg/dL)	142 (130-152) <sup>c****</sup>	127 (119-137)	111 (104-127)	138 (135-152)
HDL-K (mg/dL)	41 (39-44)	45 (44-50) <sup>d*</sup>	42 (39-49)	39 (39-43)
EMK (µg/mg Prt)	608 (533-744) <sup>e**,f**</sup>	663 (699-979)	685 (678-957)	660 (702-947)
hsCRP(µg/mL)	0,18 (0,3-1,01)	0,33 (0,36-0,72)	0,44 (0,38-0,61)	0,4 (0,49-1,01)

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 ve \*\*\*: p<0.001. Ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] değerleri verildi. TK için X ve SD değeri verildi.

- a: Sağlıklı kontrol ile çok damar tıkalı grup,  
b: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup,  
c: Sağlıklı kontrol ile 1 damar grup,  
d: Anjiyo kontrol ile çok damar tıkalı grup,  
e: Sağlıklı kontrol ile anjiyo kontrol grup,  
f: Sağlıklı kontrol ile 1 damarı tıkalı grup karşılaştırılması.



\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$  ve \*\*\*:  $p < 0.001$ .

- a: Sağlıklı kontrol ile çok damar tıkalı grup,  
b: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup,  
c: Sağlıklı kontrol ile 1 damar grup,  
d: Anjiyo kontrol ile çok damar tıkalı grup,  
e: Sağlıklı kontrol ile anjiyo kontrol grup,  
f: Sağlıklı kontrol ile 1 damarı tıkalı grup karşılaştırılması.

**Şekil 21.** Sağlıklı kontrol, anjiyo kontrol, tek damar ve çok damar tıkalı grupların ölçülen parametrelerin grafiği

Benzer şekilde tıkalı damar sayısı üzerinden koroner arter hastalığının şiddeti ile ilgili grupların demografik özellikleri Tablo 10'da gösterilmiştir. Çalışma gruplarına ait TAG, TK, LDL-K, HDL-K gibi serum lipit profili ile EMK ve hsCRP değerleri Tablo 11'de ve Şekil 22'de verilmiştir. EMK miktarının sağlıklı gruba karşılaştırıldığında 0 damarı, 1 damarı, 2 damarı ve 3 damarı tıkalı gruplarda yüksek olduğu görülmüştür. Fakat istatistiksel olarak anlamlı farkın sağlıklı kontrol grubuna göre 0 damar ve 1 damar tıkalı grup arasında olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Sağlıklı kontrol grubuna göre 2 damar ve 3 damar tıkalı gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

**Tablo 10.** Sağlıklı kontrol ve tıkalı damar sayısına göre oluşturulan grupların demografik özellikleri

Parametre	Sağlıklı Kontrol (n=49)	0 Damar Tıkalı (n=81)	1 Damar Tıkalı (n=47)	2 Damar Tıkalı (n=71)	3 Damar Tıkalı (n=44)
Yaş (Yıl)	56 ± 6 <sup>a**,b**</sup>	53 ± 11	57 ± 10	62 ± 10	63 ± 9
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29 (29-31)	29 (28-31)	28 (27-30)	29 (29-32)	29 (28-31)
Bel çevresi (cm)	106(103-117)	101(98-105)	98(95-102)	104(102-109)	100(98-106)
Cinsiyet, ♂, % (n)	71 (34)	53 (43) <sup>c*</sup>	81 (38)	73 (52)	66 (29)
Hipertansiyon, Var,% (n)	0 <sup>d***,e***,f***,g***</sup>	48 (39)	47 (22)	76 (54)	71 (31)
Diyabet, Var, % (n)	0 <sup>h**,i**,j***</sup>	16 (13)	28 (13)	32 (23)	36 (16)
Sigara, Var, % (n)	20 (10)	37 (30)	44 (20)	32 (23)	46 (20)

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 ve \*\*\*: p<0.001. Yaş için X ve SD, BMI/bel çevresi ise ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] değerleri verildi.

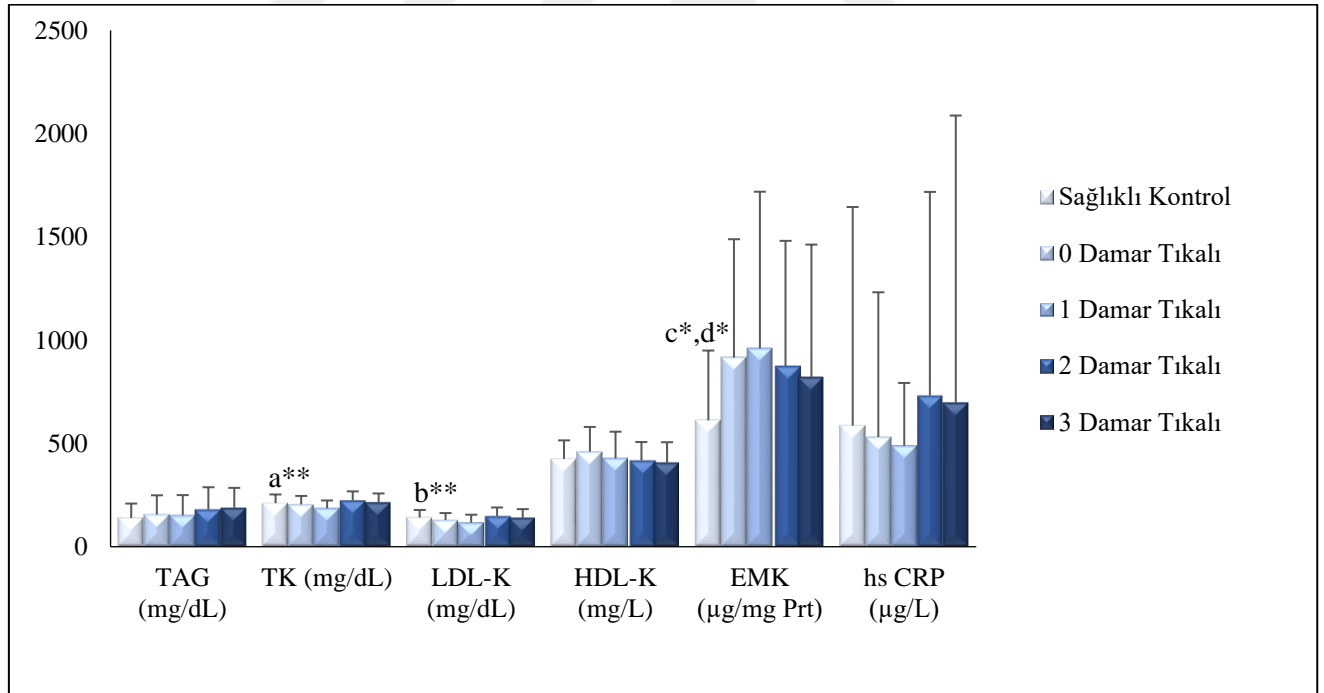
- a: Sağlıklı kontrol ile 2 damar tıkalı grup,
- b: Sağlıklı grup ile 3 damar tıkalı grup,
- c: 0 damar tıkalı ile 1 damar tıkalı grup,
- d: Sağlıklı kontrol ile 0 damar tıkalı,
- e: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup,
- f: Sağlıklı kontrol ile 2 damar tıkalı grup,
- g: Sağlıklı kontrol ile 3 damar tıkalı grup,
- h: Sağlıklı kontrol ile 1 damarı tıkalı grup,
- i: Sağlıklı kontrol ile 2 damar tıkalı grup,
- j: Sağlıklı kontrol ile 3 damarı tıkalı grup karşılaştırılması.

**Tablo 11.** Sağlıklı kontrol ve tıkalı damar sayısına göre oluşturulan grupların ölçülen parametre değerleri

Parametre	Sağlıklı Kontrol (n=49)	0 Damar Tıkalı (n=81)	1 Damar Tıkalı (n=47)	2 Damar Tıkalı (n=71)	3 Damar Tıkalı (n=44)
TAG (mg/dL)	125 (117-162)	116 (128-177)	108 (105-175)	157 (155-217)	179 (155-225)
TK (mg/dL)	211 ± 42 <sup>a**</sup>	205 ± 41	186 ± 38	223 ± 45	213 ± 45
LDL-K (mg/dL)	142 (130-152) <sup>b**</sup>	127 (119-137)	111 (104-127)	134 (135-158)	139 (125-152)
HDL-K (mg/dL)	41 (39-44)	45 (44-50)	42 (39-49)	40 (39-44)	38(36-43)
EMK (µg/mg Prt)	608 (533-744) <sup>c*,d*</sup>	663 (699-979)	685 (678-957)	661 (716-1044)	658 (547-921)
hsCRP (µg/mL)	0,18 (0,3-1,01)	0,33 (0,36-0,72)	0,44(0,38-0,61)	0,41(0,47-1,04)	0,31(0,21-1,28)

\*: p<0.05 ve \*\*: p< 0.01. Ortanca ve çeyrekler arası aralık [ortanca (%25-%75)] değerleri verildi. TK için X ve SD değeri verildi.

- a: Sağlıklı kontrol ile 1 damarı tıkalı grup,  
b: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup,  
c: Sağlıklı kontrol ile 0 damar tıkalı grup,  
d: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup karşılaştırılması.

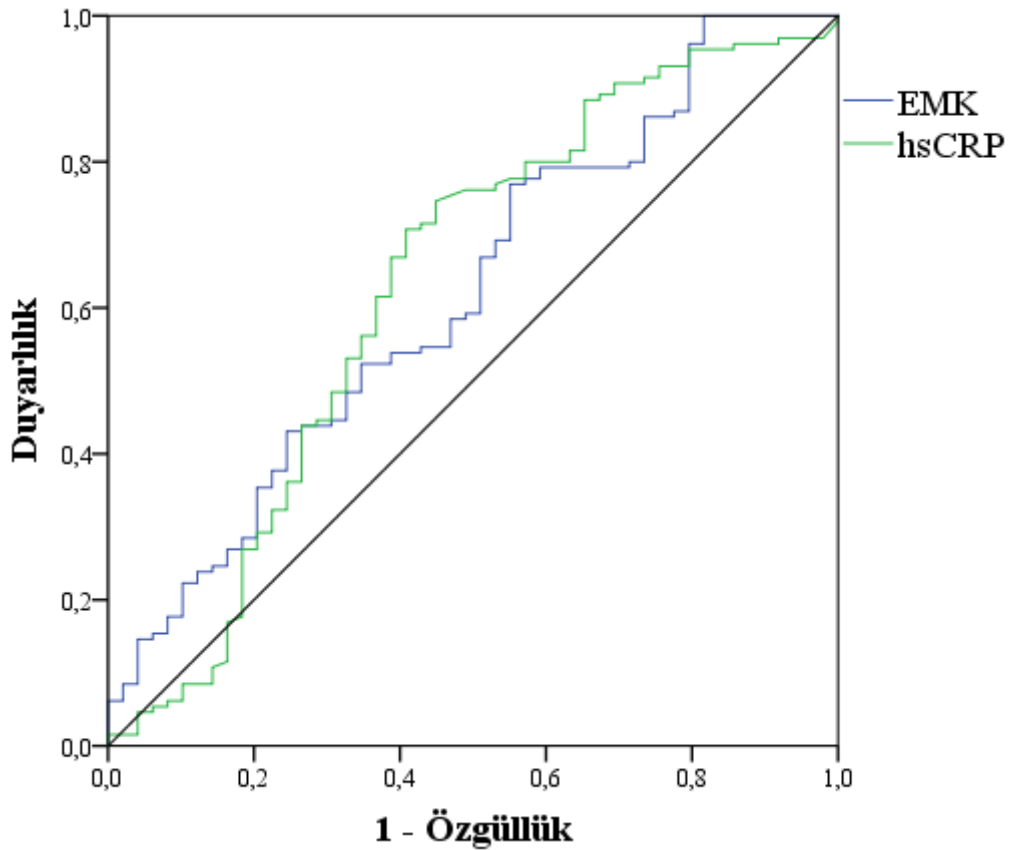


\*: p< 0.05 ve \*\*: p< 0.01

- a: Sağlıklı kontrol ile 1 damarı tıkalı grup,  
b: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup,  
c: Sağlıklı kontrol ile 0 damar tıkalı grup,  
d: Sağlıklı kontrol ile 1 damar tıkalı grup karşılaştırılması.

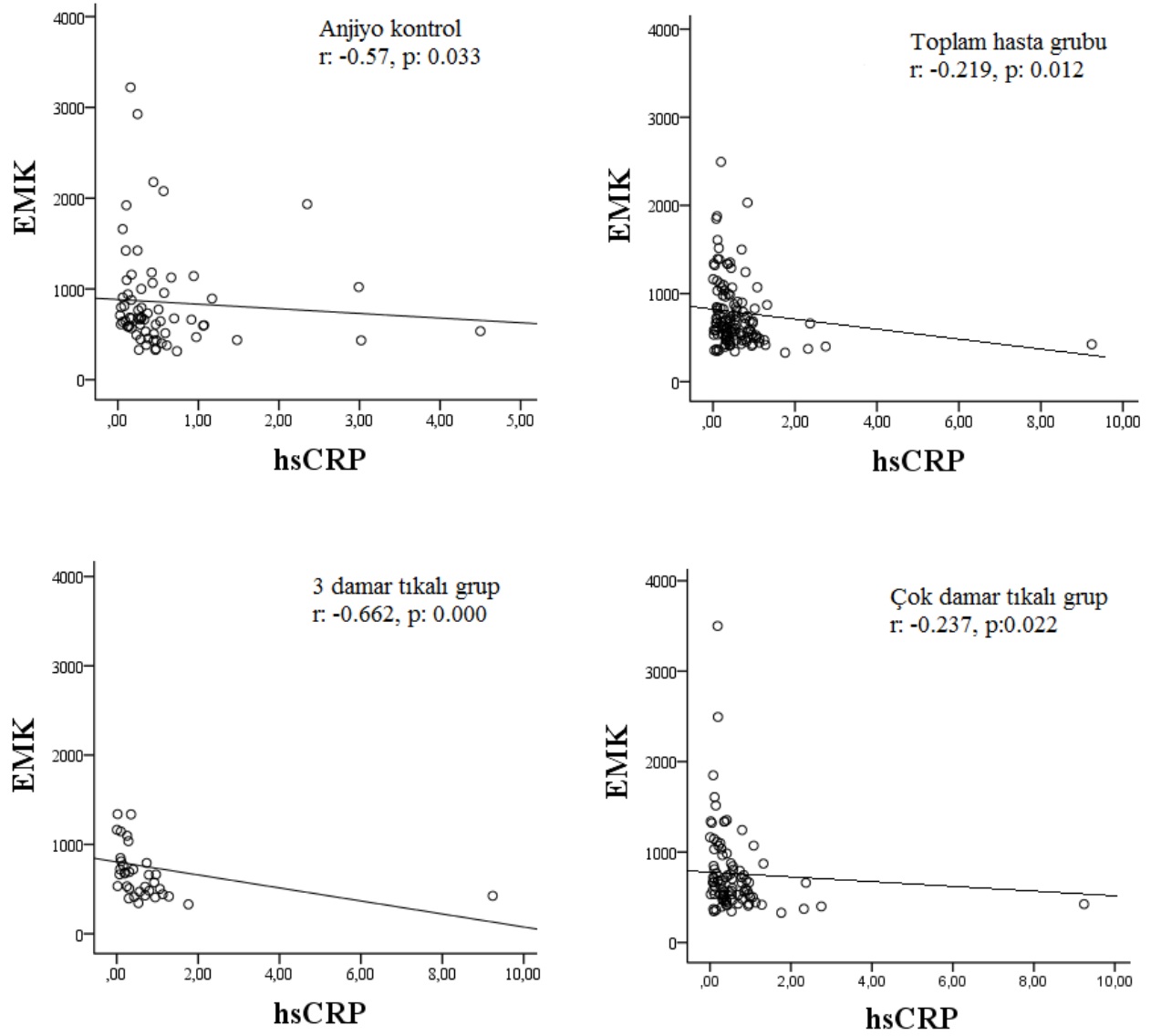
**Şekil 22.** Sağlıklı kontrol ve tıkalı damar sayısına göre oluşturulan grupların ölçülen parametrelerinin grafiği

ROC analizi; gruplar arası farklılık gösteren parametrelerin hastalık ve hastalık şiddetini önceden tahmin edebilecek potansiyeli olup olmadığını ortaya koymak için tasarlanmış bir istatistiksel uygulamadır. Bu bağlamda hsCRP ve EMK değişkenleri öne çıktığı için uygulamaya bu parametreler alınmıştır. Her iki değişken hasta grubunun ayırımında istatistiksel olarak anlamlı bir öngörü değerlerine sahip olduğu [hsCRP için AUC (Area Under Curves) değeri 0.630 ( $p < 0.007$ ) EMK için ise 0.618 ( $p < 0.018$ )] bulunmuştur. Ancak bu ROC alanları düşük düzeyde öngörü değeri olarak kabul edilmektedir. Diğer taraftan bu değişkenlerin hastalığın şiddetini önceden tahmin etme potansiyelinin ise olmadığı tespit edilmiştir. Koroner arter hastalığının gösterilmesinde EMK ve hsCRP değerlerinin ROC analiziyle karşılaştırılması Şekil 23'de gösterilmiştir.



Şekil 23. EMK ve hsCRP değerlerinin ROC grafiği

Çalışmamızda gruplarında analiz edilen EMK ile hsCRP değerleri arasında lineer bir korelasyon tespit edilmiştir. Anjiyo kontrol, toplam hasta, 3 damarı tıkalı ve çok damarı tıkalı gruplarında EMK ve hsCRP değerlerinin korelasyon grafikleri Şekil 24'te gösterilmiştir.



Şekil 24. Hasta gruplarının EMK/hsCRP değerlerinin korelasyon grafikleri

#### 4. TARTIŞMA

Koroner arter hastalığı (KAH ) endüstrileşmiş ülkelerde daha sık gözlenen ve erişkin ölümlerinin nedenleri arasında ilk sırada gelen bir hastalıktır. Ülkemizde KAH'na sahip 2 milyon kişi olduğu tahmin edilmekte ve her yıl yaklaşık 300 bin kişi bu hastalık nedeniyle hayatını yitirmektedir (Örem, 2001). KAH'ın patofizyolojisinin ana unsuru dinamik multifaktöriyel nedenleri içinde barındıran aterosklerotik bir süreçtir. Aterosklerozun etyolojisiyle ilgili bilgiler yeterince tatmin edici olmamakla birlikte, ileri sürülen bazı hipotezler vardır. Bunlardan en popüler olanı artmış plazma kolesterolünü (özellikle LDL-K) öne çıkaran lipit hipotezidir. Ancak ateroskleromatöz plaktaki lipit özünü oluşturan aselüler kolesterolün hangi kaynaktan sağlandığı net olarak açık değildir (Gamble, 2006). Değiştirilebilir koroner risk faktörlerinin giderilmesi veya erken dönemde kardiyovasküler olaylarla ilgili doğruluğu yüksek öngörülerde bulunmak, hastalığın mortalitesi ve morbiditesinde bir azalmaya neden olabileceği öne sürülmektedir (Uydu, 2001). KAH aktivitesinin öngörülmesinde yaygın olarak kullanılan geleneksel biyobelirteçlerin (plazma TG, TK, LDL ve HDL) yanında daha ileri lipoprotein analizleri (LDL ve HDL altfraksiyonları) ve bazı enflamatuar (hsCRP, IL-2, IL-6, TNF gibi) faktörleri içine alan biyobelirteçlerden de yararlanılmaktadır (Davidson, 2011). Kardiyovasküler olayların fizyopatolojisiyle ilişkili aktivitenin açıklanmasında son dönemde eritrosit zar kolesterolünün de yararlı olabileceği rapor edilmektedir (Namazi vd., 2014). Mevcut bu çalışmada koroner arter hastalığının varlığı ve ayrıca tıkalı damar sayısı üzerinden hastalığın şiddetini değerlendirilmesi, kanın hücresel (selüler) ve veziküler (aselüler) bileşenlerindeki kolesterol miktarları üzerinden gerçekleştirilmeye çalışılmıştır; eritrosit zar yapısındaki total kolesterol miktarı ve günümüzde en sık kullanıma sahip plazma lipoprotein kolesterol düzeyleri.

Bu çalışmanın planlanmasının sebebi öncelikle: hasta grubuna benzer demografik özellik gösteren sağlıklı grup ile semptomatik şikayeti olan ve tıkalı damar sayısından bağımsız toplam koroner arter hasta grubunda; ardında koroner arter hastalık şiddetini de tıkalı damar sayısı üzerinden bu değişkenlerin (selüler ve aselüler kolesterol) farklılıkları araştırmaktır. Lipit hipotezinin temel dayanağı düşük plazma HDL-K ve artmış TAG ile LDL-K düzeyleriyle karakterize dislipidemi tablosudur (Uydu vd., 2014). Aselüler kolesterolün temel göstergesi olan TK, LDL-K ve HDL-K değerleri sağlıklı kişilere göre hastalarda herhangi bir anlamlı farklılık belirlenmemiştir. Hastaların yaklaşık % 10'unun



antilipemik tedavi aldığı göz önünde bulundurulduğunda (kontrol grubunda ilaç kullanımı yok) çalışma gruplarında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı fark bulunmaması anlaşılabilir bir sonuçtur. Yine bu antilipemik tedavilerin plazma HDL-K düzeylerini artırması üzerinde etkilerinin çok sınırlı olduğu birçok çalışmalarda ortaya konduğundan bu lipoprotein fraksiyonunda da herhangi bir anlamlı farklılık bulunamamıştır. Diğer taraftan bu tedaviden etkilenmeyen plazma TAG seviyelerinin ise hasta grubunda daha yüksek çıkması ( $p<0.05$ ) beklenen bir sonuç olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın öncelikli konusu, selüler kolesterolün temsilcisi EMK miktarıdır ve bu kolesterol düzeyi hasta gruplarında kuvvetli anlamlılık düzeyinde yüksek çıkmıştır ( $p<0.001$ ). Yapılan araştırmalarda ateromatöz plak yapısında daha çok serbest kolesterol formunun bulunduğu gösterilmiştir (Kolodgie vd., 2003; Tziakas vd., 2012; Zhong vd., 2012). Aterom plak yapısında daha az bulunan esterleşmiş kolesterolün makrofaj kaynaklı köpük hücrelerden yani LDL-K kaynaklı olduğu, serbest kolesterolün ise hücresel kaynaklı özellikle eritrosit zar bileşeni (EMK) olarak plakta yer aldığı gösterilmiştir (Kolodgie vd., 2003). EMK'ün klinik kullanımda faydalı bir belirteç olabileceği özellikle KAH'nın subklinik veya stabil klinik görünümünden şiddetli şekli olan akut koroner sendroma (AKS) geçişi belirlemede geleneksel risk faktörlerine göre daha doğru bir bilgi verebileceği ileri sürülmektedir (Tziakas vd., 2008). Eritrositler kendine has hemoreolojik özelliklerinden dolayı zar yapısı mekanik strese karşı oldukça dayanıklıdır ve bu özelliği onun yüksek derecede bükülebilir (flexibility) olmasına dayanmaktadır. Bükülebilir özelliğini zar yapısındaki yüksek kolesterol miktarına borçludur. Diğer hücrelere göre kolesterol miktarları yaklaşık 2 kat daha yüksektir ve bu kolesterol zar yapısında ancak serbest şekilde bulunmaktadır. Koroner arteri besleyen ve arterin adventisya tabakasına açılan vasa vasorum kılcal damarında endotel harabiyeti sonrasında oluşan hemoraj, ateromatöz plak yapısına katkı sağladığı belirlenmiştir. Plak lipidlerinin büyük bir kısmını oluşturan serbest kolesterolün hemoraj sonrası eritrosit zarlarından kaynaklandığı ortaya konmuştur (Kolodgie vd., 2003; Tziakas vd., 2012). Son yıllarda eritrositlerden köken alan serbest kolesterolün aterosklerotik plak oluşumuna katkısı üzerine odaklanan çalışmalar yoğunlaşmıştır. Aterosklerotik plak oluşumunda en tehlikeli kolesterol türünün, monohidrat ya da kristal formdaki kolesterol olduğu tespit edilmiştir. Çünkü farmakolojik tedavi ile etkin bir şekilde uzaklaştırılmaları mümkün olmadığı gösterilmiştir. Serbest kolesterolün ilerlemiş plaklarda ve özellikle rüptür olasılığı yüksek olanlarda, bol miktarda bulunduğu anlaşılmıştır. Aterom plakta aşırı miktarda biriken eritrosit zarına karşı gelişen cevap, hemoraji sonrası

verilen cevaba benzediği, bu bölgenin dranjının yetersiz olması sonucunda uzaklaştırılmayan serbest kolesteroller kristalleşerek ilerlemiş koroner ateromların çoğunda gözlenen granülo-matoz bir yapıyı oluşturduğu düşünölmektedir. Sonuç olarak makrofajların yetersiz fagositik aktiviteleriyle birlikte plakta biriken eritrositler nekrotik çekirdeğın hem boyutunu hem de bileşimlerini etkileyeceği ileri sürölmüşür (Kolodgie vd., 2007).

Çalışmamızın diğer aşamasında ise normal sağlıklı gruplara göre semptomatik anjinası olan ancak koroner anjiyografisi normal olan kişilerde (anjiyo kontrol grubu) eritrosit zar kolesterolün düzeylerindeki değişim incelenmiştir. Sağlıklı kontrol grubuna göre anjiyo kontrol grubunda da EMK'nın anlamlı derecede yüksek çıkması ( $p < 0.01$ ) eritrosit kolesterolünün sadece ileri derecede aterom plağı hakkında değil stenozla sonuçlanmayan plak oluşumu hakkında da bazı öngörölere fırsat verebilecek potansiyeli olduğunun düşündörmektedir. Katz ve arkadaşları (Katz vd., 1976) plak oluşum sürecinde; yağlı çizgiden, ara plağa ve sonunda ilerlemiş plağa kadar serbest kolesterolde önemli bir artış olduğunu, Rapp ve arkadaşları (Rapp vd., 1983) ise aterosklerotik lezyonların oluşumu sürecinin artan serbest kolesterolle doğrudan ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu bilgiler aterom plak yapısının belli bir zaman periyodunca gelişen dinamik bir süreç olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan yapılan literatür araştırmalarında; kardiyovasküler olayların EMK ile ilişkisini ortaya koyan bir çok çalışmada kontrol grubu olarak sağlıklı kontrol grubu kullanıldığı için anjiyo kontrol grubuna ait bulguları literatür verileriyle karşılaştırmak mümkün olmamıştır.

Bu çalışmanın son aşamasında ise koroner arter hastalık şiddetini, tıkalı damar sayısı ile üzerinden EMK değerleriyle ilişkilendirme olmuştur. Hastalığın şiddeti; tıkalı damar sayısı ile tek ve çok damarı tıkalı şeklinde incelenmiştir. Sağlıklı kontrol grubuna göre hem 1 damarı tıkalı hem de  $\geq 2$  damarı tıkalı grupların eritrosit zar kolesterol değerlerinde anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ancak sağlıklı kontrol grubuna göre 2 ve 3 damarı tıkalı hasta gruplarında daha yüksek EMK düzeyleri belirlenmesine rağmen bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Bulgularımız Tziakas ve arkadaşlarının akut koroner sendromlu hastalarda yaptığı çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Bu araştırmacılar KAH şiddetini stenoz skorlama ve tıkalı damar sayısı üzerinden değerlendirmişler ve EMK'nın KAH şiddeti ve büyüklüğü ile ilişkili olmadığını ancak bu ilişkinin anjiyografik olarak belirlenen kompleks koroner lezyonla ilgili olabileceğini belirtmişlerdir (Tziakas vd., 2007). Namazi ve arkadaşları sonuçlardaki bu uyumsuzluğun

KAH'ın teşhisinde ve koroner stenoz derecelendirilmesindeki metot farklılıklardan kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür (Namazi vd., 2014). Bu sonuçlar EMK miktarının tıkalı damar sayısını ayırt etmede yeterince güçlü bir belirteç olmadığına işaret etse de çalışma alt gruplarını daha büyük sayılarda oluşturulması gruplar arasındaki bu artışı istatistiksel olarak anlamlı kılacağı ön görülmektedir.

C reaktif proteini (hsCRP) halka şeklinde pentamerik yapıya sahiptir. Başta pnömokok zarında yer alan fosfokoline bağlanma olmak üzere okside LDL, apoptotik/ölü hücreyi bağlama gibi fizyolojik rolü olan bir plazma proteinidir. Enflamasyon süresince CRP mikroorganizmalara bağlanarak onların yok edilmesini sağlar. Ayrıca endotel hücre yüzeyindeki lektin benzeri okside LDL reseptörüne de bağlandığı ve aterosklerotik lezyonda *de novo* olarak üretildiği gösterilmiştir. Bu yüzden kardiyovasküler olaylarda plazma LDL-K'ünden bağımsız olarak bir risk markörü olarak değerlendirilmekte ve enflamasyonun yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir. Yapılan çalışmalarda hsCRP düzeyinin gelecek 10 yıl içinde kardiyovasküler olay riskini tahmin etmede yaklaşık % 20'lik katkısı olabileceği ve özellikle kadınlarda lipit parametrelerine göre daha prediktif olduğu ileri sürülmüştür (Davidson, 2011). Çalışmamızda hsCRP kronik enflamatuvar bir patofizyolojiye sahip KAH'ında referans markör olarak değerlendirilmiştir. Beklenildiği gibi sağlıklı kontrol grubuna göre toplam hasta grubunun plazma hsCRP düzeyleri daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Ancak çalışmanın bütün alt grupları (sağlıklı kontrol/anjiyo kontrol/1-2-3 damarı tıkalı gruplar) arasında bu istatistiksel anlamlı fark tespit edilememiştir ( $p>0.05$ ). Özellikle sağlıklı kontrol grubu dışında diğer alt gruplarda kronik enflamasyonun belli bir düzeyde aktif olduğu göz önüne alınırsa istatistiksel olmayan bu farklılığın anlaşılır olduğu söylenebilir. Korelasyon analizi bulgularında alt gruplara ait hsCRP ile EMK arasında lineer bir ilişki tespit edilmesi, KAH ve şiddetini ortaya koymada bu iki parametrenin birlikte değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak yapılan ROC analizinde; EMK'nın sağlıklı kontrol ile toplam hasta grubunun ayırımında hsCRP ile benzer bir sensitivite gösterdiği görülmüş ancak her ikisinin hastalığın öngörü değerinin ideal olmaktan uzak olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada, eritrosit zar kolesterolünün KAH'ın gösterilmesi ve şiddetinin tıkalı damar sayısı üzerinden ortaya konulması düşünülmüştür. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, zar kolesterol düzeyi anjiyografik bulgulardan bağımsız olarak bütün hasta gruplarında daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde EMK miktarının tatmin edici bilgi veremediği bulunmuştur.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. SONUÇLAR

1. Çalışma gruplarının lipit profilleri incelendiğinde; sağlıklı kontrol grubu ile toplam hasta grubu arasında TAG değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).
2. Sağlıklı kontrol grubuna göre EMK düzeyleri anjiyo kontrol grubu, toplam hasta grubu ile 1 ve  $>1$  damarı tıkalı hasta gruplarında daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).
3. KAH şiddetinin gösterilmesi amacıyla oluşturulan anjiyo kontrol, 1 damar ve çok damar tıkalı gruplarda EMK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmamıştır ( $p<0.05$ ).
4. Yine KAH şiddetinin tıkalı damar sayısı üzerinden gösterilmesi amacıyla oluşturulan anjiyo kontrol, 1 damar, 2 damar ve 3 damar tıkalı gruplarda EMK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ( $p<0.05$ ).
5. KAH gösterilmesinde enflamatuar marker olarak çalışılan hsCRP değerleri sağlıklı kontrol grubu ile toplam hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0.05$ ).
6. Tüm çalışma gruplarında (sağlıklı kontrol, toplam hasta, anjiyo kontrol, 0, 1, 2 ve 3 damar tıkalı gruplar) TK, LDL, HDL ve hsCRP değerleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

### 5.2. ÖNERİLER

1. Sınırlı sayıda katılımcılardan oluşan hasta gruplarında, EMK düzeyleri tıkalı damar sayısı ile orantılı olarak anlamlı olmasa da arttığı için katılımcı sayısının artırılması bu değişimi anlamlı kılabilirdiğinden daha büyük çalışma gruplarının oluşturulması önerilmektedir.
2. EMK miktarı ile plazma lipoprotein yapısındaki kolesterol arasında, dinamik bir denge olduğu için lipoprotein alt fraksiyonları çalışılmalıdır.
3. Zar kolesterol mobilizasyonu, zar fosfolipit ve yağ asitleri bileşenleri tarafından etkilendiği için bu bileşenler analiz edilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Ahmadraji, T. and Killard, A., 2013.** The evolution of selective analyses of HDL and LDL cholesterol in clinical and point of care testing. *Analytical Methods*. Volume 5, Number 15, Pages 3603–3762.
- Atak, M., 2010.** Lipit Ve Lipoprotein Alt Sınıf Düzeylerinin Sağlıklı Kişilerde Ve Koroner Kalp Hastalarında İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 45 s.
- Akay, T., 2007.** Sitoloji. Palme yayıncılık, yayın no:304, 5. Baskı, ISBN: 975-8624-37-7, 182 S.
- Baykal, Y., Tüzün, A. Ve Kocabalkan, F., 1998.** Aterosklerozun Patogenezi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 18:360-368.
- Başaran, A., 2005.** Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı, Güneş & Nobel Tıp kitapevi, 7. Baskı, ISBN: 975-6466-07-3, 558 s.
- Çobanoğlu, S., 2011.** Deneysel Ateroskleroz Oluşturulmuş Sıçanlarda L-Argininin Tas, Tos Ve Oksidatif Stres İndeksine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, Türkiye, 93 s.
- Dalgıç, N. ve Yetkin, D., 1985.** Lipoproteinler, Yapı ve Fonksiyonları. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 5, 117-122.
- Davidson, M.H., 2011.** Clinical utility of inflammatory markers and advanced lipoprotein testing: Advice from an expert panel of lipid specialists. *Journal of Clinical Lipidology* Volume 5, Issue 5, Pages 338–367.
- Dodge, J.T., Mitchell, C. and Hanahan, D.J. (1963).** The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys* 100:119–130.

**Dursunoğlu, D., Evrengöl, H., Kaftan, A., Kılıç, M. Ve Sermez, Y., 2004.** Koroner ateroskleroz ve diyabet. Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi, 17:55-60.

**Ermış, C., Kılıçkap, M. ve Tuzcu, M., 2002.** Koroner Ateroskleroz Tanısında Damariçi Ultrason. Türk Kardiyoloji Derneği, 30; 254-264.

**Folch, J. and Stanley, S., 1957.** Extraction protocols of membrane lipids from different sources. Manual on membrane lipids, ISBN 3-540-59448-5, 39-40.

**Gamble, W., 2006.** Atherosclerosis: The carbonic anhydrase, carbon dioxide, calcium concerted theory. Journal of Theoretical Biology 239: 16–21.

**Garcia, P., İriarte, M. And Gonzalez, M., 2015.** Venas, Arterias y Capilares

**Gürdol, F., 2015.** Tıbbi Biyokimya. Nobel Tıp kitapevleri, ISBN: 978-605-335-159-7.

**Hergenç, G., 2012.** Kan Yağları, Kolesterol, Ateroskleroz ve Risk Faktörleri. Nobel Tıp kitapevi, ISBN: 978-975-420-924-2, 344 s.

**Karp, G., 2006.** Cell and Molecular Biology. 6th edition, 837 p.

**Katz, S.S., Shipley G.G. and Small D.M., 1976.** Physical chemistry of the lipids of human atherosclerotic lesions. Demonstration of a lesion intermediate between fatty streaks and advanced plaques. J Clin Invest; 58:200–211.

**Keha, E. Ve Küfrevioğlu, İ., 2007.** Biyokimya. Aktif yayınevi, 5. Baskı, ISBN: 978-975-8986-20-0, 647 s.

**Koçyiğit, D. ve Özer, N., 2016.** Plazma Lipoproteinleri: Metabolizması ve Bozuklukları. Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Özel Konular, 9(4), 1-17.

**Kolodgie, F.D., Gold, H.K., Burke, A.P., Fowler, D.R., Kruth, H.S., Weber, D.K., Farb, A., Guerrero, L.J., Hayase, M., Kutys, R., Narula, J., Finn, A.V. and Virmani, R., 2003.** Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med.* 349(24):2316-25.

**Kolodgie, F.D., Burke, A.P., Nakazawa, G., Cheng, Q., Xu, X. And Virmani, R., 2007.** Free Cholesterol in Atherosclerotic Plaques: where does it come from? *Current Opinion in Lipidology*, 18, 500-507.

**Kültürsoy, H., 2001.** Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Koruma, Yayınlayan: ARGOS İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret A.Ş., ISBN: 975-596-007-4, 590 s.

**Lowry, O.H., Rosebrough N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.

**Namazi, G., Pourfarzam, M., Rad, J.S., Attar, M.A., Sarrafzadegan, N., Sadeghi, M., and Asa, P., 2014.** Association of the Total Cholesterol Content of Erythrocyte Membranes with the Severity of Disease in Stable Coronary Artery Disease. Volume 2014 (2014), Article ID 821686, 6 pages.

**Nelson, D. and Cox, M., 2005.** Lehninger principles of biochemistry. 4th edition, 1120 p.

**Noyan, A., 2010.** Yaşamda Ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan anonim şirketi, ISBN: 978-975-7746-10-2, 18. baskı.

**Onat, T., 2006.** Sağlık Bilimleri İçin Biyokimyaya Giriş. Palme yayıncılık, yayın no: 409, 1. Baskı, ISBN: 9944-341-09-6, 358 s.

**Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E., 2006.** İnsan Biyokimyası. Palme yayıncılık, yayın no:211, 2. Baskı, ISBN: 975-8624-20-2, 813 s.

**Onat, A., 2009.** TEKHARF çalışması 2009. Figur grafik ve matbaacılık Tic. Ltd. Şti. İstanbul. 24.

- Ott, P., Binggeli, Y. And Brodbeck, U., 1981.** A Rapid and sensitive assay for determination of cholesterol in membrane lipid extracts. *Biochimica et Biophysica acta*, 685: 211-213.
- Örem, C., 2001.** Hiperlipidemi Tedavisinin Serum Okside Ldl Otoantikör Düzeyine Etkisi Ve Bunun Plazma Total Antioksidan Kap Asite Ve Ldl Oksidasyon Kapasitesiyle İlişkisi. Uzmanlık Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Trabzon, Türkiye, 47 s.
- Rapp, J.H., Connor, W.E., Lin, D.S., Inahara, T. and Porter, J.M., 1983.** Lipids of human atherosclerotic plaques and xanthomas: clues to the mechanism of plaque progression. *J Lipid Res*; 24:1329–1335.
- Robbins, S.L. and Cotran, R.S., 2005.** *Pathologic Basis Of Disease*. 7th. edition. International Edition ISBN 0-8089-2302-1.
- Stryer, L., Berg, J.M. and Tymoczko J.L., 2012.** *Biochemistry*. Palgrave macmillan. 7th. edition. ISBN: 978-1-4292-7635-1.
- Suryaatmadja, M. 2015.** Mana yang lebih baik sebagai faktor risiko kardiovaskular, apolipoprotein atau kolesterol lipoprotein?, Himpunan Kimia Klinik Indonesia.
- Toker, M., 2000.** Eritrosit Membran Lipit Bileşimi Üzerine Sigaranın Etkisi. Doktora Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, Türkiye, 65 s.
- Tziakas, D.N., Kaski, J.C., Chalikias, G.K., Romero, C., Fredericks, S., Tentis, I.K., Kortsaris, A.X., Hatseras, D.I. and Holt, D.W., 2007.** Total Cholesterol Content of Erythrocyte Membranes Is Increased in Patients With Acute Coronary Syndrome. *Journal of the American College of Cardiology* Vol. 49, No. 21.
- Tziakas, D.N., Chalikias, G.K., Stakos, D., Tentis, I.K., Chatzikyriakou, S.V., Mitrousi, K., Kortsaris, A.X., Boudoulas, H. and Kaski, J.C., 2008.** Cholesterol composition of erythrocyte membranes and its association with clinical presentation of coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2008 Dec;19(8):583-90.



**Tziakas, D., Chalikias, G., Grapsa, A., Gioka, T., Tentis, I. and Konstantinides, S., 2012.** Red blood cell distribution width: a strong prognostic marker in cardiovascular disease: is associated with cholesterol content of erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc.* 51(4):243-54.

**URL-1, 2017.** <http://slideplayer.com/slide/8628980/>. Cell membrane, 6. slide (22 Mayıs 2017).

**URL-2, 2017.** <http://www.math.utah.edu/~gamez/files/ROC-Curves.pdf>. Using the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve to analyze a classification model (10 Temmuz 2017).

**Uydu, H.A., 2001.** Farklı Plazma Lipit Bileşimlerinin Kan Hücreleri Üzerine Oluşturduğu Yapısal Ve Fonksiyonel Değişikliklerin İncelenmesi. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 98 S.

**Uydu, H.A., Bostan, M., Atak, M., Yılmaz, A., Demir, A., Akçan, B., Sümer, F., Baltaş, N., Karadağ, Z., Uğurlu, Y. Ve Örem, A., 2014.** Cholesterol Forms and Traditional Lipid Profile for Projection of Atherogenic Dyslipidemia: Lipoprotein Subfractions and Erythrocyte Membrane Cholesterol. *Membrane Biol* 247:127–134.

**Virmani, R., Kolodgie, F.D., Burke, A.P., Farb, A. and Schwartz, S.M., 2000.** Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 20:1262–1275.

**Yardımcı, S., 1993.** Damar Sisteminin Yaşlanması, Aterosklerozun Etyopatogenezi ve Korunma Önlemleri. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi*, 6(3), 217-26.

**Zhong, Y., Tang, H., Zeng, Q., Wang, X., Yi, G., Meng, K., Mao, Y. and Mao, X., 2012.** Total cholesterol content of erythrocyte membranes is associated with the severity of coronary artery disease and the therapeutic effect of rosuvastatin. *Ups J Med Sci.* 2012 Nov;117(4):390-8.

## EKLER



### RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Koroner Arter Hastalığının ve Şiddetinin Değerlendirilmesinde Eritrosit Membran Kolesterol Miktarının Önemi”
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	89

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI	04.05.2017	89	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU		<input type="checkbox"/>	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
Karar Bilgileri	<b>Karar No: 2017/76</b>		<b>Tarih: 05.05.2017</b>			
	Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna “ <b>salt çoğunluğu</b> ” ile karar verilmiştir.					
<b>RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI		Doç.Dr.Ömer ŞATIROĞLU				

Unvan/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç.Dr.Ömer ŞATIROĞLU(Başkan)	Kardiyoloji	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	-----
Yrd.Doç.Dr.Atilla TOPÇU(Raportör)	Tıbbi Farmakoloji	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Remzi Adnan AKDOĞAN	İç Hastalıkları	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Hüseyin Avni UYDU	Tıbbi Biyokimya	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	-----
Doç.Dr.Teslime AYAZ	İç Hastalıkları	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr.Ahmet ŞEN	Anestezi ve Reanimasyon	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr.Hüseyin EREN	Üroloji	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. Vaner KÖKSAL	Beyin ve Sinir Has.	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet ALTUNTAŞ	Acil Tıp	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Şenol ŞENTÜRK	Kadın Hastalıkları ve Doğum	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hüseyin FINDIK	Göz Hastalıkları	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Suat TERZİ	Kulak-Burun-Boğaz Hastalıkları	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

## ÖZGEÇMİŞ

Esra PINARBAŞ, 13.04.1990 tarihinde Rize'nin Çayeli ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Rize'nin Pazar ilçesinde tamamladı. 2012 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2013 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda tezli yüksek lisansa başladı. 2015 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandı. Hâlen bu görevine devam etmektedir.

