



**T. C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**ORAK HÜCRE ANEMİLİ HASTALARDA YÜKSEK DANSİTELİ  
LİPOPROTEİN VE DÜŞÜK DANSİTELİ LİPOPROTEİN ALT GRUP  
ANALİZİ VE TERS KOLESTEROL TRANSPORTU İLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. YEŞİM CAN  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANLARI  
Doç. Dr. Oktay Hasan ÖZTÜRK  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN**

**HATAY – 2013**

**T. C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**ORAK HÜCRE ANEMİLİ HASTALARDA YÜKSEK DANSİTELİ  
LİPOPROTEİN VE DÜŞÜK DANSİTELİ LİPOPROTEİN ALT GRUP  
ANALİZİ VE TERS KOLESTEROL TRANSPORTU İLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Yeşim CAN  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANLARI  
Doç. Dr. Oktay Hasan ÖZTÜRK  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından  
1204 U 0104 proje numarası ile desteklenmiştir**

# TEZ ONAY SAYFASI

T. C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**Tez Adı: ORAK HÜCRE ANEMİLİ HASTALARDA YÜKSEK DANSİTELİ  
LİPOPROTEİN VE DÜŞÜK DANSİTELİ LİPOPROTEİN ALT GRUP ANALİZİ VE  
TERS KOLESTEROL TRANSPORTU İLE İLİŞKİSİ**

**Tezi Hazırlayanın Adı: Dr. Yeşim CAN**

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....  
Prof. Dr. Ali Özcan  
Tıp Fakültesi Dekan V.

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....  
Doç. Dr.O.Hasan ÖZTÜRK  
Tez Danışmanı

.....  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN  
Tez Danışmanı

**TEZ JÜRİSİ:**

- 1.
- 2.
- 3.

# İÇİNDEKİLER

	SAYFA
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLO DİZİNİ.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Orak Hücre Anemisi.....	4
2.1.1. Tanım.....	4
2.1.2. Epidemiyoloji.....	6
2.1.3. Patofizyolojisi.....	7
2.1.4. Klinik Seyir.....	9
2.2. Lipoproteinler.....	11
2.2.1. Yüksek Dansiteli Lipoprotein.....	13
2.2.2. Ters Kolesterol Transportu.....	15
2.2.3. Yüksek Dansiteli Lipoprotein Alt Grupları.....	19
2.2.4. Düşük Dansiteli Lipoprotein .....	19
2.2.5. Düşük Dansiteli Lipoprotein Yolağı.....	20
2.2.6. Düşük Dansiteli Lipoprotein Alt Grupları.....	22
2.3. Apolipoproteinler.....	22
2.3.1. Apolipoprotein A.....	23
2.3.2. Apolipoprotein B.....	24
2.3.3. Apolipoprotein C.....	25
2.3.4. Apolipoprotein E.....	25
2.4. Ateroskleroz.....	26
2.5. Orak Hücre Anemisi ve Ateroskleroz.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Laboratuvar parametrelerinin ölçülmesi.....	31
3.2. Lipoprotein alt grup analizlerinin yapılması.....	31

3.2.1 Yüksek yoğunluklu lipoprotein analizlerinin yapılması...	31
3.2.2 Düşük yoğunluklu lipoprotein analizlerinin yapılması....	33
3.3. Kolesterol ester transfer proteininin ölçümü.....	34
3.4. Lesitin kolesterol açıl transferazın ölçümü.....	34
3.5. Apolipoprotein A-I ölçümü.....	35
3.6 Apolipoprotein B ölçümü.....	35
3.7. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	54
7. KAYNAKLAR.....	56
8. ÖZGEÇMİŞ.....	71

## TABLO DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1:</b> Normal ve OHA hastalarında hemoglobin tipleri karşılaştırılması	5
<b>Tablo 2:</b> OHA'ya bağlı kronik organ harabiyeti ve görülme sıklığı	11
<b>Tablo 3:</b> Lipoproteinler ve özellikleri	13
<b>Tablo 4:</b> Apolipoproteinlerin sınıflandırılması	23
<b>Tablo 5:</b> Kontrol ve Hasta grubunun demografik özellikleri	37
<b>Tablo 6:</b> Kontrol Grubu ve Orak Hücre Anemisinde Lipid Profili	38
<b>Tablo 7:</b> Kontrol Grubu ve Orak Hücre Anemisinde HDL alt grup analizi	38
<b>Tablo 8:</b> Kontrol Grubu ve Orak Hücre Anemisinde LDL Alt Grup Analizi	41

## ŞEKİL DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1:</b> Hemoglobin S'in aminoasit diziliminde baz değişimi	5
<b>Şekil 2:</b> Lipoprotein partikülünün yapısı	12
<b>Şekil 3:</b> HDL'nin yapısı	14
<b>Şekil 4:</b> Ters kolesterol transportu	16
<b>Şekil 5:</b> CETP ve HDL siklusu	17
<b>Şekil 6:</b> LDL'nin Yapısı	20
<b>Şekil 7:</b> OHA hasta ve kontrol grubu HDL küçük / HDL büyük oranı	39
<b>Şekil 8:</b> OHA ve kontrol grubuna ait HDL alt grup analizi için jel görünümü	39
<b>Şekil 9:</b> Kontrol grubuna ait bir örneğin HDL alt grup dansitometrik taraması	40
<b>Şekil 10:</b> OHA grubuna ait bir örneğin HDL alt grup dansitometrik taraması	40
<b>Şekil 11:</b> OHA ve kontrol grubuna ait LDL alt grup analizi için jel görünümü	41
<b>Şekil 12:</b> Kontrol grubuna ait bir örneğin LDL alt grup dansitometrik taraması	42
<b>Şekil 13:</b> OHA hasta grubuna ait bir örneğin LDL alt grup dansitometrik taraması	42
<b>Şekil 14:</b> Kontrol ve hasta grubunda serum LCAT değerleri	43
<b>Şekil 15:</b> Kontrol ve hasta grubunda serum CETP değerleri	44
<b>Şekil 16:</b> Kontrol ve hasta grubunda serum apoA-1 değerleri	44
<b>Şekil 17:</b> Kontrol ve hasta grubunda serum apoB değerleri	45
<b>Şekil 18:</b> OHA hasta ve kontrol ApoB/ Apo-AI oranı	45

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gamma
ABCA1	ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1
ApoA-1	Apolipoprotein A-1
ApoB	Apolipoprotein B
CETP	Kolesterol ester transfer protein
CRP	C-reactive protein
G6PDH	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
Hb	Hemoglobin
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HDL-I	Ara HDL
HDL-L	Büyük HDL
HDL-S	Küçük HDL
ICAM-1	İnterselüler adezyon molekülü 1
IDL	Ara dansiteli lipoprotein
IL-1	Interlökin 1
IL-6	Interlökin 6
ISC	Geri dönüşümsüz oraklaşmış hücre
KAH	Koroner arter hastalığı
KCC	Potasyum klor kotransportu
LCAT	Lesitin kolesterol açıl transferaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LDL-I	Ara LDL
LDL-L	Büyük LDL
LDL-S	Küçük LDL
LDL-VS	Çok küçük LDL
Lp(a)	Lipoprotein a
OHA	Orak Hücre Anemisi
SR-B1	Scavenger reseptör sınıf B tip 1
TK	Total kolestrol
TNF-Alfa	Tümör Nekroz Faktör Alfa
VCAM-1	Vasküler hücre adhezyon molekülü 1
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein



## **TEŞEKKÜR**

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen, başta bölüm başkanı saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Zafer YÖNDEN olmak üzere çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. Ali Özcan'a, Doç. Dr. O.Hasan ÖZTÜRK'e, Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR'a teşekkür ederim.

Seçilmesinden hazırlanışına kadar tezimin her aşamasında yardımlarını ve desteğini, asistanlığım boyunca da bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen tez danışmanım ve saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. O. Hasan ÖZTÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında yardımlarından dolayı Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Mutay Aslan'a ve Uzman Dr. Serdar Doğan'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmam sırasında yardımlarından dolayı Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan doktor arkadaşlarıma, teknisyen arkadaşlarıma ve benden maddi-manevi desteklerini eksik etmeyen canım annem, babam ve kardeşime çok teşekkür ederim.

**Yeşim CAN**

**HATAY/2013**

## ÖZET

**Amaç:** Orak hücre anemisi (OHA), vasküler seviyede kronik inflamasyona sebebiyet veren, total kolesterol (TK), HDL ve LDL seviyelerinde azalma ile karakterize hipolipidemik bir lipid tablousunun görüldüğü bir hemoglobinopatidir. Literatürde OHA’inde hipolipidemik bir lipid tablousu görülmesine rağmen ateroskleroza meyil olduğuna dair çelişkiler mevcuttur. Bu çalışmada, OHA’inde HDL ve LDL alt grup analizi ve ters kolesterol transportu ile ilişkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmaya 18 yaş altı hastalar (n=45) ve sağlıklı bireyler (n=38) dahil edildi. Tüm hastaların serum örneklerinden TK, HDL, LDL, trigliserid, HDL ve LDL alt grup değerleri, lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT), kolesterol ester transfer protein (CETP), ApolipoproteinA-1 (ApoA-1), ApolipoproteinB (Apo B) seviyeleri ölçüldü.

**Bulgular:** OHA grubunda TK, LDL ve HDL seviyeleri istatistiksel olarak düşük, trigliserid seviyeleri yüksek tespit edildi ( $p<0,001$ ). OHA’li hastaların LCAT ( $p<0,001$ ) ve ApoA-1 ( $p:0,001$ ) seviyeleri düşük tesbit edildi. CETP ve ApoB seviyeleri bakımından gruplar arasında farklılık tespit edilmedi. Genel olarak HDL alt grup değerleri OHA hasta grubunda düşük bulundu. Her bir hastanın HDL-küçük alt grup değerleri HDL-büyük alt grup değerlerine oranlanarak kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi. OHA hasta grubunda LDL-1 alt grubu ( $p:0,002$ ) anlamlı olarak düşük bulundu.

**Sonuçlar:** OHA hastalarda kontrole göre total HDL, ApoA-1 ve LCAT değerlerinin düşük olması, total LDL’nin düşük olmasına rağmen antiaterojenik profile sahip LDL-1’in düşük olması OHA’li hastalarda ateroskleroza meyil olduğunu düşündürmektedir. Ancak aterojenite indeksi olarak HDL küçük/ HDL büyük oranı ve ApoB/ApoA-1 oranına baktığımızda hasta ve kontrol grubu arasında fark olmaması OHA ve ateroskleroz arasındaki tartışmalı ilişkiyi devam ettirmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Orak Hücre Anemisi, LCAT, CETP, ApoA-1, Apo B, HDL alt grupları, LDL alt grupları

## ABSTRACT

**Aim:** Sickle cell anemia (SCA) is an hemoglobinopathy characterized by decreased levels of total cholesterol (TC), HDL and LDL levels. It causes chronic inflammation at vascular level, and hypolipidemic lipid panel. However, there are contradictions about predisposing to atherosclerosis. In this study, HDL and LDL sub-group analysis and reverse cholesterol transport in SCA were aimed to investigate.

**Methods:** Patients, who suffer from SCA (n=45), and controls (n=38) under the age of 18 were included the study. TC, HDL, LDL, triglycerides, HDL and LDL sub-group analysis, lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT), cholesterol ester transfer protein (CETP), Apolipoprotein-A1 (ApoA-1), and ApolipoproteinB (ApoB) levels were measured from the samples.

**Results:** TC, LDL, and HDL levels were significantly lower, although triglyceride levels were higher in SCA group ( $p < 0.001$ ). LCAT ( $p < 0.001$ ) and ApoA-1 ( $p = 0.001$ ) were found significantly within lower levels in SCA. There was not any significant difference between the groups in terms of CETP and ApoB levels. In general, low HDL sub-group values were found in SCA. There was no statistically significant difference compared with the control group after proportioning values of HDL-largest sub-group to HDL-small sub-group of values for each patient. Both LDL-1 sub-group ( $p = 0.002$ ) and were significantly lower in SCA group

**Conclusions:** Lower values of total HDL, LCAT and ApoA-1 and lower values of LDL-1, which has anti-atherogenic profile, despite the low levels of total LDL in SCA, suggested existence of slope to atherosclerosis in SCA. However, the controversial relationship between SCA and atherosclerosis has been going on, because no difference was seen between the patients and the controls on checking HDL small / HDL large and ApoB / ApoA-1 ratios as an atherogenic index.

**Keywords:** Sickle Cell Anemia, HDL sub-groups, LDL sub-groups, LCAT, CETP, ApoA-1, ApoB

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Orak hücre anemisi (OHA), ilk olarak 1910 yılında tanımlanmış olup Akdeniz ülkeleri (Türkiye, İtalya, Yunanistan) ve Ortadoğu'da sık görülmektedir (1). OHA; kalıtsal, otozomal resesif iletilen bir kan hastalığı olup hemoglobinin sentez bozuklukları arasında en sık görülenidir. Bozukluk globin sentezi sırasında zincirin 6.konumundaki glutamik asidin valin ile yer değiştirmesine neden olan nokta mutasyon sonucu gelişen anormal hemoglobin (Hb) sentezi ile ilgilidir. Anormal globin sentezi sonucunda Hb S 'in meydana gelmesi ile eritrositler çeşitli nedenlerle normal şeklini kaybederek orak hücre haline dönerler (2). Oraklaşan eritrositler küçük damarlarda tıkanıklık yaparak, eritrositin küçük damarları geçebilme yeteneğini bozar; vasküler yatağın tıkanması ve konjesyonu takiben doku hasarı ve infarktüsle sonuçlanabilir. Doku iskemisi, kemik, akciğer, karaciğer, böbrek, beyin ve göz gibi organları etkileyebilir. Hastalığın başlıca bulguları; kronik hemolitik anemi, tekrarlayan ağrılı ataklar ve etkilenen organlarda meydana gelen işlev bozukluğudur. Hastalarda görülen akut vazo-oklüziv ağrılı krizler bu hastalığa bağlı hastaneye başvuruların en sık nedenidir (3).

Orak hücre anemisinde lipid ve lipoprotein metabolizması değişmektedir. Bu hastalarda düşük total kolesterol (TK), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) seviyeleri ile karakterize hipolipidemik bir lipid tablosu görülmektedir (4). HDL ve Apolipoprotein A-I (ApoA-I) seviyelerinde azalma, endotelial hücre adezyon moleküllerinin aktivasyonu gibi ateroskleroz için bilinen bazı risk faktörleri OHA'deki vaskülopati ile ilişkilidir (5). Ancak kronik inflamasyonla seyreden OHA'sinin ateroskleroz ile ilişkisi tartışmalıdır (6). HDL yapı ve işlevsellik olarak heterojen alt gruplardan oluşan bir lipoproteindir (7).

HDL'nin ateroskleroza karşı koruyucu rolü; ters kolesterol taşınımı olarak adlandırılan ve fazla kolesterolü periferik dokulardan karaciğere geri taşıyan bir transport olayında yer almasından ileri gelmektedir. Ters kolesterol taşınımı birden fazla basamak içerir. Bunlar sırasıyla; serbest kolesterolün hücrelerden HDL'ye aktarımı, HDL'de serbest kolesterolün lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT) enzimi tarafından esterleştirilmesi ve ester kolesterolün kolesterolester transfer protein (CETP) aracılığı ile Apolipoprotein B (ApoB) içeren lipoproteinlere çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), ara dansiteli lipoprotein (IDL) ve LDL'e transferidir (8). Yüksek HDL düzeylerinin koroner arter hastalığı (KAH) gelişimine karşı koruyucu bir rol oynadığı yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir (9). Ancak kardiyovasküler riski belirlemede HDL alt grup değerleri HDL kolesterolden daha önemlidir (7). HDL; yoğunluğuna göre büyük boyutlu HDL2 ve küçük yoğun HDL3 olarak, elektroforetik hareketliliğine göre pre- $\beta$ ,  $\alpha$ , pre- $\alpha$  olarak, lipoprotein içeriğine göre ApoA-I veya hem ApoA-I hem ApoA-II içeren HDL olarak ayrılabilir (10). Ayrıca poliakrilamid jel elektroforezi ile büyük HDL, ara HDL, küçük HDL olarak alt gruplara ayrılabilir (11). Büyük ve ara HDL alt grupları antiaterojenik, küçük HDL alt grubu ise aterojenik profile sahip alt grup olarak değerlendirilmektedir (11). Kardiyovasküler hastalıklarda büyük HDL<sub>2</sub>'de azalma, küçük HDL<sub>3</sub> ve pre- $\beta$  HDL'de artma görülmektedir (12). Serum total kolesterolünün yaklaşık üçte ikisini oluşturan LDL, serumda bulunan kolesterolün major aterojenik bölümünü meydana getirir. Partikül büyüklüğü, dansite ve kimyasal içerik bakımından LDL alt gruplara ayrılmaktadır. LDL; grup 1 ve 2 büyük LDL, grup 3-7 küçük yoğun LDL olmak üzere 7 alt gruba ayrılmaktadır (13). Küçük yoğun LDL'nin büyük boyutlu LDL'e nisbeten daha aterojenik olduğu bilinmektedir (14). Küçük LDL partikülleri; LDL reseptörleri için azalmış affinite göstermeleri, endotelial proteoglikanlara daha fazla bağlanmaları ve arteriyal intima tabakasına daha iyi penetre olmalarından dolayı daha aterojeniktir (15). LDL ve HDL alt gruplarının ölçümünün yapılması durumunda KAH riski daha spesifik ve sensitif olarak belirlenebilmektedir (7, 16).

Hipolipidemik lipid tablosu ile seyreden Orak hücre anemili hastaların ateroskleroz riski olduğuna dair çelişkili veriler literatürde mevcuttur. LDL ve HDL alt gruplarının ölçümünün yapılması durumunda ateroskleroz riski daha spesifik ve sensitif olarak belirlenebilmektedir. Ancak; literatürde kronik inflamasyonla

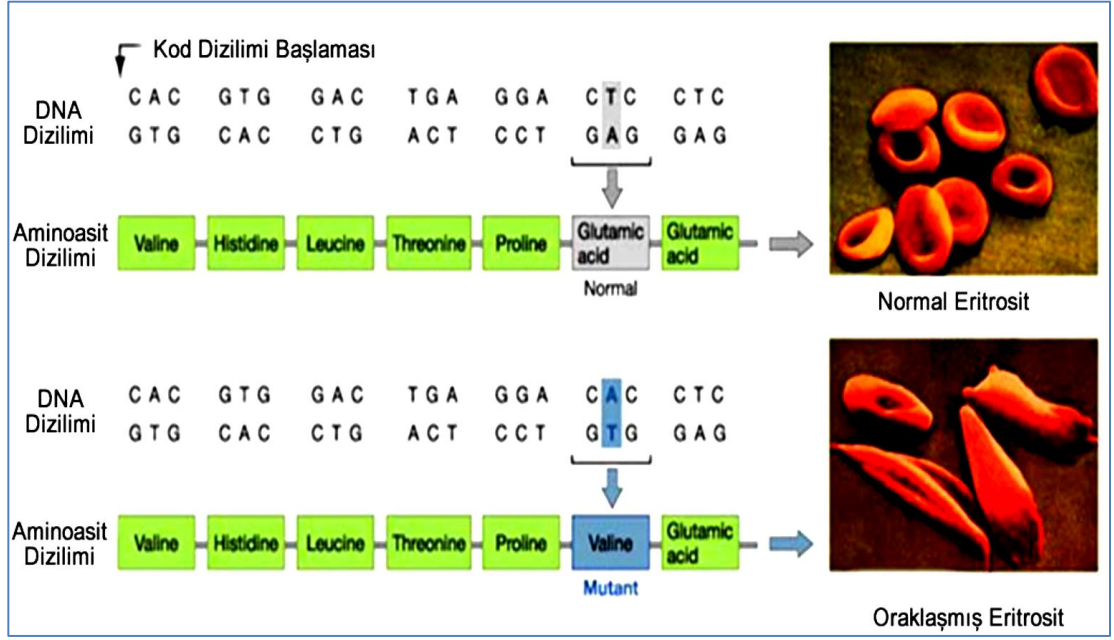
seyreden Orak hücre anemili hastaların HDL ve LDL alt grup analizinin ateroskleroz ile ilişkisini tanımlayacak veriler bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı; Orak hücre anemili hastalar ile sağlıklı bireylerin LDL ve HDL alt gruplarının analiz edilmesi ve ters kolesterol transportunda önemli rolleri nedeniyle LCAT, CETP, ApoA-I, ApoB değerleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Orak Hücre Anemisi

#### 2.1.1. Tanım

Orak hücre anemisi otozomal resesif kalıtımla geçiş gösteren, birçok sistemi etkileyen kronik ve hemolitik tipte bir anemidir. En sık görülen hemoglobinopati olan, OHA'si;  $\beta$  globin zincirini kodlayan gende meydana gelen mutasyondan kaynaklanmaktadır (17). Hb S, beta globin zincirinin amino (-NH<sub>2</sub>) terminal ucunda altıncı pozisyondaki asidik bir aminoasit olan glutamik asidin hidrofobik bir aminoasit olan valin aminoasidi ile yer değiştirmesiyle oluşur (2). (Şekil 1) Bu yapısal değişiklik Hb molekülünün yük dengesini değiştirdiği gibi fonksiyonel özelliklerini de pek çok açıdan etkiler ve değiştirir. Bu mutasyonun sonucu olarak yeterli oksijen olmadığı durumlarda özellikle kapiller bölgede Hb S polimerize olur ve katı kristal halinde çöker. Kırmızı kan hücreleri bikonkav disk şeklinden yarımay benzeri orak şeklini alır. Şekli bozulmuş olan kırmızı kan hücreleri dalakta erkenden yıkılır ayrıca kan akışkanlığını azaltarak özellikle küçük damarlarda tıkanıklığa yol açar (18).



**Şekil 1:** Hemoglobin S'in aminoasit diziliminde baz değişimi (19)

Hemoglobin, dokulara oksijeni dağıtır. Eritrositlerin içinde yüksek yoğunlukta bulunan hemoglobin; eritrosite şeklini koruma ve şekil değiştirebilme yeteneği sağlar (20). Normal insan hemoglobininde 4 tane polipeptid zinciri ve 4 tane hem grubu bulunur. Polipeptid zincirleri 2 tane alfa ve 2 tane beta zincirinden oluşmaktadır. Erişkinlerde bulunan temel hemoglobin Hb A'dır ve Hb A<sub>2</sub> miktarı çok azdır. Fetal hayat boyunca Hb F düzeyi yüksektir ve doğumdan sonra eritrosit içindeki oranı azalır (21).

**Tablo 1:** Normal ve OHA'si hastalarındaki hemoglobin tiplerinin karşılaştırılması (22)

Fenotip	Hemoglobin Tipi	Yüzdesi (%)
Normal erişkin	HbA HbF HbA <sub>2</sub>	96-98 0,5-0,8 1,5-3,2
Orak hücre taşıyıcılığı (heterozigot)	HbAS	HbA: 60-65 HbS: 35-40 HbF: 2-20
Orak hücre hastalığı (homozigot)	HbSS	HbS: 80-90 HbF: 2-20 HbA <sub>2</sub> : 2-4 HbA: yok



Hemoglobinopatiler anormal hemoglobin sentezi ile oluşan değişikliklerin sonucunda meydana gelir. Hemoglobinopatiler beş temel grupta incelenmekte olup bunlar içinde en sık rastlanılanı talasemiler (globin zincir sentez bozukluğu) ve orak hücre sendromlarıdır (yapısal hemoglobinopatiler). Bir globin zincirinin aminoasit sırasını değiştiren mutasyon sonucu orak hücre anemisinin de içinde bulunduğu yapısal hemoglobinopatiler oluşur ve bu da hemoglobinin fizyolojik özelliklerini değiştirerek hastalığın tipik klinik belirtilerini oluşturur. Hastalığın ayrıca birleşik formları da bulunur. Bunlar S- $\beta$  talasemi, S- $\alpha$  talasemi, S-C ve S-D hastalığıdır (2).

### **2.1.2. Epidemiyoloji**

Yapılan çalışmalarda 700 anormal hemoglobin tanımlanmış olup bunlardan yaklaşık 2/3'ünün klinik olarak önemli olduğu gösterilmiştir. Dünyada hemoglobinopatilerin sıklığının %5.1 ve 266 milyon taşıyıcı olduğu tahmin edilmektedir. Bir halk sağlığı sorunu olan anormal hemoglobinlerin başlıcaları Hb S, Hb E, Hb D, Hb C ve Hb-Arab'dır (2).

En sık görülen hemoglobinopati olan OHA'si İtalya'nın güney, Yunanistan'ın kuzey ve Türkiye'nin güney bölgelerini kapsayan Akdeniz çevresindeki ülkelerde, Sicilya, Orta Doğu ve Hindistan'da da yaygın olarak görülmektedir. Afrikalı ve Amerikalı çocuklarda HbSS oranı % 0,14 taşıyıcılık oranı ise; % 8'dir.

Ülkemizde hemoglobinopatiler ile ilgili ilk çalışmalar, M. Aksoy tarafından 1950'li yıllarda Çukurova bölgesinde yaşayan Eti Türklerinde yapılmıştır (23). Ülkemizde yapılan tarama çalışmaları OHA'nin bazı bölgelerde daha sık olduğunu göstermektedir. Çukurova bölgesi ülkemizde OHA'nin en sık bulunduğu yöredir. Sağlık Bakanlığı ve Ulusal Hemoglobinopati Konseyi'nin verilerine göre taşıyıcı sıklığının Adana'da % 10.0, Antakya'da % 10.5, Mersin'de %13.6 ve ülkemizdeki toplam orak hücre hastalığı olan kişi sayısının yaklaşık 1200 civarında olduğu belirtilmiştir (24).

### 2.1.3. Patofizyoloji

HbS proteini oksijen bağladığında HbA ile benzer çözünlük gösterir. Ancak oksijenini bırakan, deoksi HbS molekülünün çözünlüğü azalır. HbS molekülleri deoksijene olduğu zaman, agregasyon ve polimerizasyona uğrar. Deoksijenasyonun devamı ile agregate olan HbS molekülleri eritrositte uzun, iğne şeklinde fibrillere dönüşür ve eritrositler orak şeklini alır (25-27). Orak şeklini alan eritrositler dolaşımın akışkanlığını azaltır ve kan akımı yavaşlar. Bu da özellikle küçük damarlarda tıkanıklık ve oksijensiz bir ortam oluşmasına yol açar. Oraklaşan hücrelerin bir kısmı geri dönüşümlü olup eski normal şeklini alabilir. Ancak bir kısmı ise hücre membranlarında oluşan kalıcı hasar nedeniyle normal şekline dönemezler. Bu hücreler ‘Geri dönüşümsüz oraklaşmış hücre’ veya ‘Irreversible sickled cells (ISCs) olarak adlandırılır. ISCs’ler damar tıkanıklığına yol açarak dokularda hipoksi oluşturup ağrılı kriz ve organ nekrozuna, sonuçta akut ve kronik süreçte doku harabiyetine neden olmaktadır (28).

Bazı etkenler oraklaşmaya eğilimi artırır. Bunlar; infeksiyonlar, parsiyel oksijen basıncında azalma, dehidratasyon, aşırı fiziksel egzersiz, alkol, gebelik, damar çapını azaltan durumlar, vücut ısısının artışı, kan yoğunluğunda artma, oksihemoglobin dağılım eğrisinin sağa kaymasına neden olan pH azalması, yüksek HbS, düşük HbF miktarı, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) eksikliği ve 2,3 difosfogliserat düzeyinin azalmasıdır (29).

Orak hücre hastalığının patogenezi üzerinde son zamanlarda yapılan çalışmalar oksijensiz ortamdaki HbS’nin polimerizasyonu ile vazo-oklüzyon arasında oluşan patolojik durumlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Hücresel düzeyde dehidratasyon, inflamatuvar yanıt ve reperfüzyon hasarı önemli patofizyolojik mekanizmalar gibi görünmektedir (30).

Vazooklüzyon: Orak hücre anemisinin fizyopatolojisinde rol oynayan en önemli faktördür. Bu vazooklüzyon hem mikrovasküler hem de makrovasküler dolaşımında olabilir. Vazooklüzyonda orak hücre polimerizasyonu, sellüler dehidratasyon, eritrosit deformabilitesi, mekanik frajilite gibi intrinsik faktörlerin yanı sıra, kan vizkozitesi, beyaz kürelere, endotele, hemostatik ve vasküler nedenlere bağlı ekstrinsik mekanizmalar da önemli rol oynar (30, 31).

Dehidratasyon: OHA'de oraklaşmada en önemli nedenlerden biri dehidratasyondur. Dehidratasyon sırasında Hb S göreceli olarak artar ve çok küçük artışlar bile polimerizasyonda 20-40 kat artışa yol açar. OHA'da artmış olan dehidratasyondan anormal membran transport sistemleri sorumludur (32).

Potasyum klor kotransportu (KCC) sistemi ile eritrositler gerektiğinde potasyum (K), klor (Cl) ve bunları izleyen su kaybıyla sıvı dengesini düzenlerler. Ancak sistemin anormal aktivasyonu dehidratasyona yol açar. OHA'da KCC aktivitesi artmış olarak bulunmuştur (32, 33). Orak hücre membranında bozulmuş transport fonksiyonu sonucunda hücre  $K^+$  ve su kaybeder, hücre yoğunluğu artar. Bu yoğun hücrelerde eritrosit Hb konsantrasyonu 50 g/dL 'ye ulaşabilir. Bu durumda SS Hb'lerin polimerizasyonu hızlanırken ISC oluşumu kolaylaşır. Özellikle ISC'lerde hücre içi kalsiyum düzeyi yüksektir.

Eritrositlerin membranında oksidatif hasar sonucu oluşan serbest radikaller, potasyum permeabilitesini arttırmaktadır. Böyle bir etki oksidatif hasarın derecesine bağlı olarak OHA'da eritrositlerde ciddi dehidratasyona yol açabilir (34).

Artmış Orak Hücre Adhezyonu: OHA'da orak hücrelerin vasküler endotele adhezyonu artmıştır (35). Orak hücrelerde very-late activation antigen-4 (VLA- $\alpha 4\beta 1$ ) ve CD36 olmak üzere iki adhezyon molekülü saptanmıştır (36). Özellikle  $\alpha 4\beta 1$ ; endotel hücrelere vasküler hücre adhezyon molekülü (VCAM-1) ile etkileşerek artmış olan adhezyonda önemli rol oynar (37). Endotel aktivasyonu veya hasarı olduğunda, orak eritrositlerin adezyon mekanizmasına trombositler ve polimorfonükleer lökositler de katılmaktadır (38). Yine artmış tümör nekroz faktör  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) düzeyleri orak hücre adezyonuyla ilişkili görülmüştür (39). Diğer yandan endotel hücrelerinin oksijensiz kalması, iskemi-reperfüzyon hasarının gelişmesi, mevcut immün yetmezlikle kronikleşen inflamasyon, adezyon moleküllerinin artışı ile belirginleşen orak hücre adezyonu tablosu da vazooklüzyonu desteklemektedir.

İnflamatuvar Durum ve Reperfüzyon Hasarı: OHA'sinde ortaya çıkan inflamatuvar durumun ve reperfüzyon hasarının hastalığın fizyopatolojisinde önemli rol oynadığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (40). OHA'da mortalite ve morbiditenin işareti olan lökositoz gibi bir dizi klinik tablonun eşlik ettiği birçok

inflamatuvar durum mevcuttur (41). Ana etken olarak sürekli tekrarlayan vazo-okluzif kriz ve doku iskemisi OHA'da sürekli bir inflamatuvar yanıt oluşmasını indüklemektedir (40). Sürekli olarak reaktif oksijen radikallerinin üretimi, inflamasyonun oluşumunda önemli rol oynar ve birçok kronik inflamatuvar hastalığın patofizyolojisinde etkilidir (42). Kronik inflamatuvar durum, OHA hastalarında sadece kriz hallerinde değil aynı zamanda stabil haldeyken de mevcuttur (43). OHA'da, dolaşımdaki uyarılmamış monositler sağlıklı kişilere göre daha fazla TNF-alfa ve interlökin-1 (IL-1) üretmektedirler (44). IL-1 ve TNF- $\alpha$ , damar endotelini aktive ederek endotel markerları, E-selectin, P-selectin, VCAM-1 ve interselüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) seviyelerini arttırmaları (45). IL-1, TNF- $\alpha$  ve interlökin-6 (IL-6) ayrıca hepatositleri aktive ederek akut faz proteinleri olan ve OHA hastalarında yüksek tespit edilen alfa-1-antitripsin, seruloplasmin, alfa-2 makroglobulin ve C reaktif protein (CRP)'nin sentezini artırır (46). Bunun sonucunda, OHA hastalarında normalden farklı olarak sürekli bir inflamatuvar yanıt oluşması söz konusudur.

Diğer nedenler: Bu temel mekanizmaların yanı sıra; Hb F düzeyi, hastalığa başka bir hemoglobinopatinin eşlik edip etmediği, ısı, infeksiyon, pH, G6PDH eksikliği, vasküler staz, emosyonel durum gibi faktörler de hastalığın kliniğinin ortaya çıkmasında önemli rol oynarlar.

#### **2.1.4. Klinik Seyir**

Orak hücre anemisi olan bireyler yaşamlarının ilk altı ayında fetal hemoglobin (Hb F) varlığı nedeniyle genelde asemptomatiktir. Altıncı aydan itibaren Hb F'nin azalması ve Hb S'in artmasıyla birlikte belirtiler ortaya çıkmaya başlar. Orak hücre hastalarında anemi bulguları olmakla birlikte ağrılı kriz dönemleri dışında genellikle belirti vermezler. Erkek hastaların ortalama yaşam süresi 42, kadınların ise 48 yıldır. Fakat bu yaş sınırları hastalığın komplikasyonları ile değişkenlik gösterebilir (28). Hastalığın belirti ve bulguları çok değişik olup hematolojik ve hematolojik olmayan olarak ikiye ayrılır (29).

### 2.1.4.1. Hematolojik Bulgular

**Aplastik Kriz:** Aplastik krizler eritrosit yapımının geçici olarak durmasıdır. Aplastik krizin karakteristik özellikleri arasında kemik iliğinde kırmızı hücre öncülerinin ve retikülosit sayısında azalma ile birlikte hemogloblin düzeylerinde ani düşüş yer alır. Kırmızı hücre üretiminin olmadığı bu evrede hemoliz devam eder ve anemi şiddetlenir. Bu ataklar sadece birkaç gün sürer. Aplastik kriz başta Parvovirus B-19 nedeniyle oluşan enfeksiyonlar sonucu yada folat eksikliği ile olur. Erişkinlerde yüksek oranda koruyucu antikörlerin bulunması sebebiyle, Parvovirus B-19 erişkin yaş grubunda krizin daha az nedenidir. Kemik iliği nekrozu aplastik krizin bir başka nedenidir ve ateş, kemik ağrısı, retikülositopeni ve lökoeritroblastik yanıt ile kendini gösterir (28).

**Hemolitik Kriz:** Hemolitik krizin karakteristik özellikleri arasında anemide ani alevlenme, indirekt bilirubin, laktat dehidrogenaz (LDH) ve retikülosit düzeylerinde artış bulunmaktadır. Kronik olan ve giderek kötüleşen anemi, yeni başlayan böbrek yetmezliği, folik asit veya demir eksikliğine bağlı olabilir. Kronik hemoliz folik asit depolarını tüketir ve potansiyel megaloblastik anemi ile sonuçlanır. Beslenme yetersizliği ile idrar yolundan demir kaybı beraberce demir eksikliğine neden olabilir. Demir eksikliği tanısının konulması, hemolize bağlı olarak yükselen serum demir düzeyleri nedeniyle engellenebilir. Demir eksikliği teşhisi sıklıkla düşük serum ferritin düzeylerinin veya yükselmiş serum transferin düzeylerinin tespiti ile konur (28).

**Vazooklüziv Kriz:** Vazooklüziv diğer deyişle ağrılı krizler genellikle hastalığın ilk belirtisidir ve yenidoğan döneminden sonra en sık karşılaşılan komplikasyondur. Ağrılı krizlerin erişkin HbSS'li hastalarda görülme oranı yılda % 0.8'dir (47). Ağrılı atakların sıklığının fazla olması 20. yaştan sonra ölüm oranını arttırır. Akut ağrılı atakları başlatıcı etkenler arasında soğuğa maruz kalma, aşırı sıcak, dehidratasyon, enfeksiyon, menstruasyon veya alkol alımının yanı sıra anksiyete, depresyon, stres gibi emosyonel faktörler de sayılabilir. Başlatıcı neden hastaların % 80'inde enfeksiyonlardır. Damar içi oraklaşma mikro ve makro dolaşımında tıkanmaya yol açar, sonuçta iç organ ve yumuşak doku nekrozları gelişir. Nekroz kendisini yaygın kemik, eklem ve kas ağrıları ile gösterir. Ağrı vücudun

herhangi bir bölgesini etkilemekle birlikte sırt, göğüs bölgesi, ekstremiteler ve karın bölgeleri en sık etkilenen bölgelerdir. Ağrının şiddeti önemsenmeyecek kadar hafif veya katlanılamayacak kadar şiddetli olabilir. Ağrılı krizlere ateş, eklemlerde şişlik, hassasiyet, takipne, hipertansiyon, bulantı ve kusma gibi bulgular eşlik edebilir (47).

Ağrılı kriz sırasında periferik yaymada oraklaşmış hücre yoğunluğunda artma, eritrosit yıkımında artış, CRP,  $\alpha$ 1-glikoprotein, transferrin gibi akut faz reaktanlarının düzeylerinde artma, serum LDH, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , substans-P gibi sitokinlerin düzeylerinde artma ve serum akışkanlığında azalma görülebilir. Yılda üç kez ve daha fazla sayıda hastaneye yatış gerektiren tekrarlayıcı krizlerin olması etkilenimin fazla olduğunu gösterir ve erişkin yaşta yaşam süresini kısaltır (20).

#### 2.1.4.2. Hematolojik Olmayan Bulgular

Kemik ve eklemlere, büyümeye, genitoüriner, nörolojik sistem, akciğer, karaciğer, dalak, göz gibi birçok organın etkilenimi vardır. Tekrarlayan oraklaşma atakları ülserlerin gelişimi ve devamlılığına katkıda bulunurlar. Ciddi bakteriel enfeksiyonlar temel morbidite ve ölüm nedenidir (20, 28). Hematolojik olmayan bulguların ortalama başlama yaşı, dağılımı ve görülme sıklığı yüzdeleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2:** OHA’ya bağlı kronik organ harabiyeti ve görülme sıklığı (48)

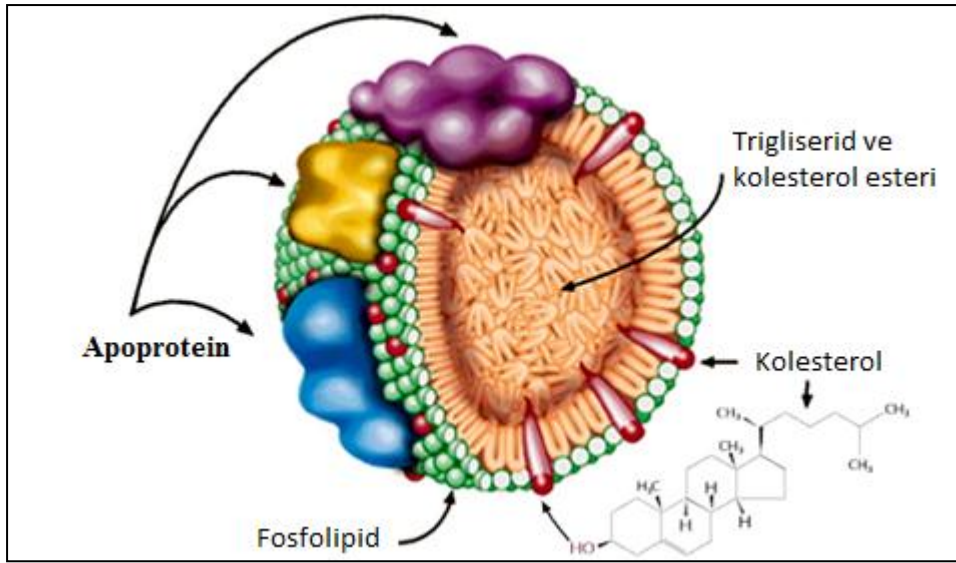
Kronik organ harabiyeti	Ortalama başlama yaşı (yıl)	Dağılım (yıl)	Görülme sıklığı (%)
SVO(serebro vasküler olay)	13,1	0,6-4,71	8,8
Kronik akciğer hastalıkları	24,2	6,0-43,3	4,2
Renal harabiyet	25,1	12,8-62,9	4,1
Osteonekroz	23,1	1,3-60,9	9,4
Bacak ülserleri	24,5	4,0-52,5	10,2
Priarpizm	22,3	6,2-47,9	6,7
Retinopati	25,8	8,9-65,3	5,6

## 2.2. Lipoproteinler

Karaciğer ve barsakta sentezlenen lipitlerin metabolik fonksiyonlarını yapabilmeleri için farklı dokulara taşınabilmeleri gerekmektedir. Ancak lipitler suda

çözünmeyen bileşikler olduğundan, sulu bir ortam olan plazmada lipoprotein olarak adlandırılan makromoleküler kompleksler halinde taşınırlar (49).

Plazmaya yeni aktarılmış HDL dışındaki lipoprotein tanecikleri küresel bir yapıya sahiptir. Daha hidrofobik nonpolar lipidler olan trigliserid ve kolesterol esterleri çekirdekte, daha polar veya amfipatik lipidler olan fosfolipid ve serbest kolesterol ise tek bir tabaka halinde yüzeyde bulunur (Şekil 2). Yüzeyde ayrıca apolipoprotein olarak adlandırılan bir veya daha fazla spesifik proteinler bulunur (50). Çekirdekte bulunan lipidlerin; fosfolipid, kolesterol ve protein örtü ile ilişkisi non kovalenttir. Bu ilişki başlıca hidrojen bağları ve van der Waals kuvveti aracılığıyla sağlanmaktadır. Bu lipit protein bağlanması kolesterolün plazma lipoproteinleri ve hücre membranları arasında spontan değişimine izin verecek şekilde gevşektir. Daha fazla hidrofobik olan diğer lipitlerin lipoproteinler arasında değişimi için CETP gibi spesifik proteinlere ihtiyaç vardır (49).



**Şekil 2:** Lipoprotein partikülünün yapısı (51).

Lipoproteinler değişik oranlarda lipid ve protein içerdikleri için çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Lipoproteinler tarihsel olarak ultrasantrifügasyon yöntemiyle dansitelerine göre ayrılarak şilomikron, VLDL, IDL, LDL, HDL ve Lipoprotein(a) olarak katagorize edilmişlerdir. Ayrıca HDL; HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> olarak iki alt gruba ayrılabilir (50). İnsan plazmasında bulunan lipoproteinlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 3’de gösterilmiştir

**Tablo 3:** Lipoproteinler ve özellikleri (49)

	<b>ŞİLOMİKRON</b>	<b>VLDL</b>	<b>IDL</b>	<b>LDL</b>	<b>HDL</b>	<b>Lp(a)</b>
<b>Dansite (g/ml)</b>	<0.95	0.95-1.006	1.006-1.019	1.019-1.063	1.063-1.210	1.040-1.130
<b>Elektroforetik mobilite</b>	orijin	Pre beta	Beta ve pre beta arası	beta	alfa	Pre beta
<b>Moleküler ağırlık (Dalton)</b>	0.4-30 x 10 <sup>9</sup>	5-10 x 10 <sup>6</sup>	3.9-4.8 x 10 <sup>6</sup>	2.75 x 10 <sup>6</sup>	1.8-3.6 x 10 <sup>5</sup>	2.9-3.7 x 10 <sup>6</sup>
<b>Çap (nm)</b>	>70	27-70	22-24	19-23	4-10	27-30
<b>Lipid-lipoprotein oranı</b>	99:1	90:10	85:15	80:20	50:50	75:25
<b>Major lipidler</b>	Ekzojen TG	Endojen TG	Endojen TG, kolesterol ester	Kolesterol ester	Fosfolipid	Kolesterol ester, fosfolipid
<b>Major proteinler</b>	A-I, B-48 ,C-I, C-II, C-III	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100, E	B-100	A-I, A-II	(a), B-100

TG, Trigliserid; VLDL, Çok düşük dansiteli lipoprotein; IDL, Ara dansiteli lipoprotein; LDL, Düşük dansiteli lipoprotein; HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein, Lp(a): Lipoprotein a

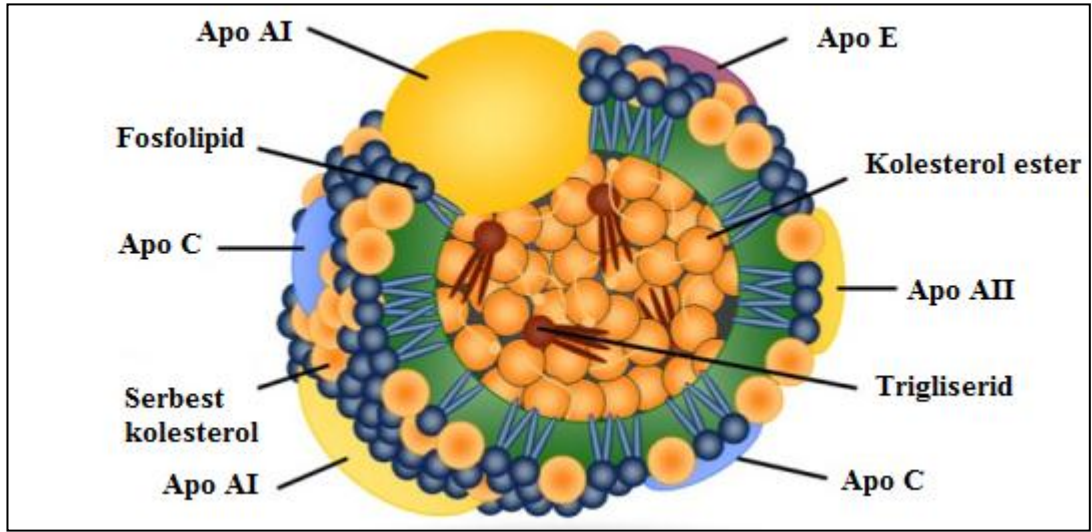
Açlık durumunda plazmada bulunan trigliseridler büyük oranda VLDL yapısındadır. Toklukta ise kısa süreli şilomikronlar ortaya çıkar ve plazma trigliserid konsantrasyonuna katkıda bulunur. Normalde LDL; total plazma kolesterolünün %70'ni, çok az oranda da trigliserid taşır. HDL ise %20-30 oranında plazma kolesterolü içerir (50). Lipoproteinler agaroz, selüloz asetat, poliakrilamid jel gibi destekleyici materyaller ile elektroforetik olarak ayrıştırılabilir (52, 53). Ph 8.6' da HDL, α globulin bölgesinde; LDL, β globulin bölgesinde; VLDL ve Lp(a), α ile β globulinlerin arasındaki pre β globulin bölgesinde göç ederler. IDL, β ve pre β globulin bölgeleri arasında geniş bir bant yapar. Şilomikronlar uygulama noktasında kalırlar. Böylece lipoproteinler elektroforetik olarak pre β lipoprotein, VLDL; β lipoprotein, LDL; α lipoprotein HDL olarak adlandırılırlar.

### 2.2.1. Yüksek dansiteli lipoprotein

HDL; birçok ögesi diğer lipoproteinlerle değiş-tokuş edildiği ve enzim etkinliği sonucu değişikliğe uğradıkları için en heterojen lipoproteindir. Yapısının % 50'sini protein, % 50'sini lipidler oluşturur. HDL, lipid içeriği en az olan en küçük



boyutlu lipoproteindir. HDL'nin merkezinde kolesterol esterleri ve trigliserid vardır. Bunlar fosfolipidler, esterleşmemiş kolesterol ve apolipoproteinler ile çevrilidirler. Apolipoproteinler; lipoproteinlerin yapısal bütünlüğünü korurlar. Ayrıca lipoproteinlerin enzimlerle, lipid transport molekülleriyle, hücre yüzey reseptörleriyle olan metabolik ilişkilerini düzenlerler (53). HDL'nin yapısında Apo A-1, A-II, A-IV, Apo C ve Apo E bulunmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3: HDL'nin yapısı (54)

HDL sentezi ve regülasyonu için en önemli molekül ApoA-1'dir. ApoA-1 HDL'nin apolipoprotein içeriğinin %70'inden sorumludur. ApoA-1 bağırsaklarda ve karaciğerde lipidden fakir bir protein olarak sentezlenir, daha sonra ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 (ABCA1) ile fosfolipid ve esterleşmemiş kolesterolü bünyesine katarak diskoidal HDL'yi oluşturur (55). Yapılan çeşitli araştırmalarda plazma HDL kolesterol düzeyleri ile koroner arter hastalığı görülme sıklığı arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (56). HDL'nin ateroskleroza karşı koruyucu rolü, ters kolesterol taşınımı olarak adlandırılan ve fazla kolesterolü periferik dokulardan karaciğere geri taşıyan bir transport olayında yer almasından ileri gelmektedir (57). Ancak yapılan son çalışmalarda HDL'nin ters kolesterol transportu dışında antioksidan, antiinflamatuvar, antitrombotik, arter duvarındaki hücrelerde apoptozisi önleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (58). HDL, okside LDL oluşumunu inhibe etmektedir (59). Ayrıca HDL'nin okside LDL'nin damar duvarına infiltrasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (60). HDL'de bulunan paraoksonaz ve platelet aktive

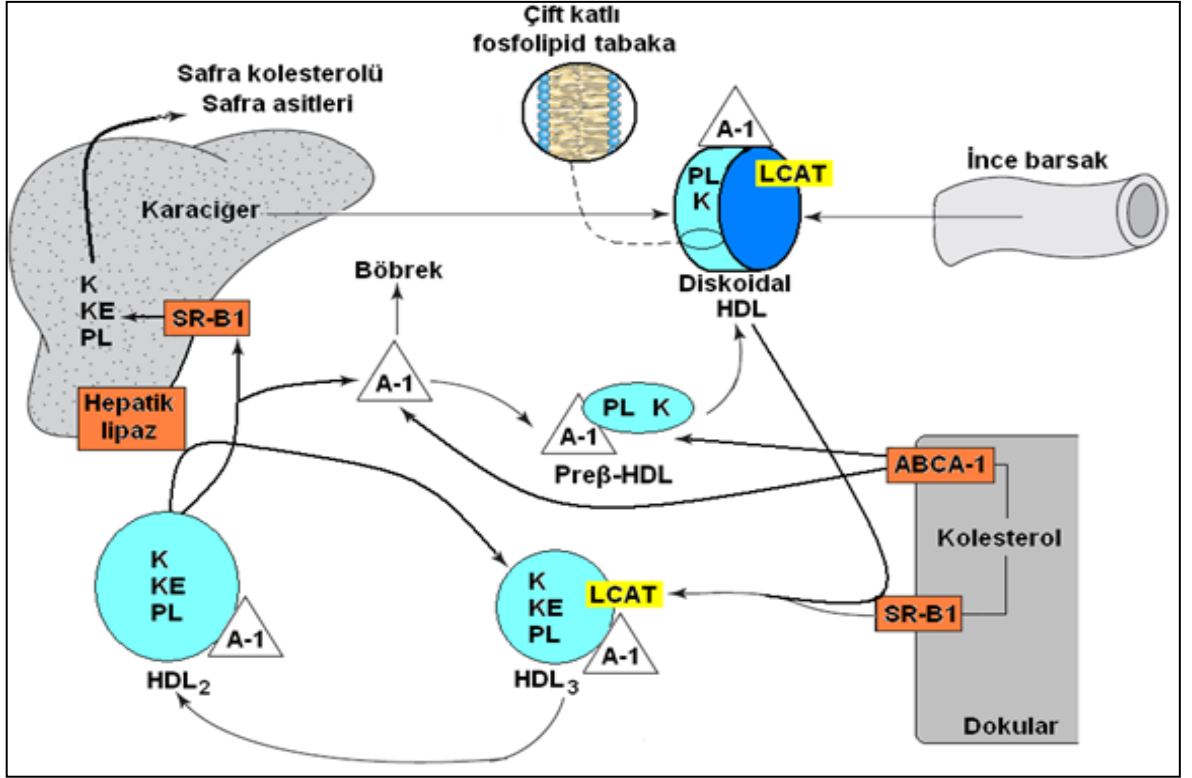
edici faktör asetilhidrolaz (PAF-AH) enzimlerinin de antioksidan etkiye katkısı olduğu bildirilmiştir. Bu enzimler de LCAT gibi, fosfolipid hidroperoksitlerinin oluşumunu önleyerek LDL'yi oksidasyondan korumaktadır (61). HDL'nin ateroskleroz patogenezinde rol alan E-selectin, IL-8, IL-1, monosit kemotaktik protein (MCP)-1, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (62, 63).

HDL, endotelial nitrik oksit sentetaz aktivasyonu ve potent bir vazokonstriktör olan endotelin-1 üretimini inhibe ederek vazodilatasyon yapmaktadır (64-66). Ayrıca HDL önemli bir vazodilatör ve trombosit agregasyonu inhibitörü olan prostosiklin üretimini indüklemekte ve prostosikline bağlanarak yarı ömrünü uzatmaktadır (67). HDL platelet yüzeyindeki HDL reseptörlerine bağlanarak platelet aktivasyon ve agregasyonunu inhibe etmektedir (68, 69). Ayrıca Protein C ve Protein S aktivitesini artırarak trombin oluşumunu önlemektedir (70).

### **2.2.2. Ters Kolesterol Transportu**

Ters kolesterol transportu; kolesterolün periferik dokulardan karaciğere taşınarak kandan uzaklaştırılmasıdır. Böylece kolesterolün arter duvarlarında ve dokularda birikimi önlenerek HDL'nin antiaterojenik etkisi ortaya çıkmaktadır (71). Karaciğere ve bağırsaklara geri dönen kolesterol, yeni salgılanan plazma lipoproteinlerince geri kazanılacak, bir kısmı da ya serbest kolesterol olarak ya da safra asitlerine dönüşerek safrayla atılacaktır. Safradaki serbest kolesterol bağırsaklarda işlenerek plazmada şilomikronlar olarak tekrar karşımıza çıkacaktır.

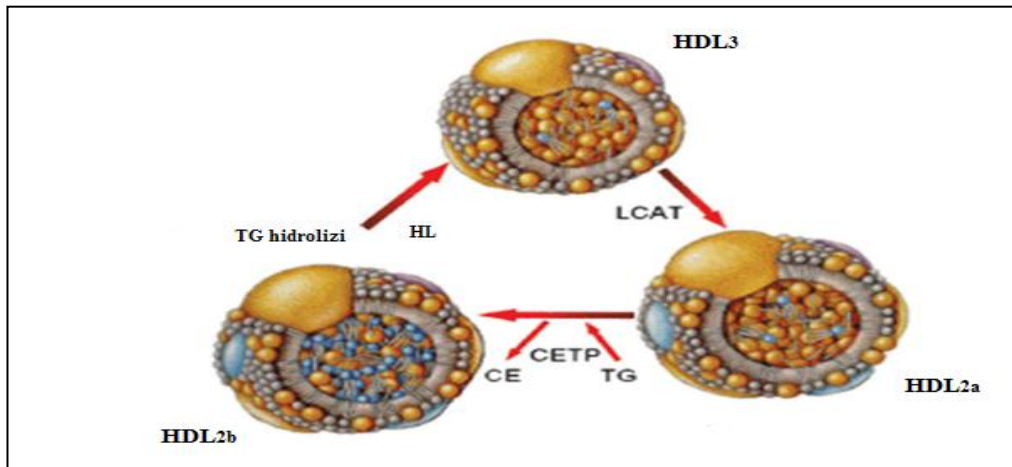
Ters kolesterol transportu çeşitli basamakları içerir ve Şekil 4'de gösterilmiştir.



**Şekil 4:** Ters kolesterol transportu; HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; LCAT, lesitin kolesterol açil transferaz; ABCA1, ATP-bağlayıcı kaset transporter A1; SR-B1, scavenger reseptör sınıf B tip 1; K, kolesterol; KE, kolesterol ester; PL, fosfolipid; A-I, Apo A-I (72)

HDL'nin yapısında bulunan ApoA-I karaciğer ve bağırsakta sentezlendikten sonra triaçilgliserolden zengin lipoproteinler olan VLDL ve şilomikrona gevşek bağlanarak dolaşıma aktarılır (49). Plazmaya ulaştığı zaman kendiliğinden lipoproteinlerden ayrılarak sadece ApoA-I veya yapısında çok az fosfolipid ve Apo A-I içeren disk şeklinde öncü partiküller (pre  $\beta$ 1 HDL) şeklinde plazmada bulunur. Plazmada şilomikron ve VLDL'nin trigliserid hidrolizi sırasında açığa çıkan ApoA-I ve bu lipoproteinlerin yüzeyindeki fosfolipitlerin biraraya gelmesiyle plazmada da oluşabilmektedir. Hem lipit içermeyen ApoA-I hem de fosfolipit içeren ApoA-I elektroforezde pre  $\beta$ 1 mobiliteye sahiptir. Öncü HDL olarak da bilinen pre  $\beta$ 1 HDL partikülleri Apo C ve/veya Apo E de içerirler ve serbest kolesterolü kolaylıkla alabilme özelliğine sahiptir (49). Çok az fosfolipid ve ApoA-I içeren disk şeklinde öncü partiküllerin (pre  $\beta$ 1 HDL) plazmada ortaya çıkmasıyla ters kolesterol transportu başlar. Fosfolipid, kolesterol ve apolipoproteinlerin yüzeye eklenmesiyle disk şeklindeki öncü HDL sferik şekle dönüşür (73). Aynı zamanda hücre membranlarında bulunan serbest kolesterol de öncü HDL'ye transfer edilir. Periferik

hücrelerde bulunan kolesterol özel bir hücre membran proteini olan ABCA1 aracılığıyla enerji kullanılan bir yolla veya aköz difüzyon olarak adlandırılan pasif difüzyonla öncü disk şeklindeki HDL'ye aktarılır (49). LCAT, 416 aminoasitlik tek bir polipeptid zincirden oluşan, karaciğerde sentezlenen fakat etkisini plazmada gösteren bir enzimdir. Plazmada bulunan LCAT'ın ana aktivatörü ApoA-I'dir. LCAT ApoA-I içeren diskoidal HDL partiküllerine çok yüksek bir afiniteyle bağlanır. HDL partikülünde bulunan fosfatidilkolin ve serbest kolesterol bu enzimin substratlarıdır. Bu enzim lesitin olarak da bilinen fosfatidilkolinde bulunan yağ asitlerini serbest kolesterole transfer ederek kolesterol esterini oluşturur (74). Esterleşen kolesterol HDL'nin çekirdek kısmına geçer ve böylece HDL daha sferik form olan HDL<sub>3</sub>'e dönüşür. LCAT reaksiyonunun yan ürünü olan lizolesitin albümine bağlanarak dolaşımdan uzaklaştırılır. HDL partikülünün büyüklüğü toplanmış olan kolesterol esterlerinin miktarına ve LCAT aktivitesine bağlıdır (49). Sonrasında HDL<sub>3</sub> periferik hücreden hücresele kolesterol akışını ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı G1 (ABCG1) ve scavenger reseptör sınıf B tip 1 (SR-B1) aracılığıyla gerçekleştirebilir (74). HDL<sub>3</sub>, üzerine kolesterol ester eklenmesiyle büyür ve HDL<sub>2a</sub> formuna dönüşür. HDL<sub>2a</sub> CETP'nin aracılık ettiği bir reaksiyonla kolesterol esterlerini LDL ve VLDL'ye aktarır yerine bu lipoproteinlerden trigliserid alarak HDL<sub>2b</sub> haline döner. Trigliseritten zengin HDL<sub>2b</sub> karaciğerin yüzeyinde bulunan hepatik lipaz etkisiyle trigliseridini kaybeder ve yeniden HDL<sub>3</sub> haline döner. Bu döngüye HDL siklisu denmektedir (Şekil 5).



**Şekil 5:** CETP ve HDL siklisu (75) LCAT, lesitin kolesterol açil transferaz; CETP, kolesterol ester transfer protein; HL, hepatik lipaz; TG, trigliserid; CE, kolesterol ester

CETP; lipopolisakkarit-bağlayıcı lipid transfer proteini ailesinde bulunan, 74 kDa ağırlığında tek bir polipeptid zincirden oluşan bir proteindir (76). Bu proteinin kristal yapısı incelendiğinde molekül içinde 6 nm uzunluğunda tünellere sahip olduğu görülmüştür. Her tünelin içinde iki tane kolesterol esteri bulunduğu ve tünelin uç kısmının fosfatidilkolin ile tıkalı olduğu belirlenmiştir (76). CETP bir lipoprotein partikülüne bağlandığında, tünelin uç kısmına bağlı bulunan fosfolipid partikül yüzeyinde bulunan fosfolipid tabaka ile birleşerek nötral lipid moleküllerinin tünelde hareketine izin verdiği düşünülmektedir (76). HDL yapısında bulunan kolesterol esterleri, trigliseritten zengin olan ve yapısında Apo B-100 bulunduran lipoproteinler olan VLDL ve LDL'ye CETP aracılığıyla trigliserit değişimi yapılarak aktarılır. Bu lipoproteinler de karaciğer tarafından özel reseptörler ile alınır. CETP aracılığıyla HDL yapısına giren trigliseridlerin hepatik lipaz ve fosfolipidlerin endotelial lipaz ile hidrolizi endositik bir reseptör olan kübülün ile ApoA-I'nin klirensini hızlandırır. HDL yapısına CETP aracılığıyla giren trigliserid, molekülün stabilizasyonu bozar ve HDL yapısından ApoA-I molekülünün ayrılmasını artırır (76). HDL kolesterol esterleri karaciğere 3 farklı yolla sunulur. 1) Kolesterol esterleri HDL'den SR-BI reseptörü yoluyla özel olarak alınır ve lipid içeriği azalmış olan HDL yeni transportlar için geri dolaşıma gönderilir 2) CETP aracılığıyla HDL kolesterol esterleri; yapısında ApoB-100 bulunduran lipoproteinler olan VLDL ve LDL'ye trigliserid değişimi yapılarak aktarılır. Bu lipoproteinler de karaciğer tarafından özel reseptörler ile alınır. 3) HDL apo E spesifik olan holoreseptörler ile karaciğer tarafından alınabilir. (77).

HDL içinde bulunan kolesterol esterlerinin karaciğer tarafından alınmasından sonra salınan ApoA-I; tekrar ters kolesterol transport siklusuna katılır, metabolik yıkıma uğrar veya renal klirens yoluyla atılabilir (78).

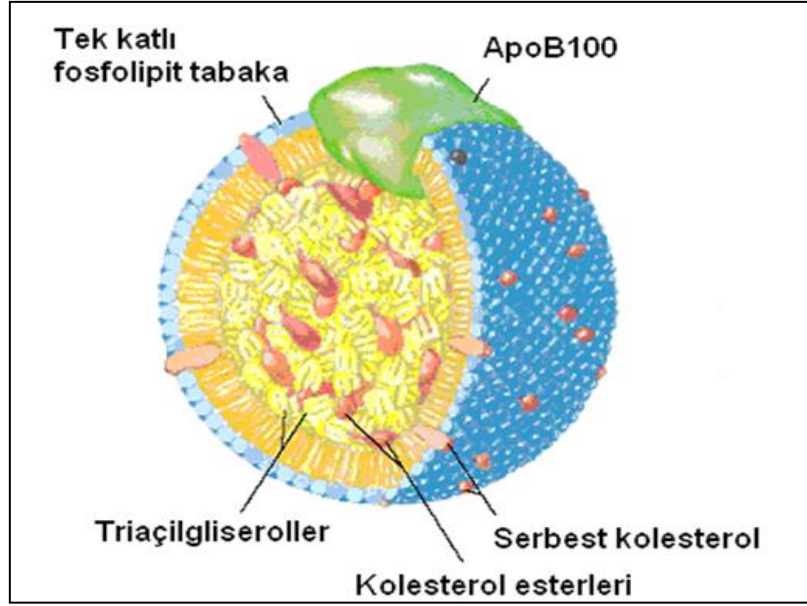
Ters kolesterol transportu ile damar duvarı makrofajları gibi periferik hücrelerden fazla miktardaki kolesterol uzaklaştırılarak kolesterol birikimi ve aterosklerotik plak oluşumu önlenmektedir. Bunun dışında HDL antioksidan, antitrombotik ve antiinflamatuvar olaylarda yer alarak da antiaterojenik ve vasküler koruyucu etkisini göstermektedir (73).

### 2.2.3. Yüksek dansiteli lipoprotein alt grupları

HDL heterojen bir lipoproteindir. HDL'nin boyut, yoğunluk ve yüklerine göre birçok alt grupları plazmada gözlenmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar HDL alt grup analizlerinin koroner arter hastalığı riskinin tanınmasında total HDL ölçümüne göre daha belirleyici olduğunu göstermiştir (79). HDL, kolesterol geri taşınımında majör molekül olduğundan KAH koruyucu etkisi büyük ölçüde ApoA-1'e de bağlıdır. ApoA-1, lipidlerle kabaca 3 stabil yapı oluşturur. 1- Küçük lipidden fakir HDL (pre  $\beta$ 1 HDL), 2- Diskoid partiküller (pre  $\beta$ 2 HDL) ve 3- Sferoid partiküller (HDL  $\alpha$ ). Yüklerine göre ayırım yapıldığında iki boyutlu elektroforezde lipid içeriklerine göre ApoA-1 içeren 12 HDL alt sınıfı belirlenmiştir (55). Analitik ultrasentrifügasyon yöntemi ile HDL'nin, HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> olmak üzere iki ana alt grubunun olduğu tanımlanmıştır (80). Bu alt gruplar aynı zamanda çok çeşitli presipitasyon teknikleri (81) ve por gradiyent poliakrilamid jel elektroforez ile de ayrılmıştır (82). % 4-30 gradiyent poliakrilamid jel elektroforez yöntemini kullanarak daha önce yapılmış olan çalışmalarda HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub>'ün kendi içinde heterojen ve sırasıyla iki ve üç alt gruptan oluştuğu gösterilmiştir (7). Yapılan başka bir çalışmada ise normolipidemik ve dislipidemik plazma örneklerinin analizi sonucunda büyük HDL (HDL-L), ara HDL (HDL-I) ve küçük HDL (HDL-S) olmak üzere 3 tane HDL alt grubu tanımlanmıştır (83). Dislipidemik ve normolipidemik plazma örneklerinde HDL-L ve HDL-S alt gruplarında anlamlı olarak farklılık bulunmuştur. Ateroskleroz oluşumu ile HDL-L ters orantı gösterirken HDL-S doğru orantı göstermektedir (84).

### 2.2.4. Düşük dansiteli lipoprotein

Plazmadaki total lipoprotein kütesinin yaklaşık %50'sini oluşturur. %80 lipid, %20 protein içerir. İçerdiği lipid miktarının %50'si kolesteroldür. VLDL'den farklı olarak trigliseridi çok azdır ve apoprotein olarak sadece ApoB-100 taşır. Ortalama çapı 22-27 nm'dir. (Şekil 6)



Şekil 6: LDL'nin Yapısı (85)

Bir LDL taneciği, bir VLDL taneciğinin metabolizması sonucu oluşur. Plazma LDL miktarı; VLDL sentez hızına, VLDL'nin LDL'ye dönüşüm hızına ve LDL'nin plazmadan uzaklaşma hızına bağlıdır. Başlıca görevi kolesterolü karaciğerden periferik dokulara taşımak ve bu dokulardaki de novo kolesterol sentezini regüle etmektir. LDL'nin bir kısmı LDL reseptörleri aracılığı ile karaciğer tarafından alınabilir veya subendotelyal bölgeye geçerek okside olabilir. Böylece köpük hücre oluşumunu uyarabilir.

LDL glikozillenme, oksidasyon, deaçilasyon gibi çeşitli modifikasyonlara uğrayabilirler ve modifiye olan bu lipoproteinler ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynar. Bu patogenezinde üzerinde en çok çalışılan modifiye lipoprotein okside LDL'dir. Okside LDL sitotoksik etkisi ile vasküler endotelde hasara yol açabilir ve köpük hücre oluşumunu arttırabilir (49).

### 2.2.5. Düşük dansiteli lipoprotein yolağı

Düşük dansiteli lipoprotein dolaşımdan temizlenmesi LDL reseptör yolağı ile olmaktadır (49). VLDL ve şilomikronlara kıyasla LDL dolaşımında yaklaşık 3 gün gibi daha uzun bir süre kalmaktadır (86). Hücre membranında, hücre içine bakan yüzeyi kltrin adlı proteinle katlanmış çukurlarda topluluklar halinde LDL reseptörleri

bulunur. Bu reseptörler ApoB-100'leri tanır. Bu reseptörlerin LDL veya VLDL artıklarıyla bağlanmasıyla oluşan reseptör ligand kompleksi endositoz yoluyla endozom adı verilen keseler içinde hücre içine alınır. Endozom içindeki asidik ortam nedeniyle LDL-kolesterol reseptörden ayrılır. LDL kolesterol lizozomlara giderken, reseptörler hücre yüzeyine tekrar kullanılmak üzere geri döner. LDL lizozomlara gönderildiğinde ApoB-100 küçük peptidlere ve aminoasitlere parçalanır. Kolesterol esterleri de aynı zamanda hidroliz edilir ve açığa çıkan serbest kolesterol aynı dokularda hücre membranı sentezinde, endokrin dokularda steroid hormon sentezinde ve hepatositlerde safra asidi sentezinde kullanılır. Hücreler artmış kolesterolün sitotoksik etkisinden dolayı, kolesterol içeriklerini düzenleme yeteneğine sahiptir. Serbest kolesterol fazlalığı; hız kısıtlayıcı enzim olan 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA reduktaz (HMG-CoA redüktazı) inhibe ederek endojen kolesterol sentezini azaltır, açıl CoA kolesterol açıltransferaz (ACAT) enzimi tarafından katalizlenen reaksiyonla kolesterol ester oluşumunu artırır ve LDL reseptör geninin transkripsiyonunu inhibe ederek yeni LDL reseptör sentezini inhibe eder (86). Hücre içinde kolesterol metabolizmasının gen regülasyonu için birçok farklı yolak görev yapmaktadır. Örneğin; hücre içi kolesterol konsantrasyonuna duyarlı sterol düzenleyici element bağlayıcı protein (SREBP) transkripsiyon faktörünün en önemli rolü üstlendiği düşünülmektedir (87).

Yaklaşık olarak LDL'nin 1/3'ü karaciğer dışı dokular tarafından scavenger reseptör veya reseptör ilişkili olmayan pinositoz ile alınmaktadır. Reseptör ilişkili olmayan alım Ailesel hiperkolesterolomi gibi plazma LDL konsantrasyonları arttığında önemlidir. Reseptör ilişkili olmayan alım doyumsuzdur ve düzenlenemez. Scavenger reseptörler de düzenlenmemektedir ve oksidasyon gibi değişik şekillerde modifiye olmuş LDL'yi tanır (88). Scavenger reseptörler büyük oranda makrofajlarda bulunur ve bu makrofajlarda aterosklerotik plak oluşumu sırasındaki lipid birikimiyle ilişkilidir. Kolesterol esterleri ile dolmuş olan makrofajlara köpük hücresi denir ve aterosklerotik lezyonların en erken dönem komponentidir



### **2.2.6. Düşük dansiteli lipoprotein alt grupları**

Partikül büyüklüğü, dansite ve kimyasal içerik bakımından LDL'nin alt gruplara ayrılmıştır. LDL alt gruplarının ölçümünün yapılması ile koroner arter hastalığı riski daha spesifik ve sensitif olarak belirlenebilmektedir (89). Koroner arter hastalığı olan 275 erkek hastada ve 822 kontrol vakasında yapılan araştırmada 7 tane LDL alt grubu belirlenmiştir. En büyük çapa ve en az yoğunluğa sahip olan grup LDL-1 (d=1.025-1.033 g/ml), en küçük çapa ve en fazla yoğunluğa sahip olan grup ise LDL-7 (d=1.050-1.063 g/ml) olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin genel olarak sınıflandırılması sonucunda Büyük LDL (LDL-L), ara LDL (LDL-I), küçük LDL (LDL-S) ve en küçük LDL (LDL-VS) olmak üzere 4 tane LDL alt grubu tanımlanmıştır. Küçük LDL partikülleri; LDL reseptörleri için azalmış affinite göstermeleri, endotelial proteoglikanlara daha fazla bağlanmaları ve arteriyal intima tabakasına daha iyi penetre olmalarından dolayı daha aterojeniktir (15). Küçük LDL partiküllerinin oranı koroner arter hastalığı olanlarda %39, kontrol grubunda ise %27 olarak rapor edilmiştir. Büyük LDL partikülleri ise KAH olan grupta %3, kontrol grubunda ise %24 olarak rapor edilmiştir. Ara LDL alt grubu her iki grupta da benzer oranlarda bulunmuştur (KAH %49, Kontrol grubu %46) (90).

Günümüzde LDL alt gruplarının belirlenmesinde nükleer manyetik rezonans, jel elektroforezi, Lipoprint sistemi, ultrasantrifügasyon ve yüksek performans jel filtrasyon kromatografisi gibi pek çok yöntem kullanılmaktadır. Ancak bu konuda referans metod tam olarak belli değildir. Yapılan bir çalışmada belirtilen metodlar kıyaslanmış ve sonuçta metodlar arasında LDL alt gruplarının analizi konusunda %94 oranında benzerlik olduğu saptanmıştır (91).

### **2.3. Apolipoproteinler**

Apolipoproteinler lipoproteinlerin protein bileşenleridir. Apolipoproteinler lipoprotein metabolizması yolağındaki önemli enzimlerin aktivitesinin düzenlenmesi, lipoprotein kompleksinin yapısal bütünlüğünün devam ettirilmesi ve lipoprotein reseptörlerince tanınan bölgeleri buldurmak gibi farklı fonksiyonlara sahiptir (53). Apolipoproteinlerin karakteristikleri ve ana görevleri Tablo 4'de verilmiştir. LDL

haricinde her lipoprotein sınıfı farklı oranlarda apolipoprotein içermektedir. LDL'nin yapısında sadece ApoB-100 vardır.

**Tablo 4:** Apolipoproteinlerin sınıflandırılması (49)

Apolipoprotein	Molekül ağırlığı (Dalton)	Kromozomal yerleşimi	İşlev	lipoproteinler
Apo A-I	29,016	11	LCAT kofaktörü	Şilomikron, HDL
Apo A-II	17,414	1	Bilinmiyor	HDL
Apo A-IV	44,414	11	LCAT aktivasyonu	Şilomikron, HDL
Apo B-100	512,723	2	Karaciğerden TG salınımı, LDL reseptörü ligandı	VLDL, IDL, LDL
Apo B-48	240,800	2	Barsaktan TG salınımı	Şilomikron
Apo C-I	6,630	19	LCAT aktivasyonu (?)	Şilomikron, VLDL, HDL
Apo C-II	8,900	19	LPL kofaktörü	Şilomikron, VLDL, HDL
Apo C-III	8,800	11	Apo C-II inhibisyonu, LPL aktivasyonu	Şilomikron, VLDL, HDL
Apo E	34,145	19	Şilomikron kalıntıları ve IDL alınımını kolaylaştırma	Şilomikron, VLDL, HDL

HDL, Yüksek dansiteli lipoprotein; IDL, Ara dansiteli lipoprotein; LCAT, Lesitin kolesterol açıl transferaz; LDL, Düşük dansiteli lipoprotein; LPL, Lipoprotein lipaz; Lp(a): Lipoprotein a

### 2.3.1. Apolipoprotein A

Lipoproteinlerin yapısında ApoA-I, ApoA-II ve ApoA-IV olmak üzere üç tip apoprotein A bulunur. ApoA-I; insan HDL'sinin major yapısal proteindir ve şilomikron yapısında da bulunur ve LCAT aktivatörü olarak görev yapar (53). Apo A-I hem karaciğer hem de bağırsakta 276 aminoasit içeren pro ApoA-I olarak sentezlenir daha sonra yapısından 18 aminoasitlik bir bölüm ayrılarak ApoA-I haline

dönüştürülür. ApoA-I'in polipeptid zincirinin -COOH ucuna yakın  $\alpha$ -heliks yapısındaki bölge HDL'nin hücre yüzeyi ile ilişkisinden sorumludur. LCAT aktivatörü olan bölüm ise zincirin orta bölümündedir. ApoA-II; HDL'nin yapısında en çok bulunan ikinci proteindir ve karaciğerde sentezlenir. ApoA-I ve ApoA-II HDL proteinlerinin %90'nını teşkil etmektedir. HDL'de ApoA-I'in Apo A-II 'e oranı 3:1'dir. (92). ApoA-II HDL'de ApoA-I ile yer değiştirerek HDL'nin hücrelerle, diğer lipoproteinlerle, enzim ve transfer proteinlerle olan ilişkisini düzenler. Bağırsakta sentezlenen ApoA-IV, şilomikronun major ve HDL'nin ise minör bileşenidir. Lipoprotein metabolizmasındaki rolü henüz açıklık kazanmamakla birlikte ApoA-I ile ileri derecedeki yapısal benzerliği HDL metabolizmasında ve tersine kolesterol transportunda ApoA-I ile sinerjik etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Ayrıca invitro olarak LCAT'ı aktive ettiği gösterilmiştir (93). Bunların dışında yeni tanımlanmış olan ApoA-V vardır. Diğer apolipoproteinlere oranla miktarı çok azdır. Henüz anlaşılmayan bir mekanizma ile trigliserid konsantrasyonlarının düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (94). Bütün bu apolipoproteinler amfipatik heliks olarak bilinen yapıdadır. Bu yapı  $\alpha$ -heliks yapısındadır ve yaklaşık olarak yarısı hidrofobik aminoasitlerden oluşmaktadır. Apolipoproteinler lipoproteinlere bağlandığında hidrofobik aminoasitler nötral lipid kora doğru birleşirler. Heliksin diğer tarafı ise polar ve yüklü aminoasitlerden oluşur ve lipoproteinin dışa bakan yüzeyinde yer alır. Amfipatik helikslerin lipoproteinler ile bağlanması genelde zayıftır ve böylece lipoprotein metabolizması sırasında apolipoproteinler lipoproteinler arası değiş tokuş edilebilmektedir (76).

### **2.3.2. Apolipoprotein B**

İnsan plazmasında ApoB-100 ve ApoB-48 olmak üzere iki tür ApoB bulunmaktadır (53). Her iki tür de tek bir genden türer. İnsan barsağında bulunan düzeltici bir protein Apo B mRNA ile reaksiyona girerek tek bir nükleotid değişikliğine yol açar. Sonuç olarak ApoB-100'ün % 48'sinden oluşan ApoB-48 sentezlenir. ApoB mRNA'nın düzeltilmesi ile ApoB-100 mRNA'nın 6666'cı nükleotidi olan sitozinin yerine urasil gelir. Bu sitozinin varlığında CAA kodonu ApoB-100'ün 2153'ncü aminoasidi olan glutamini kodlar. Baz değişimi sonucu bir

sonlanma kodonu olan UAA oluşur ve protein zincirinin sonlanmasına yol açar. Apo B-48 2152 aminoasitten, ApoB-100 ise 4536 aminoasitten oluşan 516 Kd'luk bir proteindir. Sonuçta bağırsakta ApoB-100'ün %48'inden oluşan ApoB-48 sentezlenir. Karaciğerde sentezlenen ApoB-100 VLDL, IDL ve LDL yapısında bulunur. Her bir VLDL sadece bir molekül ApoB-100 içerir (49). Diğer apolipoproteinlerden farklı olarak ApoB-100 lipoproteinler arasında hareket edemez. Çünkü ApoB-100'ün amfipatik heliks yapısı dışında  $\beta$ -sheet yapısı da vardır. Bu yapıdan dolayı lipidlere karşı afinitesi çok daha yüksektir. Bu nedenden dolayı ApoB-100 VLDL yapısında kalır ve lipoliz ile LDL'ye dönüştüğünde de yapıda kalmaya devam eder (85). Apo B-100'ün yapısal rolünün yanında diğer bir fonksiyonu da karaciğer ve periferik dokularda LDL reseptörü için ligand olmasıdır. ApoB-100'ün 3000-3700 aminoasitleri arasındaki bölge LDL reseptörüne bağlanma bölgesidir. Reseptör ile ilişkisinden bu bölgede bulunan pozitif yüklü aminoasitler olan arginin ve lizin sorumludur (95). 242 kDa ağırlığındaki ApoB-48, şilomikronun yapısal bileşenidir. Her şilomikronun yapısında bir molekül ApoB-48 bulunur. ApoB-48, Apo B-100'de olduğu gibi reseptöre bağlanma bölgesine sahip olmadığından şilomikron LDL reseptörüne bağlanamaz.

### **2.3.3. Apolipoprotein C**

Apo C-I, C-II ve C-III olmak üzere üç çeşiti vardır. Karaciğerde sentezlenen Apo C; LDL dışında diğer tüm lipoproteinler ile ilişkilidir. Apo C'ler plazmaya disk şeklindeki HDL'nin yapısında girer ve lipoprotein metabolizması sırasında şilomikron ve VLDL'ye aktarılır (96). Apo C-I'in LCAT aktivasyonunda rol aldığı düşünülmektedir. Apo C-II, şilomikron ve VLDL'nin triaçilgliserollerinin hidrolizini kataliz eden lipoprotein lipazın aktivatörüdür.

### **2.3.4. Apolipoprotein E**

Apolipoprotein E primer olarak şilomikron, VLDL, HDL, şilomikron artıkları ile VLDL artıklarına bağlı halde bulunan 34 kDa'luk bir plazma glikoproteinidir. Apo E içeren lipoproteinlerin temizlenmesi çeşitli hücre reseptörlerinin Apo E içinde spesifik bölgelerde bulunan pozitif yüklü aminoasitlerin oluşturduğu bölgelerin tanınması ile olmaktadır. Apo E şilomikron ve VLDL artıklarının metabolizmasında

anahtar rol oynamaktadır. Apo E karaciğer tarafından, şilomikron artıklarının şilomikron artık reseptörleri ve VLDL artıklarının ise LDL reseptör yardımıyla alınmasının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (53). Apo E santral ve periferik sinir sistemine kolesterol taşınmasından sorumludur. Apo E, lipidlerin hücreler, dokular ve organlar arasında yeniden dağılımını sağlar. Elektroforez ile E2, E3 ve E4 olmak üzere üç apo E izoformu tanımlanmıştır (49).

#### **2.4. Ateroskleroz**

Ateroskleroz, hayatın erken evrelerinde başlayarak orta yaş ve sonrasında koroner arter hastalığı ile sonuçlanan bir hastalık olarak tanımlanmakta ve endüstrileşmiş toplumlarda ölüm nedenlerinin başında yer aldığı rapor edilmiştir (97). Ateroskleroz lipidler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimal plaklar nedeniyle oluşan, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolması ile karakterize arteriyel bir hastalıktır (98). Son bilgilere göre ateroskleroz, endotel hasara enflamatuvar cevap nedeniyle gelişir. Damar duvarına etki eden mekanik kuvvetler dengesinin bozulmasıyla, damar duvarında zayıflama ortaya çıkar. Damar homeostazının bozulması veya enfeksiyonlar (Chlamydia Pneumoniae, CMV, H.Pylori, Herpes,) gibi immünolojik veya diğer toksik (okside LDL, homosistein gibi) bileşenlerin etkisiyle, enflamasyon başlar (99). Kandaki makrofaj ve lenfositler lezyona doğru göç eder. Bu hücrelerin aktivasyonu sonucunda, enzimler, kemokinler ve büyüme faktörleri salınır. Bu enflamatuvar maddelerin, düz kas hücrelerini aktive etmesi sonucunda, hücre dışı matriksin sentezi artar.

Ateroskleroz gelişiminde klinik olarak anlamlı olan kritik basamak, çoğu LDL veya LDL orijinli lipidlerin subendotelial alana girişi ve birikmesidir (100). Normalde kan dolaşımındaki LDL tanecikleri sınırlı oranda arter duvarından geçerek subendotel yüzeye infiltre olabilir. Ancak endotel hasarı ve aterojenik lipoproteinlerin kanda artışı lipoproteinlerin bu girişini artırır. İntimaya geçen LDL taneciklerinin bir kısmı dolaşıma geri dönerken bir kısımda intimada tutulur. Bu tutulumdan intimanın destek dokusu bileşenlerinden glikozaminoglikanlar sorumludur. LDL'deki ApoB-100'e afinitesi olan glikozaminoglikanlar, böylelikle LDL'i intimaya bağlamış olur. Bu nedenle ApoB-100 içeren lipoproteinler

ateroskleroz oluşumunda potansiyel suçludur. İntima tabakasına hapsedilen LDL doku makrofajlarından serbestleşen oksijen radikallerine maruz kalır. LDL oksidasyonunun ateroskleroz gelişiminde en etkili basamak olduğuna inanılmaktadır. LDL'nin oksidasyonu ile oluşan lizofosfatidil kolin gibi çeşitli modifiye lipitler endotel hücrelerinde VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin sentezini uyarır. Adezyon moleküllerinin etkisiyle endotel yüzeyine yapışan monosit ve T lenfositler, subendotelyal yüzeye göç etmeye başlar. Endotel hücrelerinden salınan okside LDL'nin bir bileşeni olan lizofosfatidil kolin enflamatuvar hücrelerin intimaya göçünü tetikler. İntimaya geçen monositler, granülosit makrofaj stimüle edici faktör (GM-CSF) uyarısıyla aktif makrofajlara dönüşür. Makrofajlar oksidasyonla yapısı değişen LDL'i fagosite eder. Normal LDL reseptörü yerine makrofaj ve düz kas hücrelerinde bulunan çöpçü (scavenger) reseptörler bu temizleme işleminden sorumludur. Çöpçü reseptörler LDL'yi kontrolsüz bir biçimde aldıkları için makrofajlarda aşırı kolesterol birikimi olur ve köpük hücre adı verilen oluşum gerçekleşir. Köpük hücre oluşumu, düz kas hücrelerinin intimaya hareketini, çoğalmasını ve matriks bileşenleri üretmesini tetikler. Makrofaj ve trombositlerden salınan büyüme faktörleri düz kas proliferasyonunun başlıca uyarıcılarıdır. Köpük hücresi ve aktive endotel, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, Interferon- $\gamma$  gibi proinflamatuvar sitokinler ve makrofajlarla düz kas hücrelerinin proliferasyonunu arttıran büyüme faktörlerini salgılar. Özellikle Interferon- $\gamma$  proaterojenik ve proinflamatuvar etkili bir sitokindir (101). Köpük hücrelerin endotel altında birikmesi, endotel yüzeyinde şekil bozukluklarına yol açar. Yağlı çizgi adı verilen bu oluşumlar arter duvarında en erken görülen lezyonlardır. Yağlı çizgilenmelerin klinik açıdan anlamı yoktur, pek çoğu kendiliğinden geriler. Fakat bazıları fibröz plaklar haline dönüşür. Fibröz plağın sarı bir birikim şeklindeki lipit nüvesi köpük hücre ve T lenfositlerden oluşur. Bu nüve matriks bileşenlerinden bir plak ile çevrelenmiştir. Ateroskleroz, ateromların içi yumuşak dışı sert yapısından dolayı Yunanca athero (lapa) ve sclerosis (sertleşme) sözcüklerinden türetilmiştir.

Ateroskleroz kalbi besleyen koroner dolaşıma veya beyni besleyen serebral dolaşıma etki ettiği zaman hastalık, ciddi olarak ortaya çıkar. Kalp krizi, akut inme, periferik arter hastalığı, kalp yetmezliği hastalıklarının ve genel olarak çoğu kalp hastalığının altında yatan neden aterosklerozdur (102). Ateroskleroz multifaktöriyel

bir hastalıktır. Kesin bir etyolojik faktör olmamakla birlikte aterosklerozun oluşumunda infeksiyon ajanları (*Chlamydia pneumoniae*), kalıtsal özellikler (homosisteinemi), hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi, tütün kullanımı, sedanter yaşam, şişmanlık ve kişilik yapısının etkili olduğu düşünülmektedir.

Son yıllarda LDL taneciklerinin homojen bir yapı göstermediği, farklı büyüklükte ve yoğunlukta taneciklerden oluştuğu saptanmıştır. Küçük ve yoğun taneciklerin daha aterojen olduğu, bu tip LDL'nin düzeyi normal olsa bile hastalık oluşturma riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Çünkü araştırmalar küçük ve yoğun LDL taneciklerinin oksidasyona daha duyarlı olduğunu, intimadaki glikozaminoglikanlara daha sıkı bağlandığını ve daha yavaş yıkıldığını ortaya koymuştur (90).

HDL kolesterol düzeylerinin yüksek olması ateroskleroz riskini azaltıcı, düşük olması riski artırıcı yönde etki gösterir. Ancak HDL heterojen bir lipoprotein olduğundan koroner arter hastalığı varlığının düşük HDL düzeyinden ziyade; HDL partikül büyüklüğündeki değişikliklerle daha kuvvetli ilişkili olduğu anlaşılmıştır (103). HDL<sub>2a</sub> ve HDL<sub>2b</sub> gibi büyük HDL partiküllerin antiaterojenik, küçük partiküllerin aterojenik olduğu kabul edilmektedir (7).

## **2.5. Orak Hücre Anemisi ve Ateroskleroz**

Orak hücre anemisi aterosklerozda olduğu gibi kronik inflamasyonla seyreden vaskülopati temelli bir hemoglobinopatidir. Endotel hasarı ve endotel hücrelerinin hasara cevabı aterosklerozda başlatıcı en önemli faktördür (104). Hebbel ve arkadaşları OHA' li hastalarda okluziv olaylar sonrası gelişen reperfüzyon hasarı, kronik inflamasyon ve oksidatif stresin devamlı endotel aktivasyonuna yol açtığını göstermişlerdir (40). OHA kronik inflamasyon ve devamlı endotel aktivasyonu ile karakterize ateroskleroz ile ortak patogeneze sahiptir (105). Bu hastalardaki sistemik inflamasyon; TNF, CRP ve interlökinler gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışı deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir (106). OHA'de deoksijenizasyon ile eritrosit morfolojilerinde değişiklik olur. Bu durum eritrositlerin endotel adezyonuna neden olur. Eritrositlerin endotel yüzeyine adezyonunda adezyon molekülleri önemli rol oynamaktadır ve bu aktivite nikrit oksit (NO) tarafından kontrol edilmektedir.

OHA'de NO düzeyleri düşüktür (2). OHA da VCAM-1, ICAM-1, E-selectin and P-selectin gibi adezyon molekül seviyeleri yüksektir ve endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır (107). Doku faktörü (TF) ve VCAM-1 seviyelerinin OHA'de artışı endotel adezyonunu arttırmaktadır (105). Kronik inflamasyon aterosklerozun patogeneğinde anahtar rol oynar (108, 109). Lipid birikimi hariç OHA'deki vaskülopati ateroskleroz ile benzerdir. CRP, IL-6, VCAM-1, TF, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi endotel disfonksiyon markırları her iki hastalıkta da yükselmiştir (105). Bununla beraber kalp yetmezliği nedeni ile ölen 30 yaşındaki OHA hastasına yapılan otopside aterosklerotik olmayan tromboz gözlenmiştir (110). EKG ile taranan 108 OHA hastasının sadece üçünde MI bulguları gözlenmiştir ve postmortem yapılan otopsilerinde anlamlı koroner ateroskleroz gözlenmemiştir (111).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji polikliniğine ve Antakya Devlet Hastanesi Kan Hastalıkları Tanı ve Tedavi Merkezi'ne başvuran hastalarla gerçekleştirildi. Orak hücre anemisi tanısı olan, onsekiz yaş altındaki 45 hasta ve 38 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Çalışma "Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu"ndan onay alınarak gerçekleştirildi. (Karar No: 05.01.2012/07)

Çalışmaya onsekiz yaş altı homozigot orak hücre hastalığı olan, diyabeti, hipertansiyonu, kalp, böbrek ve karaciğer yetmezliği olmayan hastalar dahil edildi. Hastalar yaş, cinsiyet, boy, ağırlık ve ilaç kullanımı açısından ayrıntılı bir şekilde değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri; orak hücre anemi hastalarının akut krizde olması (vazooklüziv kriz, aplastik kriz, sekestrasyon krizi gibi), son üç ay içerisinde transfüzyon almış olması, orak hücre anemisinin komplike olması, hipertansiyon, kalp, böbrek, karaciğer yetmezliğinin eşlik etmesi olarak belirlendi ve bu kriterlere sahip olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya alınan hastalardan en az 12 saatlik açlıktan sonra ertesi sabah 08:00-10:00 saatleri arasında lipid profili, HDL ve LDL alt grup analizi, ApoA-1, ApoB, LCAT ve CETP düzeylerine bakılmak üzere venöz yoldan kan örneği alındı. Hastalardan alınan venöz kan örnekleri 2500 g 5 dakika santifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Serum örnekleri porsiyonlar halinde  $-70^{\circ}$  C 'lik derin dondurucuda en fazla 6 ay saklandı.

### **3.1. Laboratuvar parametrelerinin ölçülmesi**

Total kolesterol, HDL ve trigliserid düzeyleri Roche Cobas Integra 800 (Roche Instrument Center AG, Rotkreuz, Switzerland) cihazı kullanılarak değerlendirildi. Total Kolesterol ölçümü; kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz enzimatik yöntemiyle; Trigliserid ölçümü lipaz, gliserol kinaz ve gliserol fosfat oksidaz enzimatik yöntemiyle yapıldı. HDL düzeyleri enzimatik kolorimetrik metodla belirlendi. LDL düzeyleri Friedewald formülüne göre hesaplandı. Tüm olguların trigliserid düzeyleri 400 mg/dl'nin altındaydı. Friedewald formülü;  $LDL = \text{Total kolesterol} - (VLDL + HDL)$  şeklindedir. Bu formülde  $VLDL = \text{Trigliserit}/5$  şeklinde hesap edilmektedir.

### **3.2. Lipoprotein alt grup analizlerinin yapılması**

Lipoprint Sistemi LDL alt grup kiti klinik ve araştırma amaçlı kullanılmakta ve FDA tarafından onaylı bir sistemdir. Lipoprint Sistemi HDL grup kiti ise sadece araştırma amaçlı kullanım için geliştirilmiştir. Çalışmamızda HDL ve LDL lipoprotein alt grup analizleri Lipoprint Sisteminde (Quantimetrix Corporation, CA, USA) poliakrilamid disk jel elektroforez yöntemiyle yapıldı.

Quantimetrix Lipoprint Sistemi bir test kiti, tüp sporu, poliakrilamid foto-polimerizasyonu için gerekli floresan ışık kaynağı, elektroforez aparatı, tarayıcı ve güç kaynağını içermektedir.

#### **3.2.1. Yüksek yoğunluklu lipoprotein analizlerinin yapılması**

Lipoprotein Sistemi HDL Alt Grup Kiti (Quantimetrix Corporation, CA, USA) insan açlık serum veya plazmasında poliakrilamid jel elektroforez yöntemiyle HDL alt gruplarının ayrımını ve ölçümünü sağlayan bir kittir. Test kiti ile 100 adet numune çalışılabilmektedir.

Lipoprotein HDL Kiti cam bir tüp içerisinde hazır halde bulunan %3'lük lineer poliakrilamid jel (stacking jel ve ayırım jeli), lipofilik bir boya (Sudan black B) içerisinde sıvı yükleme jeli ve tampon içermektedir. Boya her lipoprotein içerisinde göreceli miktarda bulunan kolesterole orantılı olarak bağlanır (112).

Ayırım jelini içeren hazır tüpler, tüp sporu içerisine yerleştirilir. Önce 25 µl örnek ve ardından 300 µl lipide spesifik yükleme boyası jel üzerine tatbik edilir. Tüpler çevrilerek karıştırılır. Örnek tüplerini içeren tüp sporu floresan ışık kaynağının önüne 35 dakika süreyle konur ve yükleme jelinin foto-polimerizasyonu sağlanır. Foto-polimerizasyonu sağlandıktan sonra jel tüpleri elektroforez ünitesi içerisine konmak üzere özel bir adaptöre yerleştirilir. Elektroforez ünitesinin alt haznesine bir litre, üst haznesine ise 200 ml tampon ilave edildikten sonra sabit akımda (3 mA/jel tüpü) 55 dakika süreyle elektroforetik ayırım sağlanır. Önceden boyanmış olan lipoproteinler sonrasında elektroforez işlemine tabii tutulur. Elektroforez işleminin ilk fazında, lipoprotein partikülleri yükleme ve stacking jeller arasında keskin ve dar bir band şeklinde konsantre edilir. Lipoprotein partikülleri ayrıcı jel matrisi boyunca göç ettikçe, partikül büyüklüğüne göre büyük partikülden küçük partiküle doğru lipoprotein bantlarına ayrılır. Aplikasyon noktasından itibaren sırasıyla LDL/VLDL, büyük HDL, ara HDL, küçük HDL ve albümin bantları oluşur. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel tüpleri tarayıcıya (Microtek artixcan, MI) dansitometrik analiz için yerleştirilir.

Dansitometrik analiz tamamlandıktan sonra elde edilen data Lipoprint sistemi için geliştirilmiş bilgisayar programı (Quantimetrix software, Lipoware Research Version) ile analiz edilir. Elektroforez tamamlandıktan sonra boyanmış olan farklı HDL bantları jeldeki mobilitelerine göre (Rf) tanımlanır. LDL/VLDL bandı başlangıç referans noktası (LDL/VLDL=0) olarak kabul edilirken, albümin bandı öncü referans noktası (Albümin=1) olarak alınır. Her HDL alt grubu için belirlenmiş olan Rf değerine göre vertikal ayırım çizgileri yerleştirilir ve dansitometrik yoğunluğa göre oluşturulan eğrinin altında kalan alan hesap edilir. Her HDL alt grubu için belirlenen rölatif alan total HDL kolesterol değeri (mg/dL) ile çarpılarak her bant için mg/dL cinsinden kolesterol miktarı belirlenir. Total HDL kolesterol miktarı %100 olarak alınıp HDL alt grupları % miktar olarak da tayin edilmektedir.

Sonuçta HDL analizinde ilk olarak VLDL/LDL bandı, sonrasında antiaterojenik özelliğe sahip HDL-büyük bantlar olan HDL-1, HDL-2 ve HDL-3, HDL-ara bantlar olan HDL-4, HDL-5, HDL-6 ve HDL-7 ile aterojenik özelliği olan HDL-küçük bantlar HDL-8, HDL-9 ve HDL-10 olmak üzere toplam 10 adet HDL bandı ile son olarak albümin bandı görülmektedir.

### 3.2.2. Düşük yoğunluklu lipoprotein analizlerinin yapılması

Lipoprotein Sistemi LDL Alt Grup Kiti (Quantimetrix Cor., CA, USA) insan açlık serum veya plazmasında poliakrilamid jel elektroforez yöntemiyle LDL alt gruplarının ayrımını ve ölçümünü sağlayan bir kittir. Test kiti ile 100 adet numune çalışılabilmektedir.

Lipoprotein LDL Kit; cam bir tüp içerisinde hazır halde bulunan %3'lük lineer poliakrilamid jel (stacking jel ve ayırım jeli), lipofilik bir boya (Sudan Black B) içerisinde sıvı yükleme jeli ve tampon içermektedir. Boya her lipoprotein içerisinde göreceli miktarda bulunan kolesterole orantılı olarak bağlanır (112).

Ayırım jelini içeren hazır tüpler, tüp sporu içerisine yerleştirilir. Önce 25 µl örnek ve ardından 200 µl yükleme jeli (lipide spesifik boya içerir) jel üzerine tatbik edilir. Tüpler çevrilerek karıştırılır. Örnek tüplerini içeren tüp sporu floresan ışık kaynağının önüne 35 dakika süreyle konur ve yükleme jelinin foto-polimerizasyonu sağlanır. Foto-polimerizasyonu sağlandıktan sonra jel tüpleri elektroforez ünitesi içerisine konmak üzere özel bir adaptöre yerleştirilir. Elektroforez ünitesinin alt haznesine bir litre, üst haznesine ise 200 ml tampon ilave edildikten sonra sabit akımda (3 mA/jel tüpü) 1 saat 5 dakika süreyle elektroforetik ayırım sağlanır. Önceden boyanmış olan lipoproteinler sonrasında elektroforez işlemine tabii tutulur. Elektroforez işleminin ilk fazında, lipoprotein partikülleri yükleme ve stacking jeller ile keskin ve dar bir band şeklinde konsantre edilir. Lipoprotein partikülleri ayırıcı jel matriksi boyunca göç ettiği için, partikül büyüklüğüne göre büyük partikülden küçük partiküle jelin eleme fonksiyonuna bağlı olacak şekilde lipoprotein bantlarına ayrılır. Aplikasyon noktasından itibaren sırasıyla VLDL, mid-C,-B,-A, LDL bantları ve HDL bandı oluşur. Eğer şilomikron varsa stacking jel üzerinde veya yükleme jeli içerisinde görülecektir. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel tüpleri tarayıcıya dansitometrik analiz için yerleştirilir.

Dansitometrik analiz tamamlandıktan sonra elde edilen data Lipoprint sistemi için geliştirilmiş bilgisayar programı (Quantimetrix software, Lipoware Research Version) ile analiz edilir. Elektroforez tamamlandıktan sonra boyanmış olan farklı LDL subfraksiyonları (bantları) jeldeki mobilitelerine göre (Rf) tanımlanır. VLDL bandı başlangıç referans noktası (VLDL=0) olarak kabul edilirken, HDL bandı öncü referans noktası (HDL=1) olarak alınır. Her LDL alt grubu için belirlenmiş olan Rf

değerine göre vertikal ayırım çizgileri yerleştirilir ve dansitometrik yoğunluğa göre oluşturulan eğrinin altında kalan alan hesap edilir. Her LDL alt grubu için belirlenen rölatif alan total kolesterol değeri (mg/dL) ile çarpılarak her bant için mg/dL cinsinden kolesterol miktarı belirlenir. Total kolesterol miktarı %100 olarak alınıp LDL subfraksiyonu % miktar olarak da tayin edilmektedir.

Sonuçta LDL alt grup analizinde ilk olarak VLDL bandı, IDL kolesterole karşılık gelen IDL-C, -B ve -A bantları, sonrasında antiaterojenik olan büyük ve daha az yoğun LDL-1 ve LDL-2 bantları ile aterojenik olan küçük-yoğun LDL-3, LDL-4, LDL-5, LDL-6 ve LDL-7 bantları ile son olarak HDL bandı görülmektedir (113).

### **3.3. Kolesterol ester transfer proteininin ölçümü**

Kolesterol ester transfer proteini ELISA kiti ile (ALPCO Diagnostics, katalog no#47-CETHU-E01, NH, USA) kantitatif olarak insan serumunda ölçülmüştür. Test plakları anti-CETP monoklonal antikor ile kaplıdır. Birinci inkübasyonda örnekte bulunan CETP antikor ile bağlanır. Sonrasında plak yıkanarak bağlanmayan proteinler ortamdan uzaklaştırılır. Yıkamadan sonra HRP-bağlı anti-CETP monoklonal antikor ilave edilir. İkinci inkübasyon ve yıkamadan sonra substrat solüsyonu reaksiyon ortamına ilave edilir. Stop solüsyonu ortama eklendikten sonra oluşan renklenme mikropalak okuyucuda 492 nm'de ölçülür. Çalışmamızda bilinen CETP standart konsantrasyonlarına karşılık elde edilen absorbans değerleri Graph Pad prism software programı yardımıyla oluşturulan logaritmik eğriye yerleştirildi. Örneklerdeki CETP miktarı µg/ml olarak standart eğriden hesaplandı.

### **3.4. Lesitin kolesterol açıl transferazın ölçümü**

Lesitin kolesterol açıl transferaz ELISA kiti (ALPCO Diagnostics, katalog no# 47-LCAHU-E01, NH, USA) ile kantitatif olarak insan serumunda ölçüldü. Test plakları anti-LCAT monoklonal antikor ile kaplıdır. Birinci inkübasyonda örnekte bulunan LCAT antikor ile bağlanır. Sonrasında plak yıkanarak bağlanmayan proteinler ortamdan uzaklaştırılır. Yıkamadan sonra HRP-bağlı anti-LCAT monoklonal antikor ilave edilir. İkinci inkübasyon ve yıkamadan sonra substrat

solüsyonu reaksiyon ortamına ilave edilir. Stop solüsyonu ortama konduktan sonra oluşan renklenme mikropalak okuyucuda 492 nm’de ölçülür. Çalışmamızda bilinen LCAT standart konsantrasyonlarına karşılık gelen elde edilen absorbans değerleri Graph Pad prism software programı yardımıyla oluşturulan logaritmik eğriye yerleştirildi. Örneklerdeki LCAT miktarı µg/ml olarak standart eğriden hesaplandı.

### **3.5. Apolipoprotein A-I ölçümü**

İnsan Apolipoprotein A-I, ELİSA kiti ile (MABTECH, katalog no# 3710-1HP-2, Cincinnati, USA), kantitatif olarak serumda ölçüldü. Test plakları insan ApoA-I monoklonal antikoru ile kaplıdır ve bu plaklara örnekler eklenir. Kaplı antikora bağlanan serum ApoA-I proteini biotin ile bağlı monoklonal antikor ile muamele edildi ve bunu takiben streptavidin-HRP kuyucuklara ilave edildi. Enzim substratı olarak TMB ortama eklendi. Örneklerde bulunan ApoA-I konsantrasyonu ile orantılı olarak renklenme oluştu. Stop solüsyonu ortama eklendikten sonra oluşan renklenme 450 nm’de mikropalak okuyucuda okutuldu. Çalışmamızda bilinen ApoA-I standart konsantrasyonlarına karşılık elde edilen absorbans değerleri Graph Pad prism software programı yardımıyla oluşturulan logaritmik eğriye yerleştirildi. Örneklerdeki ApoA-I miktarı g/L olarak standart eğriden hesaplandı.

### **3.6. Apolipoprotein B ölçümü**

İnsan Apolipoprotein B, ELİSA kiti ile (MABTECH, katalog no# 3715-1HP-2, Cincinnati, USA), kantitatif olarak serumda ölçüldü. Test plakları insan ApoB monoklonal antikoru ile kaplıdır ve bu plaklara örnekler eklenir. Kaplı antikora bağlanan serum ApoB proteini biotin ile bağlı monoklonal antikor ile muamele edilir ve bunu takiben streptavidin-HRP kuyucuklara ilave edilir. Enzim substratı olarak TMB ortama eklenir. Örneklerde bulunan ApoB konsantrasyonu ile orantılı olarak renklenme olur. Stop solüsyonu ortama eklendikten sonra oluşan renklenme 450 nm’de mikropalak okuyucuda okutulur. Çalışmamızda bilinen ApoB standart konsantrasyonlarına karşılık elde edilen absorbans değerleri Graph Pad prism software programı yardımıyla oluşturulan logaritmik eğriye yerleştirildi. Örneklerdeki apoB miktarı g/L olarak standart eğriden hesaplandı.

### **3.7. İstatistiksel analiz**

Hasta ve kontrol grubuna ait verilerin değerlendirilmesinde Sigma Stat (version 2.03) istatistik programı kullanıldı. Hasta ve kontrol grubuna ait verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-simironov testi ile belirlendi. Normal dağılıma uyan hasta ve kontrol grubuna ait verilerin değerlendirilmesinde Bağımsız t-testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması için Bağımsız t-testinin karşılığı olan Mann Whitney U testi uygulandı. Gruplar arasındaki anlamlı farklılık % 95 güven aralığında ( $p < 0.05$ ) değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubuna ait verilerin grafiksel olarak gösterilmesinde Box-Whisker grafileleri kullanıldı.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Hematoloji polikliniğine ve Antakya Devlet Hastanesi Kan Hastalıkları Tanı ve Tedavi Merkezi'ne başvuran 18 yaş altı 45 (23 erkek /22 kadın) OHA hastası ile 38 (16 erkek /22 kadın) sağlıklı çalışmaya dahil edildi. Çalışmamızda cinsiyet, yaş, boy, kilo demografik özellik olarak değerlendirildi. Hastaların demografik özellikleri Tablo 5'de gösterilmiştir.

**Tablo 5:** Kontrol ve Hasta grubunun demografik özellikleri

	<b>KONTROL (Ort±SD)</b>	<b>HASTA (Ort±SD)</b>	<b>p</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	11,47±4,06	12,24±4,08	0,223
<b>Boy (cm)</b>	146±18,8	144±16,9	0,667
<b>Kilo (kg)</b>	41,7±16	35,2±13,1	0,054
<b>BMI</b>	18,2±3,8	17,3±6,9	0,49

Çalışmaya alınan OHA hasta ve kontrol grubuna ait TK, LDL, HDL ve trigliserid değerleri Tablo 6 'da verilmiştir. OHA hasta grubunda TK, HDL, LDL ve değerleri arasında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür. OHA hasta grubundaTK, HDL, LDL değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken, trigliserid değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0.001).



**Tablo 6:** Kontrol Grubu ve Orak Hücre Anemisinde Lipid Profili

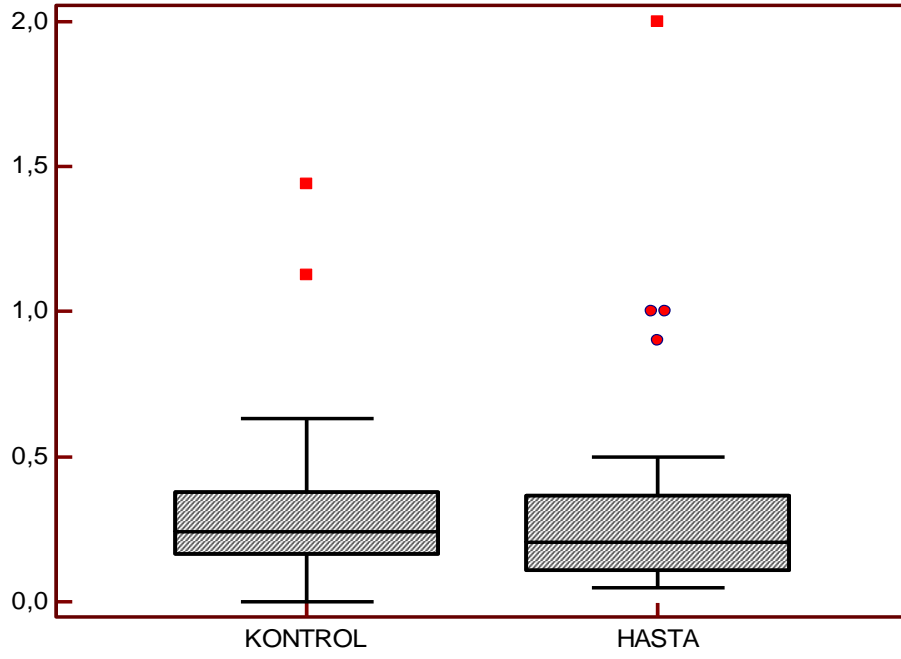
Parametre	Kontrol(n:38) (Ort±SD)	Orak Hücre Anemisi(n:45) (Ort±SD)	p
Kolesterol(mg/dl)	131,47 ± 24,79	101,56 ± 20,22	<0.001
TG (mg/dl)	80,63 ± 73,5	116,57 ± 57,72	<0.001
LDL (mg/dl)	72,48 ± 25,2	51,19 ± 18,79	<0.001
HDL (mg/dl)	42,76 ± 10,75	26,61 ± 8,89	<0.001

Değerler ortalama ± SD olarak verilmiştir. HDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein; TG, Trigliserid

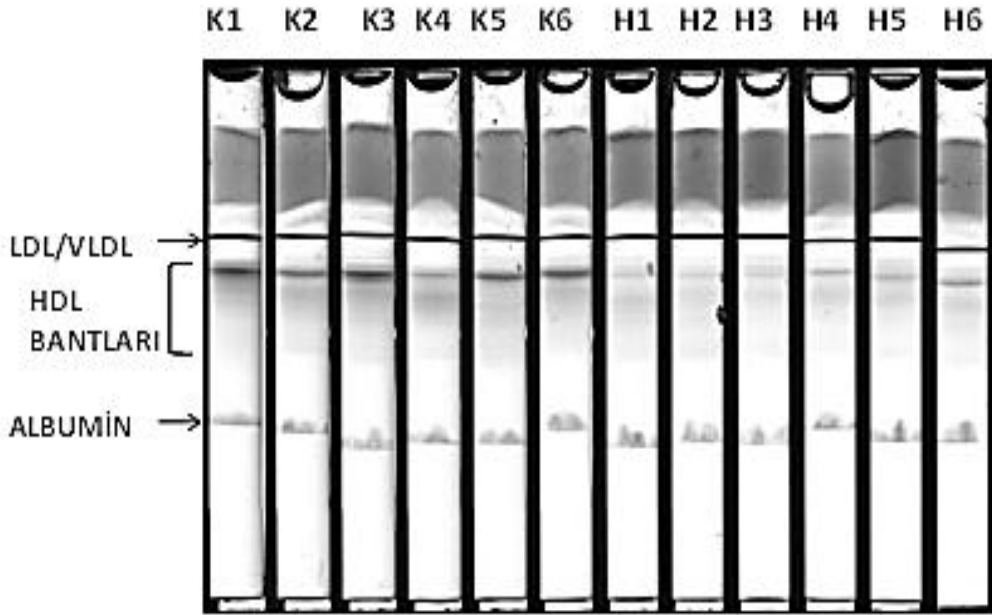
OHA hasta ve kontrol grubuna ait HDL alt grup sonuçları Tablo 7’ de verilmiştir. Genel olarak HDL alt grup değerleri OHA hasta grubunda düşük bulunmuştur. Her bir hastanın HDL-küçük alt grup değeri HDL-büyük alt grup değerine oranlanarak kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 7). Kontrol ve OHA hasta grubunda HDL alt grup analizi için jel ve dansitometrik analiz örnekleri Şekil 8-9-10’de gösterilmiştir.

**Tablo 7:** Kontrol Grubu ve Orak Hücre Anemisinde HDL alt grup analizi sonuçları.

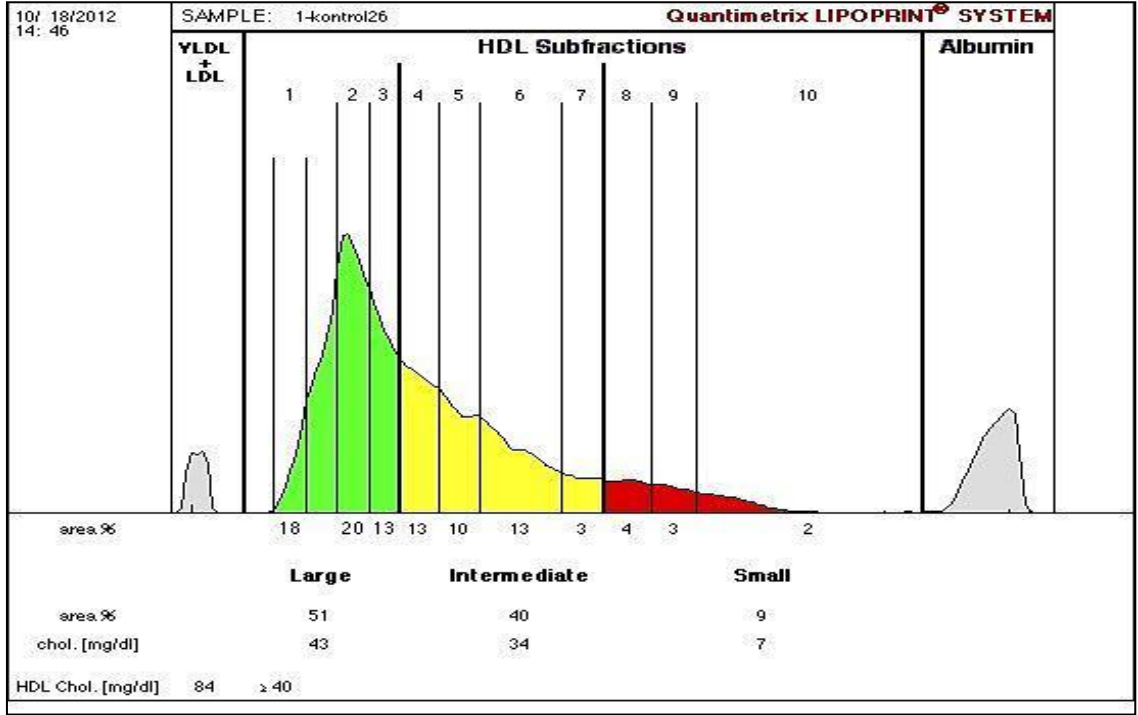
Parametre	Kontrol (Ort±SD)	Orak Hücre Anemisi (Ort±SD)	p
HDL-1 (mg/dl)	4,81 ± 2,88	3,67 ± 1,72*	0.031
HDL-2 (mg/dl)	7,89 ± 3,45	4,53 ± 2,32*	<0.001
HDL-3 (mg/dl)	3,87 ± 2,13	2,53 ± 1,19*	<0.001
HDL-4 (mg/dl)	5,08 ± 2,24	3,56 ± 1,34*	<0.001
HDL-5 (mg/dl)	5,26 ± 1,52	3,82 ± 1,39*	<0.001
HDL-6 (mg/dl)	8,47 ± 2,83	5,22 ± 2,28*	<0.001
HDL-7 (mg/dl)	2,45 ± 1,27	1,42 ± 1,08*	<0.001
HDL-8 (mg/dl)	2,16 ± 1,15	1,57 ± 0,74*	<0.001
HDL-9 (mg/dl)	1,55 ± 0,83	0,89 ± 0,53*	<0.001
HDL-10(mg/dl)	1,08 ± 1,57	0,47 ± 0,79*	0.042
HDL Büyük (mg/dl)	16,66 ± 7,89	10,80 ± 5,00*	<0.001
HDL Ara (mg/dl)	21,21 ± 4,70	13,60 ± 5,50*	<0.001
HDL Küçük (mg/dl)	4,74 ± 2,84	2,31 ± 1,86*	<0.001
HDL Küçük/ Büyük	0,33 ± 0,28	0,32 ± 0,36	0.246



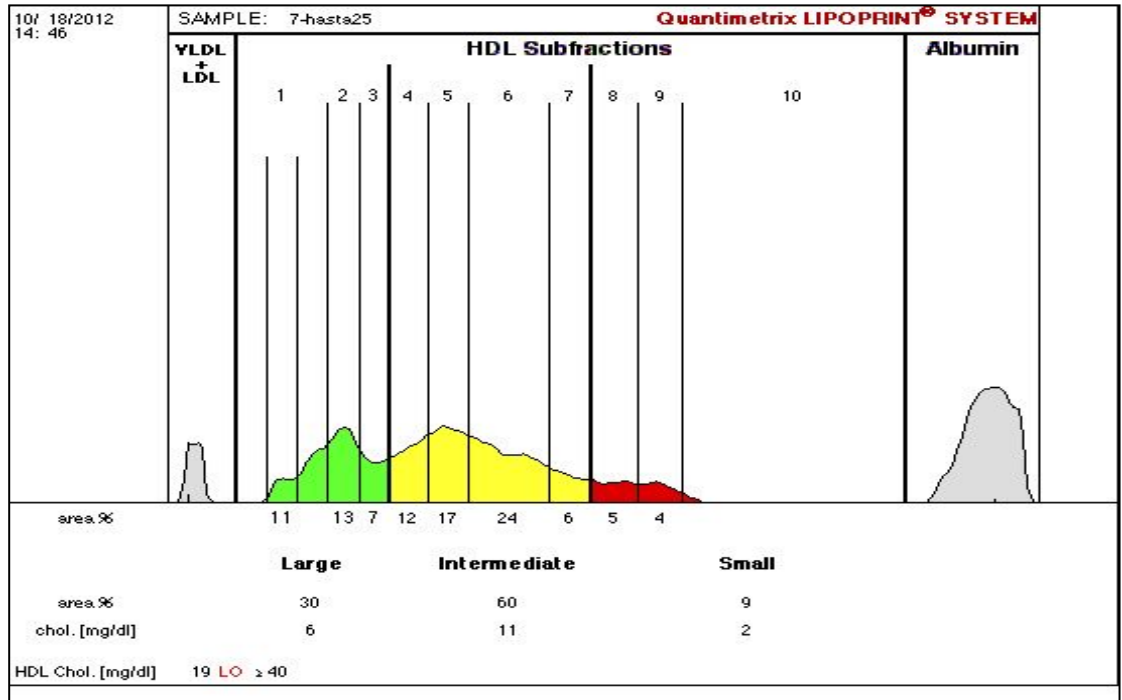
Şekil 7: OHA hasta ve kontrol grubu HDL küçük / HDL büyük oranı



Şekil 8: OHA ve kontrol grubuna ait HDL alt grup analizi için jel görünümü. K: Kontrol, H: Hasta



Şekil 9 : Kontrol grubuna ait bir örneğin HDL alt grup dansitometrik taraması



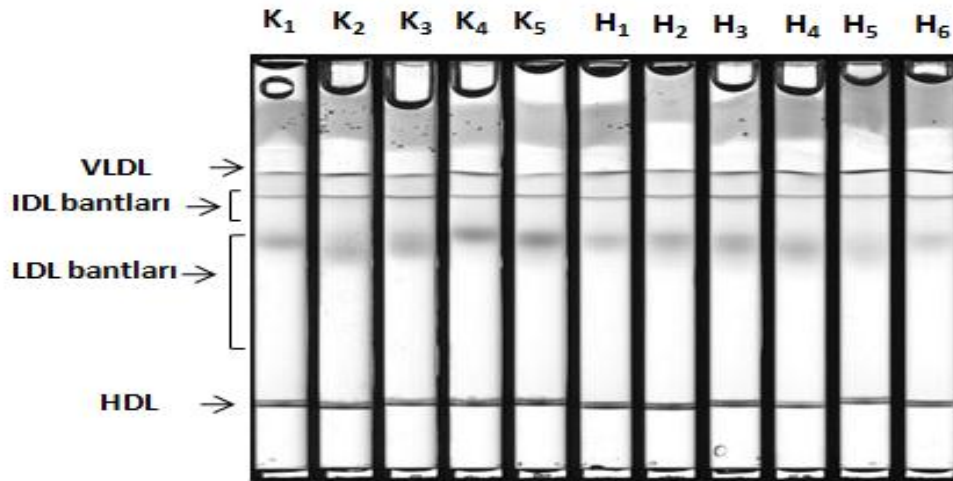
Şekil 10: OHA grubuna ait bir örneğin HDL alt grup dansitometrik taraması

Kontrol ve OHA hasta grubuna ait LDL alt grup analiz sonuçları Tablo 8 'de verilmiştir. OHA hasta grubun kontrol grubu ile kıyaslandığında IDL A,B,C ve LDL-1 alt grup değerleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. OHA hasta ve kontrol grubu arasında LDL-2 ve LDL-3 alt grup değerleri için anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. LDL 4-7 alt gruplarına ait bandlar gözlenmediğinden değerlendirilememiştir. Kontrol ve OHA hasta grubunda LDL alt grup analizi için jel ve dansitometrik analiz örnekleri Şekil 11-12-13'de gösterilmiştir

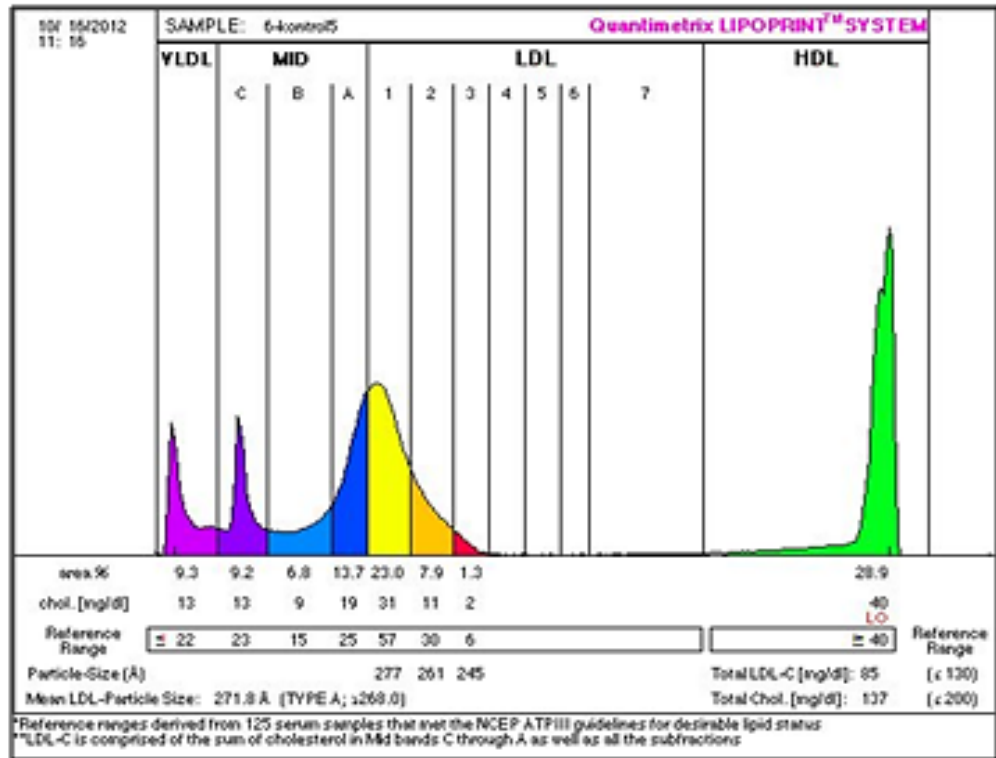
**Tablo 8:** Kontrol Grubu ve Orak Hücre Anemisinde LDL Alt Grup Analizi

Parametre	Kontrol(Ort±SD)	Orak Hücre Anemisi(Ort±SD)	p
IDL-C (mg/dl)	13,71 ± 4,37	1,20 ± 2,83*	<0.001
IDL-B (mg/dl)	13,74 ± 9,45	7,24 ± 2,05*	<0.001
IDL-A (mg/dl)	14,76 ± 4,86	8,93 ± 3,08*	<0.001
LDL-1 (mg/dl)	23,68 ± 11,09	17,53 ± 6,43*	0.002
LDL-2 (mg/dl)	8,13 ± 6,21	7,98 ± 5,08	0.90
LDL-3 (mg/dl)	0,97 ± 1,55	1,20 ± 1,62	0.50

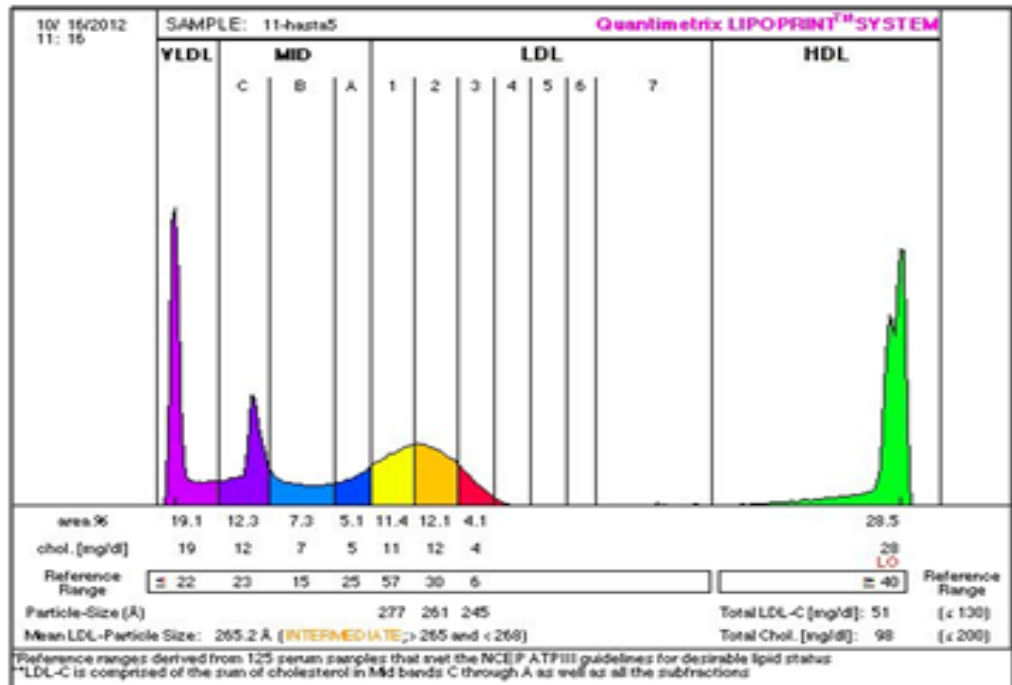
IDL, ara yoğunluklu lipoprotein; LDL, düşük yoğunluklu lipoprotein.



**Şekil 11:** OHA ve kontrol grubuna ait LDL alt grup analizi için jel görünümü. K: Kontrol H:Hasta

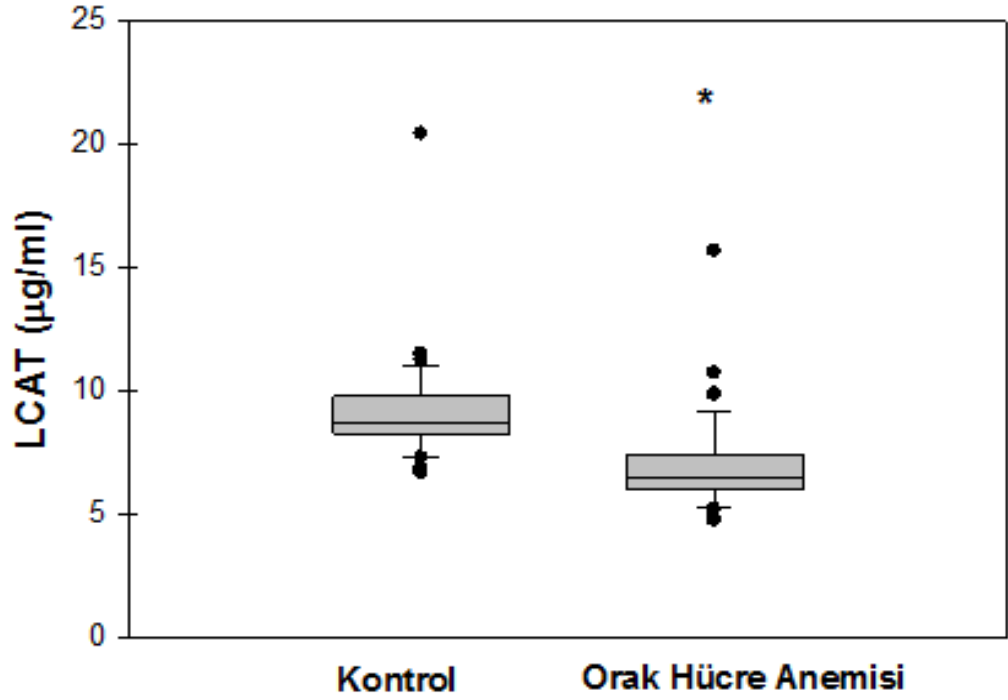


Şekil 12: Kontrol grubuna ait bir örneğin LDL alt grup dansitometrik taraması



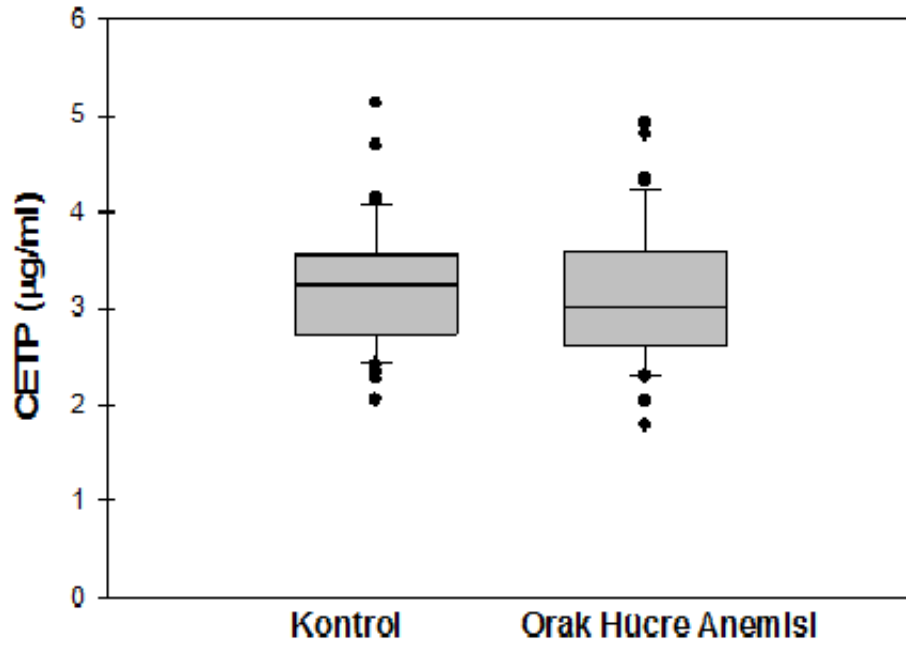
Şekil 13 : OHA hasta grubuna ait bir örneğin LDL alt grup dansitometrik taraması

Kontrol grubu ve hasta grubu LCAT ölçümleri Şekil 14’de gösterilmiştir. OHA hasta grubu (n:44) LCAT değerleri ( $6.96 \pm 1.89 \mu\text{g/ml}$ ); kontrol grubunun (n=38) LCAT değerleri ( $9.14 \pm 2.24 \mu\text{g/ml}$ ) ile kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir.



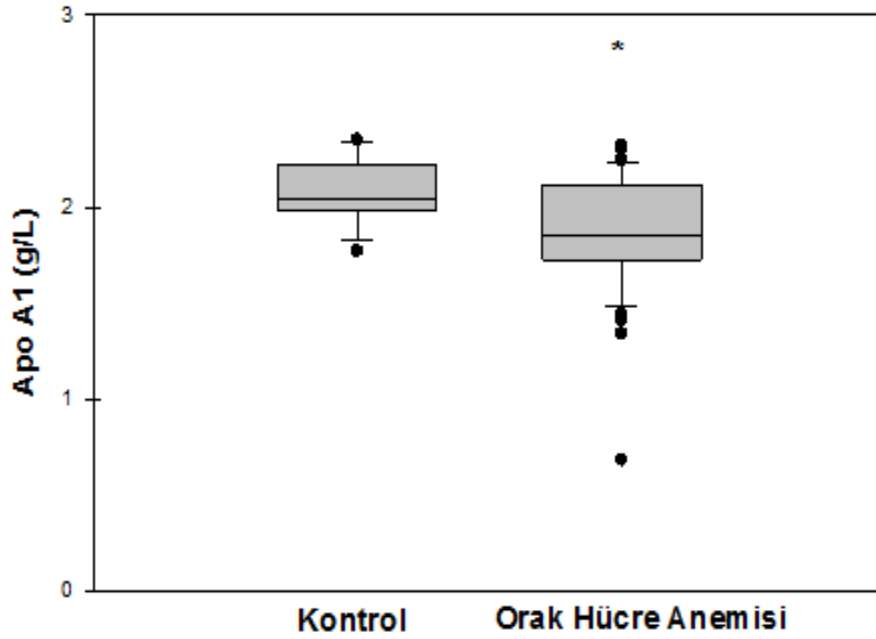
Şekil 14: Kontrol ve hasta grubunda serum LCAT değerleri. \*:  $p < 0.05$

Kontrol grubu ve hasta grubu CETP ölçümleri Şekil 15’de gösterilmiştir. OHA hasta grubu CETP değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubu (n:38) CETP sonuçları  $3.23 \pm 0.66 \mu\text{g/ml}$ ; OHA hasta grubu (n=44) CETP değerleri  $3.13 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$  olarak bulunmuştur. Değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir.



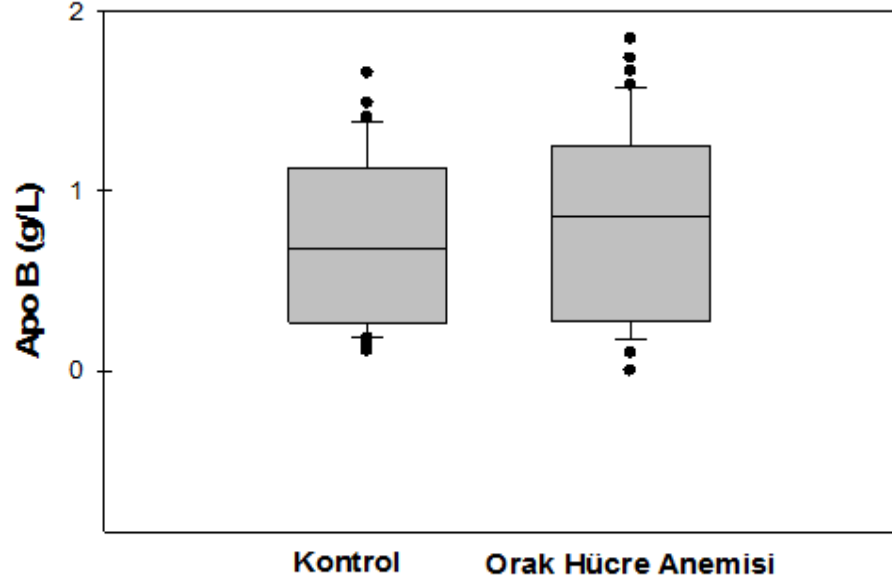
Şekil 15: Kontrol ve hasta grubunda serum CETP değerleri

Kontrol grubu ve hasta grubu ApoA-I ölçümleri Şekil 16'de gösterilmiştir. OHA hasta grubunda (n:41) apo A-I değerleri ( $1.86 \pm 0.31$  g/L); Kontrol grubunda (n=34) apoA-I değerleri ( $2.06 \pm 0.17$  g/L) ile kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p=0,001$ ). Değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir.



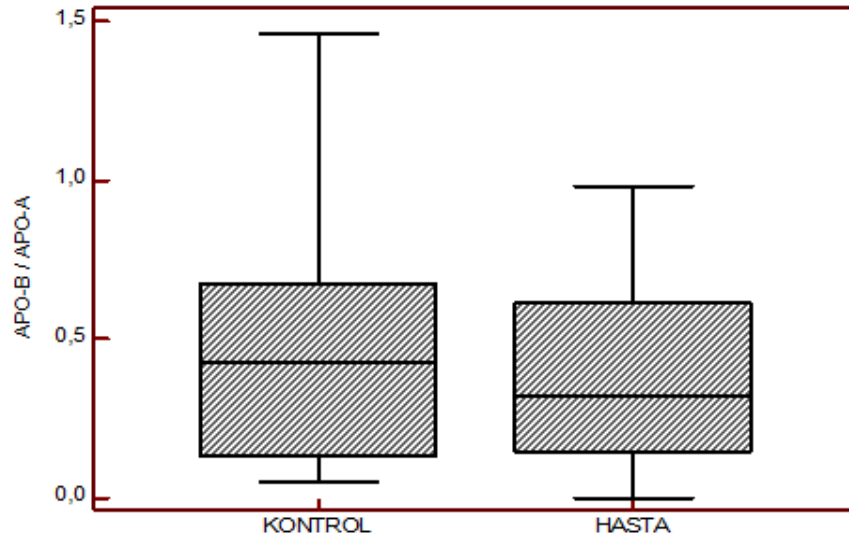
Şekil 16: Kontrol ve hasta grubunda serum ApoA-1 değerleri \*:  $p<0,001$

Kontrol grubu ve hasta grubu ApoB ölçümleri Şekil 17’da gösterilmiştir. Kontrol grubu ve hasta grubunda Apo B değerleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Kontrol grubu (n:38) Apo B sonuçları  $0.74 \pm 0.46$  g/L, OHA hasta grubunda  $0.81 \pm 0.5$  g/L (n=45) olarak bulunmuştur. Değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir.



Şekil 17: Kontrol ve hasta grubunda serum apoB değerleri

Aterojenite indeksi olarak değerlendirilen Apo B /Apo A-I oranına bakıldığında OHA hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık ( $p:0.882$ ) gözlenmemiştir (Şekil 18).



Şekil 18: OHA hasta ve kontrol ApoB/ ApoA-I oranı



## 5. TARTIŞMA

Orak hücre anemisinin, düşük HDL, LDL, total kolesterol ve artmış trigliserid düzeyleri ile karakterize hipolipidemik lipid profili daha önceden yapılan çeşitli araştırmalar ile ortaya konmuştur (114). Ancak OHA'li hastalarda HDL ve LDL alt grup tayini ve ters kolesterol transportu ilişkisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle mevcut çalışmamızda OHA ve kontrol grubunda lipid profili, HDL ve LDL kolesterol alt grup analizleri, CETP , LCAT , ApoA-I ve ApoB seviyeleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bilgiler doğrultusunda OHA'nin ters kolesterol transportuna olan etki mekanizmalarının incelenmesi amaçlanmıştır.

OHA hasta grubuna 45 HbSS hastası, kontrol grubuna 38 sağlıklı gönüllü dahil edildi. OHA hasta grubunun yaş ortalaması 12,24 yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması 11,47 yıl olarak bulunmuştur. OHA hasta ve kontrol grubu yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p:0,398). OHA hasta grubu; yaş ortalaması 11 yıl olan 23 erkek hasta ve yaş ortalaması 13,4 yıl olan 22 kadın hastadan oluşturulmuştur. Kontrol grubu ise yaş ortalaması 10,7 yıl olan sağlıklı erkek ve yaş ortalaması 12 yıl olan sağlıklı kadın gönüllülerden oluşturulmuştur. Seixas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yaş ortalaması 9.2 olan 82 erkek, 70 kadın HbSS hastası dahil edilmiştir (4). VanderJaqt ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya yaş ortalaması 13,3 yıl olan 40 kadın ve yaş ortalaması 13,5 yıl olan 37 erkek HbSS hastası dahil edilmiştir (115). Çalışmamıza dahil edilen OHA'li hastalardaki kadın/erkek hasta oranı daha önce yapılmış olan çalışmalarla benzer oranlarda bulunmuştur. Aynı şekilde hasta grubunun yaş ortalaması daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Kontrol grubu da cinsiyet ve yaş kriterleri bakımından hasta grubu ile uyumlu gönüllülerden oluşturulmuştur.

Çalışmamızda OHA hasta ve kontrol grubunda lipid profili ile ilgili TK, trigliserid, HDL ve LDL düzeyleri incelenmiştir. Mokondjimobe ve arkadaşlarının OHA'li hasta ve OHA taşıyıcılarda yaptığı çalışmada; OHA'li hasta grubunda TK ve LDL kolesterol düzeyinde anlamlı azalma, trigliserid düzeyinde anlamlı artış tesbit edilmiştir (116). Zorca ve arkadaşları %76'sı HbSS, %24'ü HbSC veya S $\beta$ +talasemi olan 365 hasta ve 39 bireyden oluşan kontrol grubu ile yaptığı çalışmada TK, LDL ve HDL düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük; trigliserid düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (114). VanderJaqt ve arkadaşlarının 77 HbSS hastaları arasında yaptığı çalışmada her iki cinsiyette de TK, HDL ve LDL seviyeleri referans değerlerin altında bulunurken, trigliserid seviyeleri ise referans değerlerin içinde bulunmuştur (115). Monnet ve arkadaşları 114 HbSS hastası ve 40 sağlıklı gönüllü ile yaptığı çalışmada TG dışındaki lipid parametrelerini OHA'li hastalarda anlamlı olarak düşük bulmuşlardır (117). Seixas ve arkadaşlarının 152 HbSS hastası ve 132 sağlıklı gönüllü ile yaptığı çalışmada OHA hasta grubunda TK, HDL ve LDL düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düşük; trigliserid düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (4). Mevcut çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak OHA hasta grubunda TK, HDL, LDL seviyeleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük; trigliserid seviyesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

OHA ve beta talasemili hastalarda lipid ve lipoprotein metabolizması değişmektedir. Hemolitik stres trigliserid haricinde plazma lipid düzeylerinde anlamlı bir azalma ile ilişkili olabilir(118). Bu hastalardaki azalmış kırmızı hücre volümü; plazma volümünde artış ve lipid, lipoprotein gibi plazma bileşenlerinde dilüsyona bağlı azalma ile sonuçlanabilir (119, 120). OHA hastalarındaki kolesterol düzeyinin düşük olmasının nedeni; osmotik basıncı dengelemek için artan eritropoez sırasında membranlardaki serbest kolesterol kullanımının artmasından kaynaklanabilmektedir (114). Bu hastalarda trigliserid düzeyinde azalma olmaması trigliseridin hücre membranının yapı taşı olmaması ile açıklanabilir. OHA'li hastalarda trigliserid düzeyleri kolesterol düzeyleri kadar yaygın çalışılmamıştır ve son çalışmalarda bulunan sonuçlar değişkendir.

HDL periferik hücrelerden kolesterol alır. HDL yüzeyinde bulunan ApoA-I, serbest kolesterolü kolesterol esterine çeviren LCAT'ı aktive eder. Kolesterol esteri

büyük sferik HDL partikülleri için gerekli ana maddedir. HDL yapısında bulunan kolesterol esterleri ApoB-100 bulunduran lipoproteinler olan VLDL ve LDL'ye CETP aracılığıyla trigliserid değişimi yapılarak aktarılır. Yapısına alınan trigliserid ile zenginleştirilmiş olan HDL partikülü, hepatik lipaz aktivitesine oldukça duyarlıdır. Bu aktivite sonrasında lipidden fakir pre $\beta$ -1 ve  $\alpha$ -4 gibi HDL artıkları oluşur (121). HDL boyutunda azalma olması durumunda HDL'nin katabolizması artar (122). CETP eksikliğinde HDL kolesterol düzeylerinde artma ve LDL kolesterol düzeylerinin normal düzeylerde olduğu antiaterojenik lipid profili görülmektedir (123). CETP eksikliği olan vakalarda HDL kolesterol seviyeleri artmış olmasına rağmen koroner riskle ilişkili veriler çelişkilidir (123). Samani ve arkadaşları koroner anjio sonucu stenoz tespit edilen 187 koroner arter hastası ile anjio sonucu sağlıklı olduğu belirlenen 136 kontrolde serum CETP düzeylerini incelemişlerdir. Bu çalışmaya göre koroner arter hastalığı olan grupta CETP düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur (124). Mevcut çalışmamızda OHA hasta grubu CETP değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığımızda anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Lesitin kolesterol açıl transferaz, lipoproteinlerin yüzeyinde bulunan, aynı zamanda lesitin olarak da bilinen fosfatidilkolinde bulunan yağ asitlerini serbest kolesterole transfer ederek kolesterol esterini oluşturur bir enzimdir (74). LCAT tarafından oluşturulan kolesterol esterleri daha hidrofobik oldukları için disk halindeki HDL'nin çekirdeğine girerek sferik forma dönüşmesini sağlar. HDL partikülünün büyüklüğü toplanmış olan kolesterol esterlerinin miktarına ve LCAT aktivitesine bağlıdır (73). Ayrıca HDL yapısında bulunan ApoA-I LCAT için kofaktör olarak görev yapmaktadır. İnsan LCAT enzimi, HDL'de kolesterol esterifikasyonu sırasında hücre membranı ile HDL yüzeyi arasında serbest kolesterol gradiyenti oluşmasını sağlamaktadır (125). Oluşan bu gradiyentin hücreden lipoproteinlere devamlı bir kolesterol akışı sağladığı ve kolesterolün hücrelere geri dönüşünü engellediği düşünülmektedir (126). Kolesterolün hücreler tarafından tekrar alınmasının engellenmesi, LCAT tarafından uyarılan HDL aracılığıyla kolesterol alımının en önemli noktasını oluşturmaktadır. LCAT tarafından kolesterol transferi hem hücre tipine hem de hücrenin metabolik durumuna bağlıdır. Serum LCAT seviyeleri daha önce yapılan çalışmalar ile sağlıklı bireylerde ve farklı hastalık durumlarında belirlenmiştir. Pahl ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada inflamasyon,

oksidatif stress, trigliserid ve HDL metabolizmasının bozulmasından dolayı artmış ateroskleroz ile sonuçlanan son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda LCAT seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olarak bulunmuştur (127). Magkos ve arkadaşları 40 diabeti olmayan obez ve 40 zayıf gönüllü arasından yaptığı çalışma sonucunda obez olgularda LCAT seviyelerini %30 daha fazla bulmuşlardır. Bu çalışma ile LCAT seviyelerinin total vücut yağı ve küçük HDL partikülleri ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir (128). LCAT eksikliği düşük HDL seviyeleri ile karakterizedir (129). Düşük HDL seviyeleri KAH için risk faktörüdür. Teorik olarak LCAT eksikliği ile giden hipoalfalipoproteinemili hastalarda HDL eksikliği ve bozulmuş ters kolesterol transportundan dolayı KVH'larının artması beklenmektedir. Ancak bu ilişki her zaman olmayabilir (129). Bazı çalışmalarda bu hastalardaki artmış kardiyovasküler risk için bulgular çelişkilidir. Kesitsel (cross sectional) çalışmalarda anjiyografi ile KAH tesbit edilen hastaların bir kısmında LCAT'ın aktivitesinin arttığı bir kısmında azaldığı gösterilmiştir (129). Hovingh ve arkadaşları 47 heterozigot LCAT mutasyonlu hastada 58 kontrol ile karşılaştırıldığında intima media kalınlığının anlamlı olarak arttığını; HDL seviyelerinin %36 azaldığını ve Apo-A1 seviyelerinin %22 azaldığını göstererek ateroskleroz riskinin arttığını düşünmüşlerdir (130). Calabresi ve arkadaşları 40 LCAT mutasyonu olan hasta ve 80 kontrol ile yaptığı çalışmada; LCAT mutasyonlu hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak HDL seviyesini düşük ve intima media kalınlığını da anlamlı olarak düşük bulmuşlar böylece LCAT mutasyonunun subklinik ateroskleroz için risk oluşturmadığını düşünmüşlerdir (131). HDL düşüklüğü ile giden LCAT eksikliği olan hastalarda subklinik aterosklerozun olmayışı; HDL'nin ateroskleroz için önemli bir koruyucu olmadığını düşündürmektedir (129). Bu çalışmalar ışığında LCAT ile ateroskleroz arasındaki ilişki tartışmalıdır. LCAT transgenik farelerle yapılan çalışmalarda artmış LCAT ekspresyonuyla ilişkili olarak artmış TK, LDL ve HDL seviyeleri gözlenmiştir (132). LCAT seviyesi yüksek olan bu farelerde Apo-AI, Apo-AII ve Apo E içeren değişik boyutlarda HDL gözlenmiştir. Bu farelerdeki Apo E'den zengin HDL'nin disfonksiyonel olduğu bulunmuştur (133). LCAT transgenik tavşanlarda; LCAT'ın overekspresyonu, artmış HDL, %50-60 oranında proaterojenik olan ApoB lipoprotein seviyelerinde azalma ve diet ile indüklenen ateroskleroza karşı korunduğu gözlenmiştir (134). Ancak LCAT aşırı ekspresyonu olan farelerin

dietle indüklenen ateroskleroza karşı korunmadığı ve bazı farelerde aterosklerozun arttığı görülmüştür (135) LCAT knockout farelerde TK, kolesterol ester HDL, Apo AI seviyelerinde azalma trigliserid seviyelerinde artış gözlenmiştir (136). LCAT eksikliği olan fareler yüksek kolesterollü diyet ile beslendiklerinde HDL seviyelerindeki azalmaya rağmen diyet ile indüklenen aterosklerozda azalma gözlenmiştir (137). Önceki çalışmalarda küçük HDL alt grubunun LCAT seviyesi ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (128). Mevcut çalışmamızda OHA hasta grubunda LCAT değerleri kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak düşük bulundu. OHA hasta grubunda LCAT seviyelerinin düşük olması total HDL ve küçük HDL alt grup seviyelerindeki azalma ile uyumluydu.

ApoA-I; HDL'nin major apolipoproteinidir. ApoA-I plazmada serbest kolesterolü esterifiye eden LCAT'ın aktivatörüdür (49). Ayrıca ApoA-I antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi ile aterosklerozdan koruyucu etkiye sahiptir (138). Apo B-100; VLDL, IDL ve LDL'nin major apolipoproteinidir (49). ApoB'nin oksidasyonu çeşitli proinflamatuvar ürünlerin oluşması ile aterosklerozu arttırmaktadır (139). Serum apo A-I ve apo B düzeyleri daha önce yapılan çalışmalar ile sağlıklı bireylerde ve farklı hastalık durumlarında belirlenmiştir. Monnet ve arkadaşlarının 114 HbSS hastası ve 40 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada; HbSS hastalarında Apo AI seviyeleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuş ayrıca OHA hastalarında ağrılı kriz esnasında ApoA-I seviyeleri ağrılı krizi olmayan stabil OHA hastalarına göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (117). Monnet ve arkadaşları HbSS'li hastalarda ApoA-I ve Apo B seviyelerini ölçerek aterojenik riski belirlemişlerdir. Bu çalışmada ApoA-I ve Apo B seviyeleri kontrolle kıyaslandığında düşük bulunmuştur ancak ApoB/ApoA-I oranı ile belirlenen aterojenite indeksi normal aralıkta gözlenmiştir (140). Djoumessi ve arkadaşları 76 OHA taşıyıcısı ve 46 sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmada; Hb-AS'li bireylerde Apolipoprotein A-1 seviyesini düşük, Apolipoprotein B seviyesini HbAA'lı bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır(141). Mevcut çalışmamızda OHA'li hasta grubunda literature ile uyumlu olarak ApoA-I değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken, ApoB seviyeleri için hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. ApoB bakımından aynı uyumluluk gözlenmemiştir. Ayrıca

aterojenite indeksini belirlemek için ApoB/ ApoA-I oranına bakıldığında hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

HDL yapı ve işlevsellik olarak heterojen alt gruplardan oluşan bir lipoproteindir. Total HDL kolesterol seviyesinin KAH ile olan ters ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. HDL işlevselliğinin HDL plazma seviyesinden daha fazla önem arz ettiği gösterilmiştir. Ayrıca HDL alt gruplarının seviyesinin total HDL kolesterol seviyesinden KAH için daha iyi bir prediktör olduğu gösterilmiştir (7). Büyük boyutlu HDL; KAH ile ters ilişki gösterirken, küçük boyutlu HDL damar duvarına infiltre olduğundan KAH ile pozitif ilişki göstermektedir (10). Patolojik durumlarda HDL'nin işlevselliği bozulabilir. Kardiyovasküler hastalıklara sebep olan dislipidemide büyük boyutlu HDL<sub>2</sub>'nin azalması, küçük boyutlu HDL<sub>3</sub> ve pre-beta1 HDL'nin artması ile karakterize HDL alt grup dağılım değişikliği gözlenmektedir (12). OHA'de düşük HDL, LDL ve kolesterol seviyeleri ile karakterize hipolipidemik lipid profili görülmesine rağmen ateroskleroza meyil olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (114). Bu nedenle OHA'de aterojenik profile sahip HDL alt gruplarının değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Drexel ve arkadaşları HDL<sub>2</sub> seviyesini özellikle HDL<sub>2b</sub> alt fraksiyonu değerlerini koroner arter hastalarında sağlıklı bireylere göre daha düşük bulmuşlardır (142). Lamarche ve arkadaşları HDL<sub>2</sub> seviyesinin; HDL<sub>3</sub> ve total HDL kolesterolden KAH riski için daha çok belirleyici bir faktör olduğunu göstermişlerdir (143). Guey ve arkadaşları koroner kalp hastalığında pre-beta HDL'nin arttığını göstermişlerdir (144). Mueller ve arkadaşları miyokard infarktüsü olgularda kontrole kıyasla HDL<sub>2b</sub> seviyelerini anlamlı olarak düşük bulmuştur ve HDL<sub>2b</sub> seviyelerinin beden kitle indeksi, sigara içme, trigliserid ve LDL kolesterol seviyeleri ile ters orantılı olduğunu göstermişlerdir (145). Xian ve arkadaşları obez olmayan tip2 diabetli hastalarda büyük boyutlu HDL<sub>2</sub> partiküllerinde azalma, küçük boyutlu HDL alt gruplarında artış göstermişlerdir (146). Pre-beta HDL seviyeleri KAH ve iskemik kalp hastalığı olan hastalarda artmıştır (7). Literatürde OHA'sinde HDL alt gruplarını değerlendiren çalışma bulunmamaktadır. Mevcut çalışmamızda HDL alt grup değerleri OHA hasta grubunda düşük bulundu. Aterojenik bir belirteç olarak her bir hastanın aterojenik profile sahip HDL-küçük (HDL8-10) alt grup değerleri, antiaterojenik profile sahip

HDL-büyük (1-3) alt grup değerlerine oranlanarak kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi.

Serum LDL alt grup değerleri daha önce yapılan çalışmalarda sağlıklı bireylerde ve farklı hastalık durumlarında belirlenmiştir. Campos ve arkadaşları 275 KAH olan ve 822 kontrol ile yaptığı çalışmada büyük LDL alt gruplarının hastalarda daha az olduğunu göstermişlerdir (90). Coresh ve arkadaşları elektif koroner anjiyografi yapılan 98 erkek/100 kadın koroner arter hastasında yaptığı çalışmada küçük LDL alt gruplarının KAH ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (147). Mevcut çalışmamızda OHA hasta grubunda kontrol grubu ile kıyaslandığında IDL A, B, C değerleri ve antiaterojenik profile sahip LDL-1 alt grubu anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Anti aterojenik profile sahip LDL-2 ve aterojenik profile sahip LDL-3 altgrupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemesi, total LDL düşüklüğünün LDL-1'e bağlı olduğunu desteklemektedir. Bu sonuçlara göre; OHA hastalarda total LDL düşük olmasına rağmen antiaterojenik profile sahip LDL-1'in düşük olması OHA'sinin ateroskleroz prosesine katkıda bulunacağını desteklemektedir.

OHA 'li hastalarda ateroskleroza meyil olduğuna dair bazı çalışmalara dayanarak hipolipidemi ile giden OHA'li hastalarda HDL alt grupları açısından aterojenik profile sahip küçük HDL alt grubunda artış beklenmesine rağmen tüm HDL alt gruplarında azalma görülmüştür. Bununla beraber total HDL açısından bakıldığında HDL'nin düşük olması; aterosklerozdan koruyuculuğun düşük olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca aterojenik profile sahip küçük HDL alt grup değerinin antiaterojenik profile sahip büyük HDL alt grup değerine oranlanarak kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılık görülmemiştir. Bu durum HDL alt grubu bakımından OHA hastalarında ateroskleroza meyil olduğunu düşündürmemektedir.

Sonuç olarak OHA hastalarda; total LDL'nin kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen antiaterojenik profile sahip LDL-1'in düşük olması, HDL'nin ana lipoproteini olan ApoA-1'in düşük olması, LCAT'ın antiaterojenik olduğuna dair literatürde çelişkili veriler olsa da LCAT değerlerinin düşük olması ve total HDL'nin düşük olması OHA'li hastalarda ateroskleroza meyil olduğunu düşündürmektedir. Bununla beraber HDL'nin aterojenik profile sahip küçük HDL alt grup değerlerinin antiaterojenik profile sahip büyük HDL alt grup değerlerine oranladığımızda kontrole

göre fark olmaması, LDL metabolizmasının ana proteini olan ApoB için OHA hasta ve kontrol grubu arasında fark olmaması ve ateroskleroz indeksi olarak değerlendirilen ApoB/ApoA-1 oranında gruplar arasında fark olmaması, kronik inflamasyon ve devamlı endotel aktivasyonu gibi ortak patogeneze sahip OHA ve ateroskleroz arasındaki tartışmalı ilişkiyi devam ettirmektedir.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada orak hücre anemili hastalarda ters kolesterol transportunu değerlendirmeyi amaçladık.

Sonuç olarak;

1. Çalışmaya 18 yaş altı 45 hasta, 38 sağlıklı kontrol dahil edildi
2. Çalışmaya alınan hastaların 23 tanesi kadın, 22 tanesi erkekti
3. Hastaların TK, LDL ve HDL değerleri kontrollere göre anlamlı olarak düşük saptandı.
4. Hastaların HDL alt grup değerleri kontrollere göre anlamlı düşük saptandı. Aterojenik profile sahip küçük HDL alt grup değerleri antiaterojenik profile sahip büyük HDL alt grup değerlerine oranlanıp kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir farklılık saptanmadı.
5. OHA'li hastaların antiaterojenik profile sahip LDL-1 alt grup değerleri kontrole göre anlamlı olarak düşük saptandı
6. Hastaların LCAT değerleri kontrollerle kıyaslandığında anlamlı olarak düşük saptandı.
7. Hastaların ApoA-I değerleri kontrollerle göre anlamlı olarak düşük saptanmasına rağmen ApoB/ApoA-1 oranlarını arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Orak hücre anemili hastalarda kontrole göre total HDL'nin, ApoA-1 ve LCAT değerlerinin düşük olması, total LDL'nin düşük olmasına rağmen antiaterojenik profile sahip LDL-1'in düşük olması OHA'li hastalarda ateroskleroza meyil olduğunu düşündürmektedir. Ancak aterojenite indeksi olarak HDL küçük/

HDL büyük oranı ve ApoB/ ApoA-1 oranına baktığımızda hasta ve kontrol grubu arasında fark olmaması OHA ve ateroskleroz arasındaki tartışmalı ilişkiyi devam ettirmektedir.

Çalışmamızda OHA ve ateroskleroz arasındaki ilişki açık bir şekilde ortaya konulamamıştır. Bunun aterosklerozun ileri yaşlarda görülen bir proses olduğundan ileri geleceği düşünülmektedir. OHA ve ateroskleroz arasındaki ilişkinin daha açık bir şekilde ortaya konulabilmesi için erişkin yaş grubunda ileri moleküler düzeyde çalışmaların yapılması önerilmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Prengler M, Pavlakis SG, Prohovnik I, Adams RJ. Sick cell disease: the neurological complications. *Ann Neurol.* 2002;51(5):543-52.
2. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sick-cell disease. *Lancet.* 2010;376(9757):2018-31.
3. Richard RE. The management of sickle cell pain. *Curr Pain Headache Rep.* 2009;13(4):295-7.
4. Seixas MO, Rocha LC, Carvalho MB, Menezes JF, Lyra IM, Nascimento VM, et al. Levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) among children with steady-state sickle cell disease. *Lipids Health Dis.* 2010;9(91):9-91.
5. Abboud MR, Musallam KM. Sick cell disease at the dawn of the molecular era. *Hemoglobin.* 2009;33(1):S93-S106.
6. Yuditskaya S, Tumblin A, Hoehn GT, Wang G, Drake SK, Xu X, et al. Proteomic identification of altered apolipoprotein patterns in pulmonary hypertension and vasculopathy of sickle cell disease. *Blood.* 2009;113(5):1122-8.
7. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. High-density lipoprotein subfractions - what the clinicians need to know. *Cardiology.* 2013;124(2):116-25.
8. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96(12):1221-32.
9. Romm PA, Green CE, Reagan K, Rackley CE. Relation of serum lipoprotein cholesterol levels to presence and severity of angiographic coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1991;67(6):479-83.

10. Camont L, Chapman MJ, Kontush A. Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. *Trends Mol Med.* 2011;17(10):594-603.
11. Oravec S, Dostal E, Dukat A, Gavornik P, Kucera M, Gruber K. HDL subfractions analysis: a new laboratory diagnostic assay for patients with cardiovascular diseases and dyslipoproteinemia. *Neuro Endocrinol Lett.* 2011;32(4):502-9.
12. Tian L, Fu M. The relationship between high density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations. *Lipids Health Dis.* 2010;9(118):9-118.
13. Oravec S, Dukat A, Gavornik P, Lovasova Z, Gruber K. Atherogenic normolipidemia - a new phenomenon in the lipoprotein profile of clinically healthy subjects. *Neuro Endocrinol Lett.* 2011;32(3):317-21.
14. Kim JJ, Chae SJ, Choi YM, Hwang KR, Song SH, Yoon SH, et al. Atherogenic changes in low-density lipoprotein particle profiles were not observed in non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2013;28(5):1354-60.
15. Landray MJ, Edmunds E, Li-Saw-Hee FL, Hughes BA, Beevers DG, Kendall MJ, et al. Abnormal low-density lipoprotein subfraction profile in patients with untreated hypertension. *Qjm.* 2002;95(3):165-71.
16. Rajman I, Kendall MJ, Cramb R, Holder RL, Salih M, Gammage MD. Investigation of low density lipoprotein subfractions as a coronary risk factor in normotriglyceridaemic men. *Atherosclerosis.* 1996;125(2):231-42.
17. Edelstein SJ. Structure of the fibers of hemoglobin S. *Tex Rep Biol Med.* 1980;40:221-32.
18. Stone CK, Humphries R, Humphries RL. *Current Emergency Diagnosis & Treatment.* Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2004.
19. Harvey RA, Ferrier DR, Karandish S. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry, Fifth Ed. and Biochemistry Map (Medmaps) Bundle.* Lippincott Williams & Wilkins; 2010.

20. Fauci AS, Harrison TR. Harrison's Principles of Internal Medicine: McGraw-Hill; 1998.
21. Tintinalli JE, Krome RL, Ruiz E, Physicians ACoE. Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide: McGraw-Hill Book Company; 1988.
22. Alkindi S, Al Zadjali S, Al Madhani A, Daar S, Al Haddabi H, Al Abri Q, et al. Forecasting hemoglobinopathy burden through neonatal screening in Omani neonates. Hemoglobin. 2010;34(2):135-44.
23. Aksoy M, Ikin EW, Mourant AE, Lehmann H. Blood groups, haemoglobins, and thalassaemia in Turks in southern Turkey and Eti-Turks. Br Med J. 1958;2(5102):937-9.
24. Arcasoy A CD. Dünyada ve Türkiye’de talasemi ve hemoglobinopatiler. Ulusal Hemoglobinopati Konseyi-Sağlık Bakanlığı. 2003.
25. Ginsburg D, Nathan DG, Oski FA, Orkin SH, Look TA. Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood - 2 vol. set: W B Saunders.
26. Lichtman MA, Williams WWJ. Williams Hematology, Seventh Edition: McGraw-Hill Companies, Incorporated; 2006.
27. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins SL, Cotran RS. Robbins and Cotran pathologic basis of disease: Elsevier Saunders; 2005.
28. Cecil RLF, Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine: W.B. Saunders; 2000.
29. Canatan D. Orak Hücre Anemisi. XXX Ulusal Hematoloji Kongresi, 7 Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu; İstanbul-Türkiye2003.
30. Ballas SK. Sickle cell anaemia: progress in pathogenesis and treatment. Drugs. 2002;62(8):1143-72.
31. Bunn HF. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. N Engl J Med. 1997;337(11):762-9.

32. Bize I, Guvenc B, Buchbinder G, Brugnara C. Stimulation of human erythrocyte K-Cl cotransport and protein phosphatase type 2A by n-ethylmaleimide: role of intracellular Mg<sup>++</sup>. *J Membr Biol.* 2000;177(2):159-68.
33. Bize I, Guvenc B, Robb A, Buchbinder G, Brugnara C. Serine/threonine protein phosphatases and regulation of K-Cl cotransport in human erythrocytes. *Am J Physiol.* 1999;277(5 Pt 1):C926-36.
34. Sugihara T, Rawicz W, Evans EA, Hebbel RP. Lipid hydroperoxides permit deformation-dependent leak of monovalent cation from erythrocytes. *Blood.* 1991;77(12):2757-63.
35. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, Steinberg MH. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *N Engl J Med.* 1980;302(18):992-5.
36. Joneckis CC, Ackley RL, Orringer EP, Wayner EA, Parise LV. Integrin alpha 4 beta 1 and glycoprotein IV (CD36) are expressed on circulating reticulocytes in sickle cell anemia. *Blood.* 1993;82(12):3548-55.
37. Swerlick RA, Eckman JR, Kumar A, Jeitler M, Wick TM. Alpha 4 beta 1-integrin expression on sickle reticulocytes: vascular cell adhesion molecule-1-dependent binding to endothelium. *Blood.* 1993;82(6):1891-9.
38. Brittain JE, Parise LV. Cytokines and plasma factors in sickle cell disease. *Curr Opin Hematol.* 2007;14(5):438-43.
39. Vordermeier S, Singh S, Biggerstaff J, Harrison P, Grech H, Pearson TC, et al. Red blood cells from patients with sickle cell disease exhibit an increased adherence to cultured endothelium pretreated with tumour necrosis factor (TNF). *Br J Haematol.* 1992;81(4):591-7.
40. Hebbel RP, Osarogiagbon R, Kaul D. The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. *Microcirculation.* 2004;11(2):129-51.

41. Lanaro C, Franco-Penteado CF, Albuquerque DM, Saad ST, Conran N, Costa FF. Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy. *J Leukoc Biol.* 2009;85(2):235-42.
42. Guzik TJ, Korbout R, Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol.* 2003;54(4):469-87.
43. Akohoue SA, Shankar S, Milne GL, Morrow J, Chen KY, Ajayi WU, et al. Energy expenditure, inflammation, and oxidative stress in steady-state adolescents with sickle cell anemia. *Pediatr Res.* 2007;61(2):233-8.
44. Wun T, Cordoba M, Rangaswami A, Cheung AW, Paglieroni T. Activated monocytes and platelet-monocyte aggregates in patients with sickle cell disease. *Clin Lab Haematol.* 2002;24(2):81-8.
45. Wun T. The Role of Inflammation and Leukocytes in the Pathogenesis of Sickle Cell Disease; Haemoglobinopathy. *Hematology.* 2001;5(5):403-12.
46. Driss A, Wilson NO, Mason K, Hyacinth HI, Hibbert JM, Serjeant GR, et al. Elevated IL-1alpha and CXCL10 serum levels occur in patients with homozygous sickle cell disease and a history of acute splenic sequestration. *Dis Markers.* 2012;32(5):295-300.
47. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, Milner PF, Rosse WF, Vichinsky E, et al. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. *N Engl J Med.* 1991;325(1):11-6.
48. Nagel RL, Fabry ME, Steinberg MH. The paradox of hemoglobin SC disease. *Blood Rev.* 2003;17(3):167-78.
49. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics: Elsevier Health Sciences; 2012.*
50. Rifai N. Lipoproteins and apolipoproteins. Composition, metabolism, and association with coronary heart disease. *Arch Pathol Lab Med.* 1986;110(8):694-701.

51. Viswambharan H, Ming XF, Zhu S, Hubsch A, Lerch P, Vergeres G, et al. Reconstituted high-density lipoprotein inhibits thrombin-induced endothelial tissue factor expression through inhibition of RhoA and stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt/endothelial nitric oxide synthase. *Circ Res.* 2004;94(7):918-25.
52. Noble RP. Electrophoretic separation of plasma lipoproteins in agarose gel. *J Lipid Res.* 1968;9(6):693-700.
53. Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC, Jr., Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res.* 1984;25(12):1277-94.
54. Bricarello DA, Smilowitz JT, Zivkovic AM, German JB, Parikh AN. Reconstituted lipoprotein: a versatile class of biologically-inspired nanostructures. *ACS Nano.* 2011;5(1):42-57.
55. Timmins JM, Lee JY, Boudyguina E, Kluckman KD, Brunham LR, Mulya A, et al. Targeted inactivation of hepatic Abca1 causes profound hypoalphalipoproteinemia and kidney hypercatabolism of apoA-I. *J Clin Invest.* 2005;115(5):1333-42.
56. von Eckardstein A, Nofer JR, Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(1):13-27.
57. Stein O, Stein Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis.* 1999;144(2):285-301.
58. Lowenstein CJ, Cameron SJ. High-density lipoprotein metabolism and endothelial function. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2010;17(2):166-70.
59. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta.* 1990;22(2):275-83.
60. Galle J, Ochslen M, Schollmeyer P, Wanner C. Oxidized lipoproteins inhibit endothelium-dependent vasodilation. Effects of pressure and high-density lipoprotein. *Hypertension.* 1994;23(5):556-64.



61. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol.* 1998;31(3):329-36.
62. Dimayuga P, Zhu J, Oguchi S, Chyu KY, Xu XO, Yano J, et al. Reconstituted HDL containing human apolipoprotein A-1 reduces VCAM-1 expression and neointima formation following periadventitial cuff-induced carotid injury in apoE null mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;264(2):465-8.
63. Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, Stocker C, Lerch PG, Miller NE, et al. Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation. *Circulation.* 2001;103(1):108-12.
64. Yuhanna IS, Zhu Y, Cox BE, Hahner LD, Osborne-Lawrence S, Lu P, et al. High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med.* 2001;7(7):853-7.
65. Li XA, Titlow WB, Jackson BA, Giltiay N, Nikolova-Karakashian M, Uittenbogaard A, et al. High density lipoprotein binding to scavenger receptor, Class B, type I activates endothelial nitric-oxide synthase in a ceramide-dependent manner. *J Biol Chem.* 2002;277(13):11058-63.
66. Horio T, Kohno M, Yasunari K, Murakawa K, Yokokawa K, Ikeda M, et al. Stimulation of endothelin-1 release by low density and very low density lipoproteins in cultured human endothelial cells. *Atherosclerosis.* 1993;101(2):185-90.
67. Fleisher LN, Tall AR, Witte LD, Miller RW, Cannon PJ. Stimulation of arterial endothelial cell prostacyclin synthesis by high density lipoproteins. *J Biol Chem.* 1982;257(12):6653-5.
68. Nofer JR, Walter M, Kehrel B, Wierwille S, Tepel M, Seedorf U, et al. HDL3-mediated inhibition of thrombin-induced platelet aggregation and fibrinogen binding occurs via decreased production of phosphoinositide-derived second messengers 1,2-diacylglycerol and inositol 1,4,5-tris-phosphate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(6):861-9.
69. Curtiss LK, Plow EF. Interaction of plasma lipoproteins with human platelets. *Blood.* 1984;64(2):365-74.

70. Griffin JH, Kojima K, Banka CL, Curtiss LK, Fernandez JA. High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C. *J Clin Invest.* 1999;103(2):219-27.
71. Shah PK, Kaul S, Nilsson J, Cercek B. Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming, part I. *Circulation.* 2001;104(19):2376-83.
72. Ruotolo G. Dyslipidemia of obesity Your Endocrine source. 2003.
73. Wang H, Peng DQ. New insights into the mechanism of low high-density lipoprotein cholesterol in obesity. *Lipids Health Dis.* 2011;10(176):10-176.
74. van der Velde AE. Reverse cholesterol transport: from classical view to new insights. *World J Gastroenterol.* 2010;16(47):5908-15.
75. Forti N, Diament J. High-density lipoproteins: metabolic, clinical, epidemiological and therapeutic intervention aspects. An update for clinicians. *Arq Bras Cardiol.* 2006;87(5):671-9.
76. Lund-Katz S, Phillips MC. High density lipoprotein structure-function and role in reverse cholesterol transport. *Subcell Biochem.* 2010;51:183-227.
77. Gwynne JT. High-density lipoprotein cholesterol levels as a marker of reverse cholesterol transport. *Am J Cardiol.* 1989;64(13):10G-7G.
78. Mooradian AD, Haas MJ, Wehmeier KR, Wong NC. Obesity-related changes in high-density lipoprotein metabolism. *Obesity.* 2008;16(6):1152-60.
79. Sodre FL, Castanho VS, Castilho LN, de Barros-Mazon S, de Faria EC. High-density lipoprotein subfractions in normolipidemic individuals without clinical atherosclerosis lipoprotein subfractions in an adult population. *J Clin Lab Anal.* 2006;20(3):113-7.
80. De Lalla OF, Gofman JW. Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins. *Methods Biochem Anal.* 1954;1:459-78.

81. Atger V, Wirbel E, Roche D, Apfelbaum M, Burstein M, Girard-Globa A. Distribution of HDL2 and HDL3 in a random population of healthy French males and females--evaluation by a two-step precipitation procedure. *Clin Chim Acta*. 1990;189(2):111-21.
82. Ubbink JB, Serfontein WJ, de Villiers LS. The direct quantification in whole serum of HDL subfractions. *Clin Chim Acta*. 1982;125(2):165-75.
83. Morgan J, Carey C, Lincoff A, Capuzzi D. High-density lipoprotein subfractions and risk of coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2004;6(5):359-65.
84. Masulli M, Patti L, Riccardi G, Vaccaro O, Annuzzi G, Ebbesson SO, et al. Relation among lipoprotein subfractions and carotid atherosclerosis in Alaskan Eskimos (from the GOCADAN Study). *Am J Cardiol*. 2009;104(11):1516-21.
85. Segrest JP, Jones MK, De Loof H, Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. *J Lipid Res*. 2001;42(9):1346-67.
86. Horiuchi Y, Takanohashi K, Oikawa S, Numabe A, Hishinuma A, Ieiri T. Measurement of serum low density lipoprotein-cholesterol in patients with hypertriglycemia. *Electrophoresis*. 2000;21(2):293-6.
87. Jeon TI, Osborne TF. SREBPs: metabolic integrators in physiology and metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2012;23(2):65-72.
88. Dieckmann M, Dietrich MF, Herz J. Lipoprotein receptors--an evolutionarily ancient multifunctional receptor family. *Biol Chem*. 2010;391(11):1341-63.
89. Freedman DS, Otvos JD, Jeyarajah EJ, Barboriak JJ, Anderson AJ, Walker JA. Relation of lipoprotein subclasses as measured by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy to coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(7):1046-53.
90. Campos H, Genest JJ, Jr., Blijlevens E, McNamara JR, Jenner JL, Ordovas JM, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb*. 1992;12(2):187-95.

91. Chung M, Lichtenstein AH, Ip S, Lau J, Balk EM. Comparability of methods for LDL subfraction determination: A systematic review. *Atherosclerosis*. 2009;205(2):342-8.
92. Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Dr Barton Childs MD, Kinzler K, et al. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 4 Volume Set: McGraw-Hill Companies, Incorporated; 2000.
93. Chen CH, Albers JJ. Activation of lecithin: cholesterol acyltransferase by apolipoproteins E-2, E-3, and A-IV isolated from human plasma. *Biochim Biophys Acta*. 1985;836(3):279-85.
94. Yang Y, Walijee SM, Jin J, Zhao SP, Peng DQ. Serum apolipoprotein A-V in patients with coronary artery disease and its association with triglyceride. *J Clin Lipidol*. 2012;6(5):462-8.
95. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986;232(4746):34-47.
96. Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(3):472-84.
97. Schlant RC, Hurst JW, Alexander RW. *The heart, arteries and veins*: McGraw-Hill; 1994.
98. Altschul R, Gotlieb AI, Langille BL, Fedoroff S. *Atherosclerosis: cellular and molecular interactions in the artery wall*: Plenum Press; 1991.
99. Immunologists AAo. *The Journal of Immunology*: Williams & Wilkins; 2004.
100. Osiecki H. The role of chronic inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. *Altern Med Rev*. 2004;9(1):32-53.
101. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol*. 2011;12(3):204-12.

102. Cecil RLF, Goldman L, Ausiello DA. Cecil textbook of medicine: Saunders; 2004.
103. Cheung MC, Wolf AC, Lum KD, Tollefson JH, Albers JJ. Distribution and localization of lecithin:cholesterol acyltransferase and cholesteryl ester transfer activity in A-I-containing lipoproteins. *J Lipid Res.* 1986;27(11):1135-44.
104. Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res.* 2009;335(1):191-203.
105. Hoppe C, Kuypers F, Larkin S, Hagar W, Vichinsky E, Styles L. A pilot study of the short-term use of simvastatin in sickle cell disease: effects on markers of vascular dysfunction. *Br J Haematol.* 2011;153(5):655-63.
106. Belcher JD, Bryant CJ, Nguyen J, Bowlin PR, Kielbik MC, Bischof JC, et al. Transgenic sickle mice have vascular inflammation. *Blood.* 2003;101(10):3953-9.
107. Blum A. The possible role of red blood cell microvesicles in atherosclerosis. *Eur J Intern Med.* 2009;20(2):101-5.
108. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993;362(6423):801-9.
109. Munro JM, Cotran RS. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab Invest.* 1988;58(3):249-61.
110. McCormick WF. Massive nonatherosclerotic myocardial infarction in sickle cell anemia. *Am J Forensic Med Pathol.* 1988;9(2):151-4.
111. Barrett O, Jr., Saunders DE, Jr., McFarland DE, Humphries JO. Myocardial infarction in sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 1984;16(2):139-47.
112. Muniz N. Measurement of plasma lipoproteins by electrophoresis on polyacrylamide gel. *Clin Chem.* 1977;23(10):1826-33.

113. Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, Branum EL, Sun D, Meissner I, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem*. 2001;47(2):266-74.
114. Zorca S, Freeman L, Hildesheim M, Allen D, Remaley AT, Taylor JGt, et al. Lipid levels in sickle-cell disease associated with haemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. *Br J Haematol*. 2010;149(3):436-45.
115. VanderJagt DJ, Shores J, Okorodudu A, Okolo SN, Glew RH. Hypocholesterolemia in Nigerian children with sickle cell disease. *J Trop Pediatr*. 2002;48(3):156-61.
116. Mokondjimobe E, Longo-Mbenza B, Ovono-Abessolo F, Gombet T, Guie G, Ngou-Milama E, et al. [Lipid, lipoproteins and atherogenesis profiles in sickle cell disease among Central African patients]. *Ann Biol Clin*. 2012;70(2):183-8.
117. Monnet D, Kane F, Konan-Waidhet D, Diafouka F, Sangare A, Yapo AE. Lipid, apolipoprotein AI and B levels in Ivorian patients with sickle cell anaemia. *Ann Biol Clin*. 1996;54(7):285-8.
118. Rahimi Z, Merat A, Haghshenass M, Madani H, Rezaei M, Nagel RL. Plasma lipids in Iranians with sickle cell disease: hypocholesterolemia in sickle cell anemia and increase of HDL-cholesterol in sickle cell trait. *Clin Chim Acta*. 2006;365(1-2):217-20.
119. el-Hazmi MA, Jabbar FA, Warsy AS. Cholesterol and triglyceride level in patients with sickle cell anaemia. *Scand J Clin Lab Invest*. 1987;47(4):351-4.
120. Shores J, Peterson J, VanderJagt D, Glew RH. Reduced cholesterol levels in African-American adults with sickle cell disease. *J Natl Med Assoc*. 2003;95(9):813-7.
121. Xiao C, Watanabe T, Zhang Y, Trigatti B, Szeto L, Connelly PW, et al. Enhanced cellular uptake of remnant high-density lipoprotein particles: a mechanism for high-density lipoprotein lowering in insulin resistance and hypertriglyceridemia. *Circ Res*. 2008;103(2):159-66.
122. Goldberg AS, Hegele RA. Cholesteryl ester transfer protein inhibitors for dyslipidemia: focus on dalcetrapib. *Drug Des Devel Ther*. 2012;6:251-9.

123. Chantepie S, Bochem AE, Chapman MJ, Hovingh GK, Kontush A. High-density lipoprotein (HDL) particle subpopulations in heterozygous cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency: maintenance of antioxidative activity. *PLoS One*. 2012;7(11):26.
124. Ghatreh Samani K, Noori M, Rohbani Nobar M, Hashemzadeh Chaleshtori M, Farrokhi E, Darabi Amin M. I405V and -629C/A polymorphisms of the cholesteryl ester transfer protein gene in patients with coronary artery disease. *Iran Biomed J*. 2009;13(2):103-8.
125. Kunnen S, Van Eck M. Lecithin:cholesterol acyltransferase: old friend or foe in atherosclerosis? *J Lipid Res*. 2012;53(9):1783-99.
126. Czarnecka H, Yokoyama S. Regulation of cellular cholesterol efflux by lecithin:cholesterol acyltransferase reaction through nonspecific lipid exchange. *J Biol Chem*. 1996;271(4):2023-8.
127. Pahl MV, Ni Z, Sepassi L, Moradi H, Vaziri ND. Plasma phospholipid transfer protein, cholesteryl ester transfer protein and lecithin:cholesterol acyltransferase in end-stage renal disease (ESRD). *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(8):2541-6.
128. Magkos F, Mohammed BS, Mittendorfer B. Plasma lipid transfer enzymes in non-diabetic lean and obese men and women. *Lipids*. 2009;44(5):459-64.
129. Savel J, Lafitte M, Pucheu Y, Pradeau V, Tabarin A, Couffignal T. Very low levels of HDL cholesterol and atherosclerosis, a variable relationship--a review of LCAT deficiency. *Vasc Health Risk Manag*. 2012;8:357-61.
130. Hovingh GK, Hutten BA, Holleboom AG, Petersen W, Rol P, Stalenhoef A, et al. Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation*. 2005;112(6):879-84.
131. Calabresi L, Baldassarre D, Castelnuovo S, Conca P, Bocchi L, Candini C, et al. Functional lecithin: cholesterol acyltransferase is not required for efficient atheroprotection in humans. *Circulation*. 2009;120(7):628-35.

132. Vaisman BL, Klein HG, Rouis M, Berard AM, Kindt MR, Talley GD, et al. Overexpression of human lecithin cholesterol acyltransferase leads to hyperalphalipoproteinemia in transgenic mice. *J Biol Chem.* 1995;270(20):12269-75.
133. Foger B, Chase M, Amar MJ, Vaisman BL, Shamburek RD, Paigen B, et al. Cholesteryl ester transfer protein corrects dysfunctional high density lipoproteins and reduces aortic atherosclerosis in lecithin cholesterol acyltransferase transgenic mice. *J Biol Chem.* 1999;274(52):36912-20.
134. Brousseau ME, Santamarina-Fojo S, Vaisman BL, Applebaum-Bowden D, Berard AM, Talley GD, et al. Overexpression of human lecithin:cholesterol acyltransferase in cholesterol-fed rabbits: LDL metabolism and HDL metabolism are affected in a gene dose-dependent manner. *J Lipid Res.* 1997;38(12):2537-47.
135. Berard AM, Foger B, Remaley A, Shamburek R, Vaisman BL, Talley G, et al. High plasma HDL concentrations associated with enhanced atherosclerosis in transgenic mice overexpressing lecithin-cholesteryl acyltransferase. *Nat Med.* 1997;3(7):744-9.
136. Ng DS, Francone OL, Forte TM, Zhang J, Haghpassand M, Rubin EM. Disruption of the murine lecithin:cholesterol acyltransferase gene causes impairment of adrenal lipid delivery and up-regulation of scavenger receptor class B type I. *J Biol Chem.* 1997;272(25):15777-81.
137. Lambert G, Sakai N, Vaisman BL, Neufeld EB, Marteyn B, Chan CC, et al. Analysis of glomerulosclerosis and atherosclerosis in lecithin cholesterol acyltransferase-deficient mice. *J Biol Chem.* 2001;276(18):15090-8.
138. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy--a review of the evidence. *J Intern Med.* 2006;259(5):493-519.
139. Sniderman AD, Faraj M. Apolipoprotein B, apolipoprotein A-I, insulin resistance and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18(6):633-7.
140. Monnet PD, Kane F, Konan-Waidhet D, Akpona S, Kora J, Diafouka F, et al. [Evaluation of atherogenic risk in homozygous sickle cell disease: study of lipid and apolipoprotein AI and B plasma levels]. *Bull Soc Pathol Exot.* 1996;89(4):278-81.



141. Djoumessi S, Zekeng L, Lando G, Zeukeng D. Serum lipids and atherogenic risk in sickle-cell trait carriers. *Ann Biol Clin.* 1994;52(9):663-5.
142. Drexel H, Amann FW, Rentsch K, Neuenschwander C, Luethy A, Khan SI, et al. Relation of the level of high-density lipoprotein subfractions to the presence and extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1992;70(4):436-40.
143. Lamarche B, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP. Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(6):1098-105.
144. Guey LT, Pullinger CR, Ishida BY, O'Connor PM, Zellner C, Francone OL, et al. Relation of increased prebeta-1 high-density lipoprotein levels to risk of coronary heart disease. *Am J Cardiol.* 2011;108(3):360-6.
145. Mueller O, Chang E, Deng D, Franz T, Jing D, Kincaid R, et al. PROCAM Study: risk prediction for myocardial infarction using microfluidic high-density lipoprotein (HDL) subfractionation is independent of HDL cholesterol. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(4):490-8.
146. Xian X, Ma Y, Yang DD, Huang W, Wang Y, Mueller O, et al. Reduced high-density lipoprotein 2b in non-obese type 2 diabetic patients analysed by a microfluidic chip method in a case-control study. *Biomarkers.* 2009;14(8):619-23.
147. Coresh J, Kwiterovich PO, Jr., Smith HH, Bachorik PS. Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res.* 1993;34(10):1687-97.

## **ÖZGEÇMİŞ**

16.05.1982 Osmaniye doğumluyum. İlkokulu 1989-1994 yılları arasında Osmaniye Atatürk İlkokulu'nda okudum. Ortaokul eğitimimi 1994-1997 yılları arasında Osmaniye Anadolu Lisesi'nde, lise eğitimimi 1997-2000 yılları arasında Kahramanmaraş Süleyman Demirel Fen Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başladım ve 2006 yılında mezun oldum. 20 Temmuz 2009'da Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.'da araştırma görevlisi doktor olarak çalışmaya başlamış olup halen burada görevime devam etmekteyim.

**Yeşim CAN**