

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ATEROSKLEROZDA BİR RİSK FAKTÖRÜ OLARAK TOTAL
HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİNİN ÖNEMİ**

T 88802

DOKTORA TEZİ

Uzm.Ecz.Yeşim ÖZKAN

Tez Yöneticisi

Prof.Dr.Bolkan ŞİMŞEK

**T.C. YÖKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

ANKARA-1999

Bilgi ve deneyimi ile çalışmalarima yön veren Sayın Hocam Prof.Dr. Bolkan ŞİMŞEK'e desteği ve inancı için teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım süresince yardımını esirgemeyen Sayın Hocam Prof.Dr. Meral TORUN'a,

Desteği, yardımları ve özverili katkılarından dolayı çalışma arkadaşım Dr.Sevgi YARDIM-AKAYDIN'a

Sabır ve yardımlarından dolayı çalışma arkadaşım Uzm.Ecz.Aysun HACIŞEVKİ'ye,

Vaka temininde ve çalışmam süresince yardımcı olan G.Ü. Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Ersin ÖZKAN'a ve Dr. İlyas GÖKŞEN'e,

Kontrol grubunun oluşturulmasında fikirleri ve yardımları için Doç.Dr. Turan BAYKAL'a ve Sema BOZALIOĞLU'na,

Deneyisel çalışmalarımda yardımlarından dolayı Y.Doç.Dr. Nilgün Günden GÖĞER'e,

Zor anlarımı paylaşan dostlarıma,

Ve tüm hayatım boyunca maddi ve manevi hep yanımda olup, sevgileriyle bana güç veren aileme teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II.GENEL BİLGİLER	4
II.1.HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI	4
II.1.1.S-Adenozil Metiyoninin Transmetilasyonu ile Homosistein Sentezi	8
II.1.2. Homosisteinin Metiyonine Remetilasyonu	9
II.1.3.Homosisteinin Sisteine Transsülfürasyonu (Homosistein Katabolizması)	10
II.1.4. Regülasyon	12
II.1.5. Plazma Homosistein Düzeyleri	13
II.1.6. İdrar Homosistein Düzeyleri	17
II.2. HİPERHOMOSİSTEİNEMİ	18
II.2.1. Etiyoloji	19
1.Genetik Hiperhomosisteinemi	19
2.Genetik Olmayan Hiperhomosisteinemi	20
II.2.2. Tedavi	21
II.3. KORONER KALP HASTALIKLARI	23
II.3.1. Aterosklerotik Lezyonların Gelişimi	23
II.3.2. Risk Faktörleri	26
II.3.3. Ateroskleroz Ve Homosistein	29
III. MATERYAL VE YÖNTEM	33
III.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
III.2. Kullanılan Araç Ve Gereçler	34

III.3.Çalışmaya Katılan Hasta Ve Kontrol	
Grubunun Özellikleri.....	35
III.3.1. Hasta Grubu	35
III.3.2. Kontrol Grubu	35
III.4. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	35
III.5.Kullanılan Yöntemler	38
III.5.1.Homosistein Tayini	38
III.5.1.1.Yöntemin Esası	38
III.5.1.2. Kullanılan Çözeltiler	41
III.5.1.3. Örneğin Hazırlanması	42
III.5.1.4. Kalibrasyon	42
III.5.1.5. Kromatografik Koşullar	44
III.5.1.6. Güniçi ve Günlerarası Tekrarlanabilirlik	45
III.5.1.7. Yöntemin Verimliliği	47
III.5.2. Folik Asit Ve Vitamin B ₁₂ Tayini	47
III.5.3. Diğer Parametrelerin Tayini	48
III.6. Kullanılan İstatistiksel Analiz Yöntemleri.....	49
IV. BULGULAR	50
V. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	67
VI. ÖZET.....	81
VII. SUMMARY.....	83
VIII. KAYNAKLAR.....	85
IX. ÖZGEÇMİŞ.....	102

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

ŞEKİL No:

SAYFA No:

Şekil 1: S-Adenozilmetiyonin Oluşumu.....	5
Şekil 2. Basitleştirilmiş Metiyonin ve Homosistein Metabolizması.....	7
Şekil 3 :5-Metil THF-Homosistein Metiltransferaz Reaksiyonunda Redükte Folat, Kobalamin ve Homosistein Arasındaki Metil Transferi.....	9
Şekil 4. Transsülfürasyon Yolağı; PLP, Pridoksal 5´-Fosfat.....	11
Şekil 5 : Metiyonin ve Homosistein Metabolizmasının Çok Yönlü Kompartman Modeli.....	14
Şekil 6:Plazmada Homosisteinin Farklı Formlarının Yapı ve Dağılımı.....	15
Şekil 7 : Aterojenezdeki Olayların ve Hücreyel Etkileşimlerin Şematik Gösterimi.....	25
Şekil 8 : SBD-F'nin Yapısı ve Tiyollerle Reaksiyonu.....	40
Şekil 9 : Homosistein Kalibrasyon Grafiğı.....	42
Şekil 10 : Sistein Kalibrasyon Grafiğı.....	43.
Şekil 11 : Sisteinilglisin Kalibrasyon Grafiğı.....	43
Şekil 12 : Standartlara Ait Kromatogram (a) Sistein, Rt:4.680 (b) Homosistein, Rt:7.045 (c) Sisteinilglisin, 8.947.....	44
Şekil 13 :Plazmaya Ait Kromatogram (a) Sistein, Rt:4.526 (b) Homosistein, Rt:6.610 (c) Sisteinilglisin, Rt:8.518	45
Şekil 14 :Hasta ve Kontrol Grubu Homosistein Dağılımı.....	51
Şekil 15 :Hasta Grubu Homosistein Düzeyleri ile Folik Asit (a) ve Vitamin B ₁₂ (b) Arasındaki Korelasyon.....	62

TABLULARIN LİSTESİ

TABLO No:

SAYFA No:

Tablo 1: Yaş Gruplarına Göre Homosistein Referans Aralıkları.....	17
Tablo 2: Hiperhomosisteineminin Tedavisi.....	22
Tablo 3 : Hasta ve Kontrol Grubunun Genel Klinik Özellikleri.....	37
Tablo 4: Günlük Tekrarlanabilirlik Çalışma Çizelgesi.....	46
Tablo 5 : Günlerarası Tekrarlanabilirlik Çalışma Çizelgesi	46
Tablo 6: Yöntem Verim Hesabı Çizelgesi.....	47
Tablo 7:Hasta ve Kontrol Grubunun Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	50
Tablo 8:Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Plazma Homosistein Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	53
Tablo 9: Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Plazma Sistein Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	54
Tablo 10:Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Plazma Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	55
Tablo 11:Hastalarda Cinsiyete Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	56
Tablo 12: Kontrollerde Cinsiyete Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	56
Tablo 13:Hastalarda Yaşa Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	57
Tablo 14:Kontrollerde Yaşa Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	57
Tablo 15:Hastalarda Menapozal Duruma Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	58

Tablo 16:Kontrollerde Menapozal Duruma Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	58
Tablo 17:Hastalarda Sigara Kullanımına Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	59
Tablo 18:Kontrollerde Sigara Kullanımına Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	59
Tablo 19:Kontrollerde Alkol Kullanımına Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	60
Tablo 20:Hastalarda Koroner Arter Hastalığı Tipine Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	60
Tablo 21:Hasta ve Kontrol Grubunda Serum Folik Asit ve Vitamin B₁₂ Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	61
Tablo 22:Hasta Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin ile Vitamin B₁₂ ve Folik Asit Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.....	61
Tablo 23:Kontrol Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin ile Vitamin B₁₂ ve Folik Asit Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.....	62
Tablo 24 :Normal Düzeyinin Altında ve Normal Folik Asit ile Vitamin B₁₂ Değerlerine Sahip Hasta Gruplarının Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	63
Tablo 25:Normal Düzeyinin Altında ve Normal Vitamin B₁₂ Değerlerine Sahip Kontrol Grubunun Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	63
Tablo 26:Hasta ve Kontrol Grubunda Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.....	64

**Tablo 27:Hasta ve Kontrol Grubunda Lipid Parametreleri, Total Protein,
Albumin ve Kreatinin Düzeylerinin Karşılaştırılması.....65**

**Tablo 28:Hasta Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin
ile Lipid Parametreleri, Total Protein, Albumin ve Kreatinin Düzeyleri
Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon
Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.....66**

**Tablo 29:Kontrol Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin
ile Lipid Parametreleri, Total Protein, Albumin ve Kreatinin Düzeyleri
Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon
Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.....66**



I. GİRİŞ VE AMAÇ

Ateroskleroz; anjinal sendromlar, myokard infarktüsü, iskemik kardiyomyopati ile ani kardiyak ölüm gibi kardiyak, periferik ve serebrovasküler hastalıklar gibi kardiyak olmayan nedenlere bağılı ölümlere yol açan önemli bir faktördür. Bu nedenle aterosklerotik lezyonların gelişimini önlemek veya mevcut aterosklerotik plakların ilerlemesinin azaltılması toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır. Aterosklerotik hastalıklar için yaygın olarak kabul edilen risk faktörleri; yaş, diyabet, tütün kullanımı, arteriyel hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi, azalmış HDL-kolesterol düzeyi, hiperkoagülabilité, monoton bir yaşam stili ve yükselmiş plazma homosistein düzeyleridir. Yıllardır yapılan ateroskleroz araştırmalarında lipid metabolizmasıyla ilgili çalışmalar çoğunluktadır. Bu çalışmalardan bazılarında, semptomatik aterosklerotik hastalığı olan kişilerde anormal lipid metabolizması belirtilerine rastlanmamıştır^{1,2}.

Plazma homosistein düzeylerindeki bir artışın ateroskleroz için farkedilebilir bir risk faktörü olarak ortaya çıktığı³, homosistein birikiminin koroner, serebral ve periferik ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir⁴⁻⁸. Hiperkolesterolemi de ateroskleroz için iyi bilinen bir risk faktörüdür. Artmış LDL ve azalmış HDL düzeyleri koroner kalp hastalığı insidansındaki artış ile korelasyon içindedir. Aterosklerozda plazma kolesterolündeki yükselme ile plazma homosistein düzeyindeki yükselme arasında korelasyon bulunmaktadır. Homosistein katabolizmasını kolaylaştıran mikrobeyinler plazma homosistein, kolesterol, trigliserit ve LDL düzeylerini azaltmaktadır⁹.

Intrasellüler homosistein üretimi metabolik kapasiteyi aştığında, homosistein yeteri derecede ekstrasellüler aralığa atılmakta ve intrasellüler düzeyler düşük kalmaktadır. Böylece plazma ve idrar gibi ekstrasellüler sıvılardaki homosistein

miktarı, homosistein üretimi ve kullanımı arasındaki dengeyi yansıtmaktadır. Bu denge homosistein metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivitelerinde azalma ve kofaktör miktarlarının düşüklüğü ile karakterize klinik durumlarda bozulabilmektedir. Bu durum, bazı doğuştan metabolizma bozuklukları (homosistinüri) ve vitamin B₁₂ ile vitamin B₉ eksikliğinde plazma homosistein düzeyindeki belirgin artışın temelini oluşturmaktadır. Bu gibi durumlarda plazma homosistein düzeylerini izlemek hem diyagnozun hem de takibin ölçüsü olabilmektedir. Renal yetmezlik ve bazı malignan durumlarda plazma homosistein düzeylerinde artış meydana gelebilmekte ve plazmadaki homosistein konsantrasyonu çeşitli ilaçlardan etkilenebilmektedir¹⁰⁻¹². Böylece plazma homosisteininin, birçok klinik bozukluğun, şiddetinin yanısıra teşhisinde de yararlı bir ölçüt olabildiği bildirilmektedir. Elde edilen bulgular, plazmada orta derecede artış gösteren homosisteinin prematüre kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olduğuna işaret etmektedir¹⁰.

Sağlıklı kişiler ve homosistinüri olmayan hastalardan elde edilen plazmadaki homosistein düzeyleri üzerine yapılan ilk çalışmalar, amino asit analizörlerinden elde edilen sonuçlara dayanmaktadır. Son yıllarda biyolojik sıvılarda homosistein tayininde kullanılan tekniklerde büyük gelişmeler olmuştur. Homosisteinin önceleri fizyolojik şartlarda insan plazma ve dokularında bulunmadığı kabul edilirken, günümüzde ise, normal bireylerden ve homosistinüriden farklı bir hastalığı olan , çeşitli vitamin eksikliklerine ve çeşitli ilaçlara maruz kalan bireylerden elde edilen plazmada homosistein tayin edilmektedir¹³.

Çok yönlü çalışmalar koroner, serebrovasküler veya periferik arter hastalığı olan kişilerin artmış homosistein düzeylerine sahip olduklarını göstermiştir. Bu ilişki, ateroskleroz için diğer risk faktörlerinden daha yaygın ve bağımsız bir risk faktörü olarak plazma total homosisteininin önemine dikkatleri çekerken¹⁴,

homosistein ve türevlerinin arteryal duvarda birikiminin ateromatöz değişiklikler oluşturduğu bildirilmiřtir¹⁵.

Bu çalışmada, ateroskleroz için bir risk faktörü olan, aterosklerozun prognozunda veya hastalığın tedavisine verilen cevabın değerlendirilmesinde yararlı olabileceği düşünülen, plazma total homosistein düzeylerinin hassas ve güvenilir bir şekilde tayin edilmesi amaçlanmıştır. Daha önceleri, total plazma homosistein miktarını ölçmek için iyon değiştirici kromatografi ve radioimmünoassay ile kombine yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmış ancak komplike olmaları ve düşük seçicilik göstermeleri nedeniyle klinik uygulanabilirlikleri yeterli olmamıřtır¹³. Bu nedenle çalışmamızda, diğer yöntemlere göre daha seçici ve hassas olan fluoresans dedektörü HPLC metodu kullanılmıştır. Bu çalışmada ayrıca, sistein ve sisteinilglisin gibi diğer tiyol bileşikleri, homosistein metabolizması üzerinde etkili olabilen B₉ ve B₁₂ vitaminlerinin düzeyleri ile aterosklerotik risk faktörleri olan trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL ve VLDL düzeyleri değerlendirilmiştir.

II.GENEL BİLGİLER

II.1.HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI

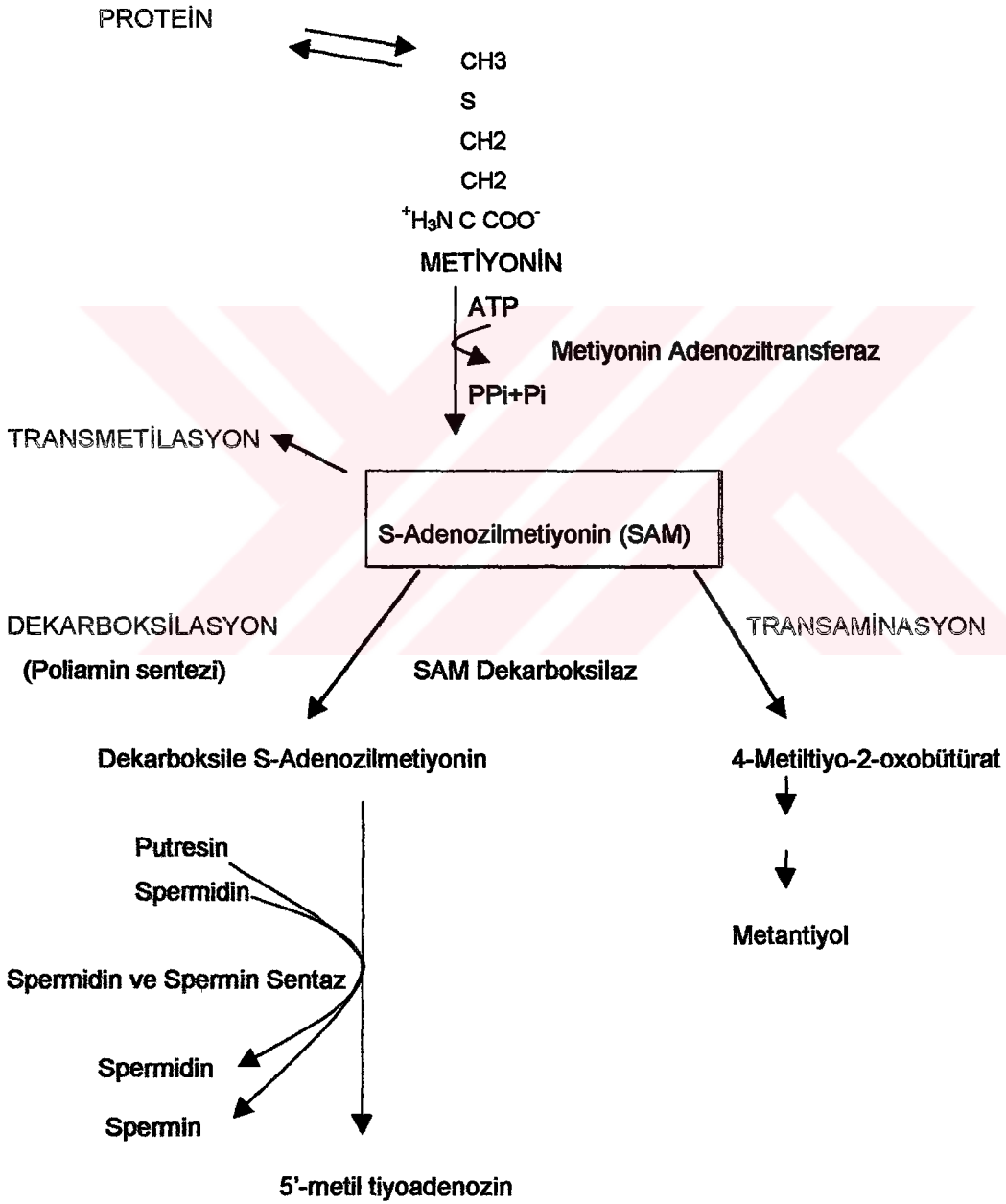
Homosistein, sülfür içeren bir aminoasit olmakla birlikte, bütün proteinlerin yapısal bileşeni olarak görev yapan yirmi aminoasit arasında yer almayan, diğer amino asitlerin aksine diyetle alınan metiyoninin metabolizması sonucu oluşan bir metabolik ara üründür¹⁶.

Homosistein metabolizmasını anlamak açısından metiyonin metabolizması önem taşımaktadır.

Protein sentezi; S-adenozil metiyonin bağımlı transmetilasyon reaksiyonları; poliaminlerin sentezi; sistatyonin, sistein ve transsülfürasyon yolağının diğer ürünlerinin oluşumu; intrasellüler folatların metabolizması ve kolin katabolizması için gerekli olan homosisteinin sağlanması gibi biyolojik süreçlerde metiyonin ve türevlerinin yer alması memelilerin normal büyüme ve gelişimi için metiyonini esansiyel kılmaktadır.

Metiyonin metabolizmasındaki ilk basamak yüksek enerjili sülfonyum bileşiği olan S-adenozil-L-metiyoninin (SAM) oluşumudur. Bu reaksiyon metiyonin adenzil transferaz (EC 2.5.1.6) enzimi tarafından katalizlenmekte ve ATP'nin adenzil çekirdeği metiyoninin sülfür atomuna transfer olarak S-adenozil metiyonin oluşmaktadır. Memeli dokuları metiyonin adenzil transferazın üç izoenzim formunu içermektedir. Bunlar karaciğere spesifik olan yüksek (β formu, MAT III) ve orta (α formu, MAT I) Km'li izoenzim formları ile ekstrahepatik dokular ve fetal karaciğere spesifik olan düşük Km'li (γ formu, MAT II) izoenzim formudur. S-Adenzilmetiyonin; MAT III'ü aktive etmekte ancak diğer iki izoenzim formunu inaktive etmektedir bu nedenle karaciğer metiyoninin yüksek konsantrasyonlarına hemen adapte

olabilmektedir. Oluşan S-Adenozil metiyonin hem bilinen tüm biyolojik transmetilasyon reaksiyonları için metil vericisi, hem de poliaminlerin sentezinde aminopropil vericisi olarak kullanılan dekarboksile adenozilmetiyoninin prokürsörüdür^{17,18} (Şekil 1).



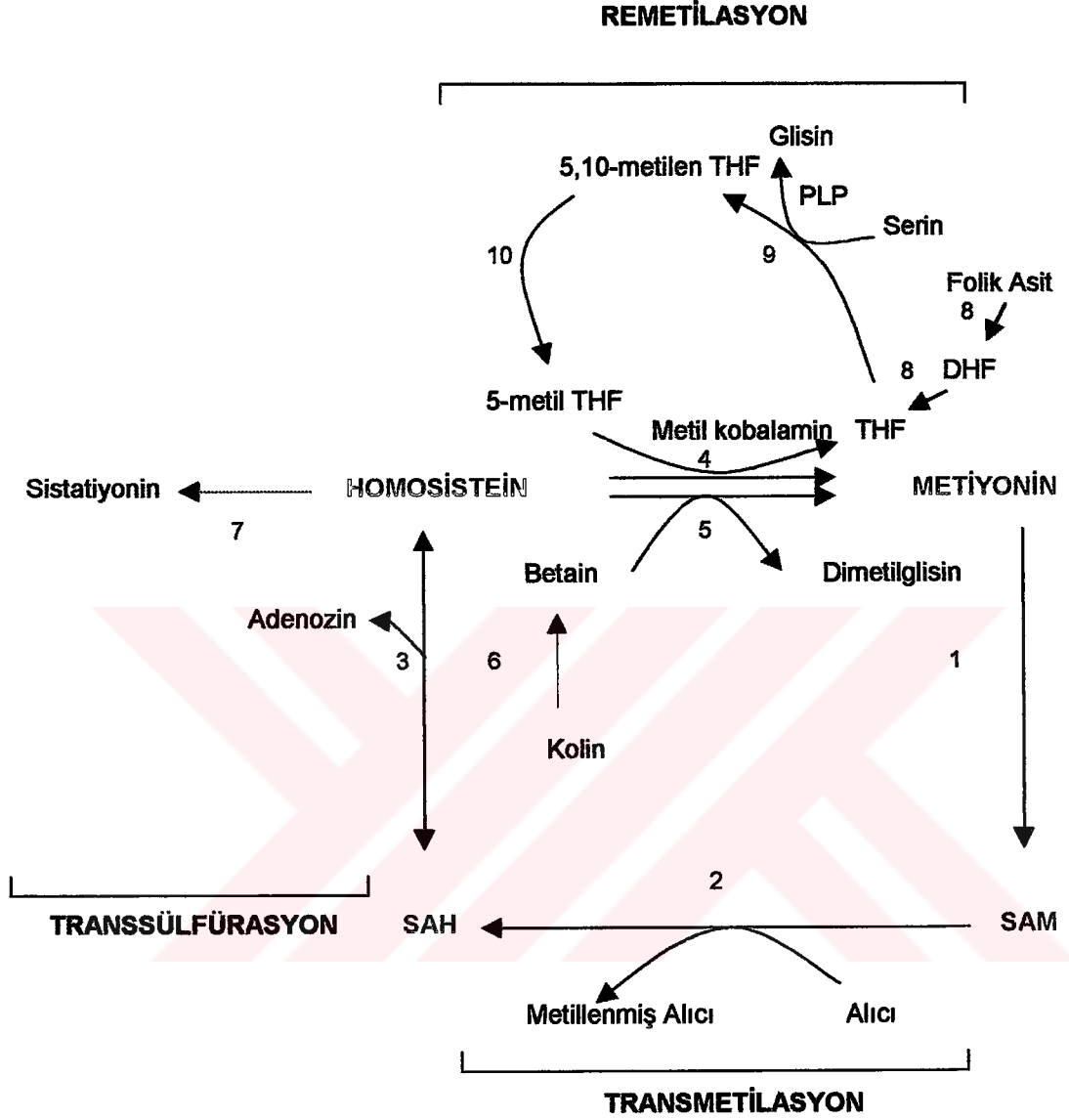
Şekil 1: S-Adenozilmetiyonin Oluşumu

Guilidori ve arkadaşları tarafından intakt sıçanlarda yapılan çalışma; irreversibl olarak katabolize olan S-Adenozil metiyoninin %30'unun dekarboksilasyon yolu ile poliamin sentezi için kullanıldığını, %70'inin ise transmetilasyon yolağına girdiğini göstermiştir¹⁹.

Transmetilasyon yolağına giren metiyonin daha ileri reaksiyonlarda homosistein üzerinden ya tekrar sentezlenmekte ya da transsülfürasyon yolağına girerek katabolize olmaktadır.

Genel olarak metiyonin yıkılımı sadece transsülfürasyon yolağı ile tanımlanmıştır ancak Benevage'nın yapmış olduğı çalışmalar, metiyoninin alternatif bir yolak olan transaminasyonla katabolize olabileceğı yönünde deliller ortaya koymuştur²⁰. İnsanlarda yapılan çalışmaların sonuçları, metiyonin transaminasyonunun minimum düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır. Normal bireylerde metiyonin verilmesini takiben transaminasyon metabolitlerinin atılımı sınırlıdır^{21,22}. Sistatyonin sentaz eksikliğı olan hastalar metiyonini sülfata çevirmekte ve belirgin metiyonin birikimine rağmen transaminasyon metabolitlerini itrah etmemektedirler²³. Metiyonin katabolizmasında transaminasyon yolağıının katkısı metiyonin adenozil transferaz enziminin bloke veya eksik olduğı hastalarda önem kazanabilmektedir. Bu hastaların, diyetset metiyoninin %20'sini transaminasyon ile katabolize ettikleri gösterilmiş ancak bu transaminasyonun hastalarda meydana gelen metiyonin birikimini önlemek için yeterli olmadığı bildirilmiştir²².

Homosistein metabolizmasında şekil 2'de gösterilen üç ana yolak etkin olmaktadır.



Kısaltmalar: 1, metiyonin adenozil transferaz; 2, metil transferazlar; 3, S-adenozil-L-homosistein hidrolaz; 4, metiyonin sentaz; 5, betain-homosistein metiltransferaz; 6, kolin dehidrogenaz; 7, sistatyonin β -sentaz; 8, dihidrofolat redüktaz; 9, serin hidroksimetiltransferaz; 10; metilen tetrahidrofolat redüktaz; SAM, S-adenozilmetiyonin; SAH, S-adenozilhomosistein; DHF, dihidrofolat; THF, tetrahidrofolat; PLP, pridoksal 5'-fosfat.

Şekil 2. Basitleştirilmiş Metiyonin ve Homosistein Metabolizması¹⁴

II.1.1.S-Adenozil metiyoninin Transmetilasyonu ile Homosistein

Sentezi :

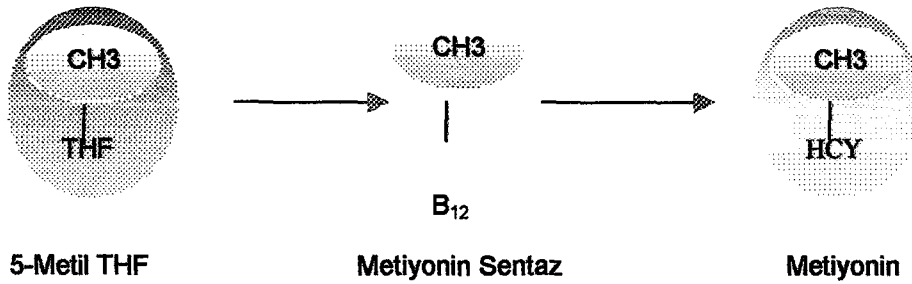
Kreatin ve fosfatidilkolin sentezi ile nükleik asitler, nörotransmitterler, hormonlar ve karnitin gibi bileşiklerin metillenmiş türevlerinin oluştuğu metil transferaz reaksiyonlarında S-adenozil metiyonin, metil grubunu, alıcı bileşiklerin azot, oksijen ve sülfür atomlarına transfer etmekte ve yan ürün olarak S-adenozilhomosistein oluşmaktadır. Transmetilasyon ürünü olarak açığa çıkan S-adenozilhomosistein, adenozilhomosistein hidrolaz (EC 3.3.1.1.) enzimi ile adenozin ve homosisteine hidroliz olmaktadır (Şekil 2, Reaksiyon 3). Adenozilhomosisteinin adenozin ve homosisteine parçalanması vertebralılarda homosistein oluşumuna yol açtığı bilinen tek metabolik yoldur. Bu reaksiyon reversibl bir reaksiyondur ancak ortamdaki adenozinin ve homosisteinin daha ileri metabolik yollara girmek suretiyle uzaklaştırılması, reaksiyonun in vivo hidroliz yönünde ilerlemesini sağlamaktadır. Adenozilhomosisteinin hidrolizi, oluşan ürünlerle yani adenozin ve homosistein ile inhibe olmakta ve bu inhibisyona adenozilhomosistein ve adenozilmetiyonin birikimi eşlik etmektedir. S-Adenozilhomosistein hemen hemen tüm metil transferazların aktivitesini inhibe ettiğinden, bu metabolitin homosisteine dönüşümü S-adenozilmetiyonin düzeylerini etkilemektedir. Adenozilhomosisteinin hücresel konsantrasyonu veya adenozilmetiyoninin adenozilhomosisteine oranı, biyolojik metilasyon reaksiyonlarında feedback regülatör olarak etki etmektedir^{17,24,25}

S-Adenozilmetiyonin, metilen-THF'ı metil-THF'a dönüştüren metilen-THF redüktaz enziminin (EC.1.1.1.68) allosterik inhibitörüdür. Bu redüktaz inhibisyonu adenozilmetiyonin konsantrasyonu normal doku konsantrasyonlarının biraz üzerine çıktığında meydana gelmekte ve adenozilhomosistein varlığında ortadan kalkmaktadır²⁶.

II.1.2. Homosisteinin Metiyonine Remetilasyonu :

Homosisteinin metiyonine remetilasyonunda iki farklı yolak bulunmaktadır.

Birinci yolakta; 5-metil tetrahidrofolat'ın (5-metil THF) metil grubu 5-metil tetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz (Metiyonin Sentaz, EC 2.1.1.13) enziminin katalizlediği reaksiyonla homosisteine aktarılmaktadır (Şekil 2, Reaksiyon 4). Hayvansal dokularda yaygın olarak bulunan metiyonin sentaz enzimi; metil vericisi olarak 5-metil THF'i, prostetik grup olarak da kobalamini kullanmaktadır. 5-metil THF; serin ve glisin gibi tek karbon ünitesi kaynaklarından tetrahidrofolat (THF)'a tek karbon ünitesinin transfer edilerek 5,10-metilen THF'in oluşması ve bunun da metilen tetrahidrofolat redüktaz (EC 1.1.1.68) enzimiyle redüklenmesi sonucu de novo olarak sentezlenmektedir¹⁷(Şekil 2,reaksiyon 9,10). Bakteriyele enzimlerle yapılan çalışmalar kobalaminin 5-metil THF'tan metil grubu alarak metillendiğini, metil grubunu metiyonin oluşturmak üzere homosisteine aktardığını ve açığa çıkan kobalaminin ise 5-metil THF ile tekrar metillendiğini göstermektedir²⁷ (Şekil 3).



Şekil 3 :5-Metil THF-Homosistein Metiltransferaz Reaksiyonunda Redükte Folat, Kobalamin ve Homosistein Arasındaki Metil Transferi.

5-metil THF-homosistein metiltransferaz (metiyonin sentaz) enzimi homosistein metabolizmasını kobalamin ve folatlarla ilişkili kılmaktadır. Bu nedenle enzim; bazal düzeyde metiyonin sağlanması, homosisteinin elimine edilmesi ve folat kofaktörlerinin oluşumu için önemlidir.

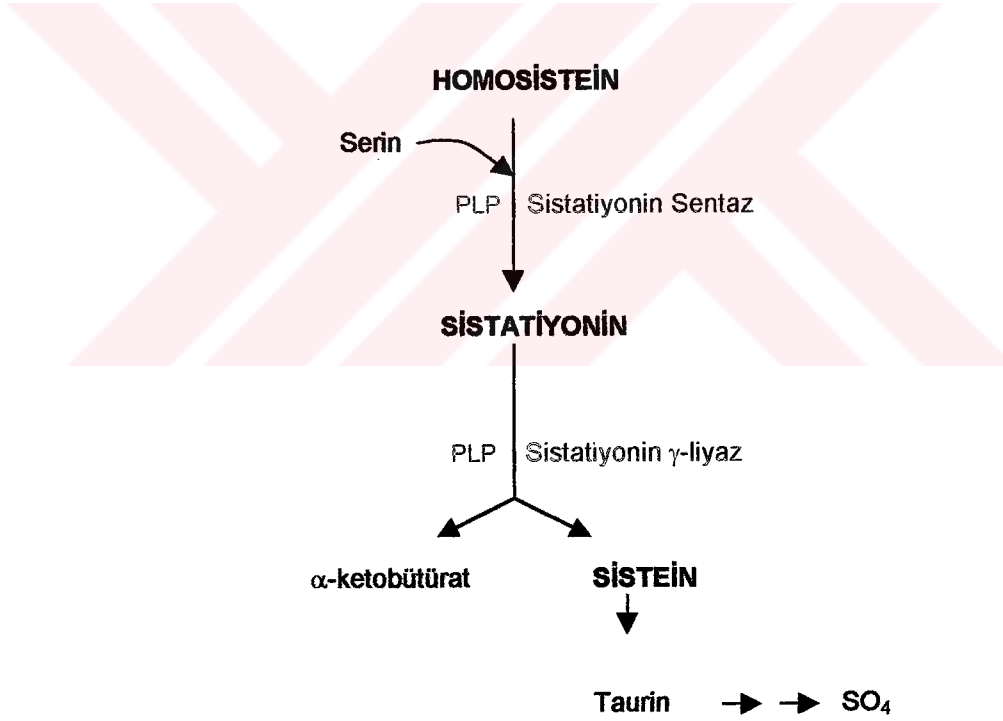
Homosisteinin metilasyonundaki diğer yolak; böbrekteki minör aktivitesi dışında karaciğerde bulunan betain-homosistein metiltransferaz (EC. 2.1.1.5.) enzimi ile katalizlenen, homosisteinin betain bağımlı metilasyonudur (Şekil 2, Reaksiyon 5). Kobalaminden bağımsız olan bu reaksiyonda; betainin kaynağının diyetten alınan veya fosfotidiletanolaminin metilasyonu ile sentezlenen kolin olması nedeniyle, bu yapıda toplanmış olan metil gruplarının betain üzerinden homosisteine transfer edilmesi suretiyle metiyonin oluşmaktadır. Uzun süreden beri betain-homosistein metiltransferazın kolin katabolizmasından ve homosisteinin uzaklaştırılmasından sorumlu olduğu bilinmekle birlikte, son yıllarda elde edilen deliller bu enzimin memelilerdeki metiyonin homeostazının sağlanmasında da önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Metiyonin, hem 5-metil THF-homosistein metiltransferazın hem de betain-homosistein metiltransferazın ürün inhibitörü olarak regülasyona katılmaktadır^{17,18}.

II.1.3.Homosisteinin Sisteine Transsülfürasyonu (Homosistein Katabolizması) :

Hücre içi homosistein ya yukarıda bahsedilen yollarla metiyonine remetile olmakta ya da transsülfürasyon yolağına girmektedir. Transsülfürasyon yolağında; homosistein sistatyonin oluşturmak üzere serin ile birleşmektedir. Reaksiyon memeli dokularında yaygın olarak bulunan, pridoksal 5'-fosfat bağımlı sistatyonin β -sentaz (EC 4.2.1.22) enzimiyle katalizlenmektedir (Şekil 4). Sistatyonin sentezinin fizyolojik önemi bu reaksiyonun geri dönüşümsüz oluşundan

kaynaklanmaktadır. Bu durum, sistatyonin sentaz basamağından sonra homosisteinin artık, metiyonin öncülü olamayacağını göstermektedir.

Sistatyonin sentezindeki artış, metiyonin fazlalığına karşı bir metabolik adaptasyon olarak ortaya çıkmaktadır. Oluşan sistatyonin, pridoksal 5'-fosfat içeren ikinci bir enzim olan sistatyoninaz (sistatyonin γ -liyaz, EC 4.4.1.1.) ile sistein ve α -ketobütürat'a hidroliz olmaktadır (Şekil 4). Fazla sistein ise taurin ve inorganik sülfata okside olmaktadır. Böylece transsülfürasyon yolağı sisteinin sentezine ek olarak, metil transferi için gerekli olmayan ve potansiyel olarak toksik olan homosisteini etkin bir şekilde katabolize etmektedir^{17,18}.



Şekil 4. Transsülfürasyon Yolağı; PLP, Pridoksal 5'-Fosfat

Mudd ve Poole normal sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmada bazal diyetle beslenen erkeklerde mevcut homosisteinin her siklusta yaklaşık % 53'ünün sistatyonine dönüştüğünü bildirmişlerdir²⁸.

II.1.4. Regülasyon

Metabolik yollarda regülasyon, ya ilgili enzimlerin miktarının değişimi ile ya da bu enzimlerin hem substrat hem de koenzimlerinin konsantrasyonlarındaki değişikliklerden etkilenen kinetik özellikleri ile sağlanmaktadır. Memeli karaciğerindeki metiyonin katabolizmasının regülasyonunda her iki faktörün de önemli olduğu görülmektedir. Bu enzimlerin doku miktarlarındaki değişiklikler uzun süreli stimulanlara adaptasyon sağlanmasında önemli hale gelirken, enzimlerin kinetik özellikleri metabolik karışıklıklara ani cevap oluşturmada mekanizmayı meydana getirmektedir.

Memelilerin normal büyüme ve gelişimi için esansiyel olan metiyonine minimum günlük gereksinim diyetle bulunan sistin, kolin (veya betain), folat ve B₁₂ vitamini gibi diğer bileşiklerin bir fonksiyonu olarak değişiklikler göstermektedir. Farklı diyetlere adapte olma kapasitesi ise hassas regülatuar mekanizmalarla mümkün olmaktadır.

Artan düzeyde metiyonin verilen sıçanların karaciğerlerinde 5-metil tetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz'ın azaldığı ve metiyonin adenoziltransferaz, betain-homosistein metiltransferaz ile sistatyonin sentazın arttığı bildirilmektedir²⁹.

Kısıtlanmış bir diyet ile metiyonin ve kolin içeriği artırılmış bir diyet verildiğinde homosisteinin remetilasyon yüzdesi % 40 ile % 70 arasında değişiklik göstermektedir³⁰. Kinetik özellikler dikkate alındığında transsülfürasyon enzimleri olan sistatyonin sentaz ve sistatyonin γ -liyaz'ın Km değerleri homosistein metiltransferazlarından daha büyüktür. Bu nedenle düşük substrat konsantrasyonlarında remetilasyon kinetik avantaja sahip olmaktadır¹⁷.

Böylece fazla diyetsetel proteine adaptasyon sistatyonin sentezindeki artış ve metiyonin sentezindeki azalma ile sağlanırken, metiyoninin korunması bunun tam tersi olarak transsülfürasyona oranla homosistein remetilasyonunun artırılması ile sağlanmaktadır³⁰.

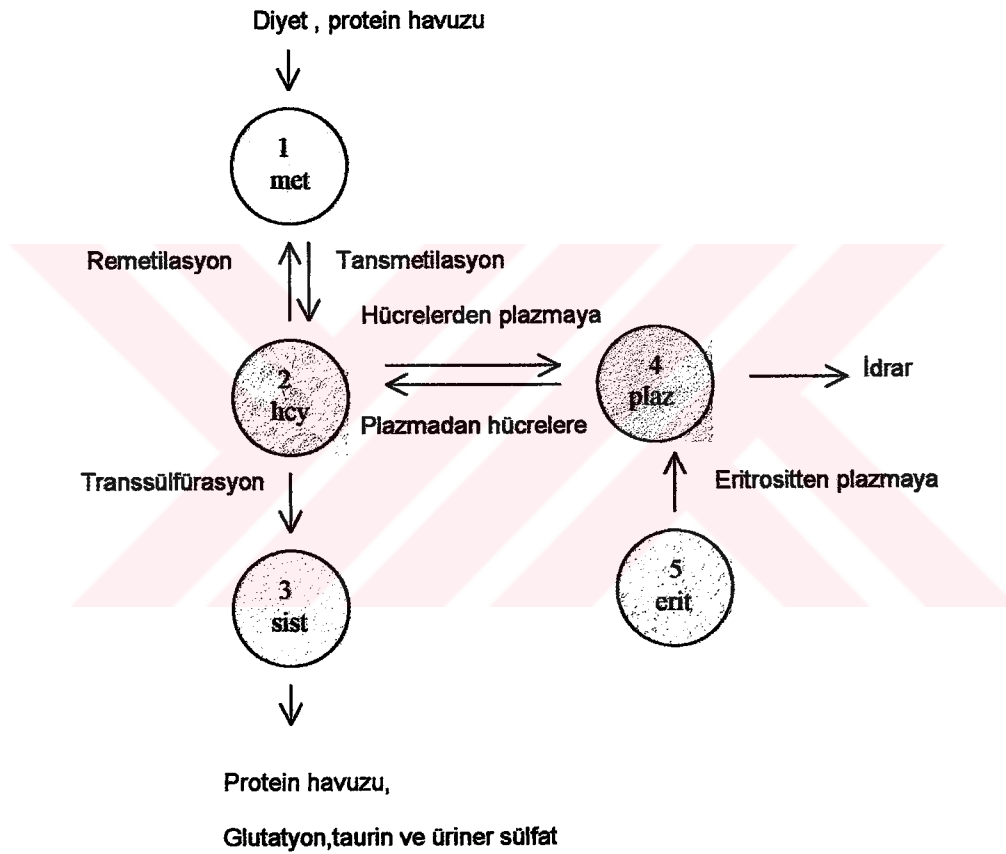
II.1.5. Plazma Homosistein Düzeyleri

İzole hücrelerde yapılan çalışmalar intrasellüler homosisteinin hızlı bir şekilde ekstrasellüler ortama atıldığını göstermektedir. Ekstrasellüler ortama geçişin homosistein oluşumu arttığında artması³¹ ve homosistein üretimi inhibe olduğunda azalması^{31,32}, homosistein akışının intrasellüler düzeyleri belirli bir aralıkta tutmada rol oynadığını göstermektedir. Plazma ve idrar gibi ekstrasellüler sıvılardaki homosistein miktarı ise intrasellüler homosistein üretimi ve kullanımı arasındaki dengeyi yansıtmaktadır.

Plazma homosisteini, muhtemelen karaciğer, kan ve diğer dokulardaki intrasellüler reaksiyonlardan gelmektedir. Membranlar arası akış konsantrasyon gradientine karşı difüzyonla olabilir. Ancak vücutta sentezlenen homosisteinin çok küçük bir fraksiyonunun plazmada görülmesi ve akışın kısıtlanması aktif transportu düşündürmektedir¹⁴.

Bütün vücut metiyonin-homosistein metabolizmasının basit bir modeli Şekil 5'te gösterilmektedir. Ancak bu model kesin verilere dayanmamaktadır. Eritrositler homosisteini üretirken transsülfürasyon metabolitleri olan sisteini ve glutasyonu üretmez. Lokositler ise homosisteini remetile etmekte, sistatyonin, sistein ve glutasyon oluşturmaktadırlar. Ancak eritrositlerdeki homosistein sentezinin total vücut sentezinin yaklaşık %1'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir¹⁴.

Farklı reaksiyonların toplamını gösteren bu şemada akış hızlarının hücreden hücreye ve organdan organa değişeceği olasıdır. Bazı organlar homosisteini plazmaya verirken diğer organlar plazmadan homosisteini alabilir. Bu akış hızları muhtemelen genetik, metabolik, besinsel, farmakolojik ve hormonal faktörlerle düzenlenmektedir.

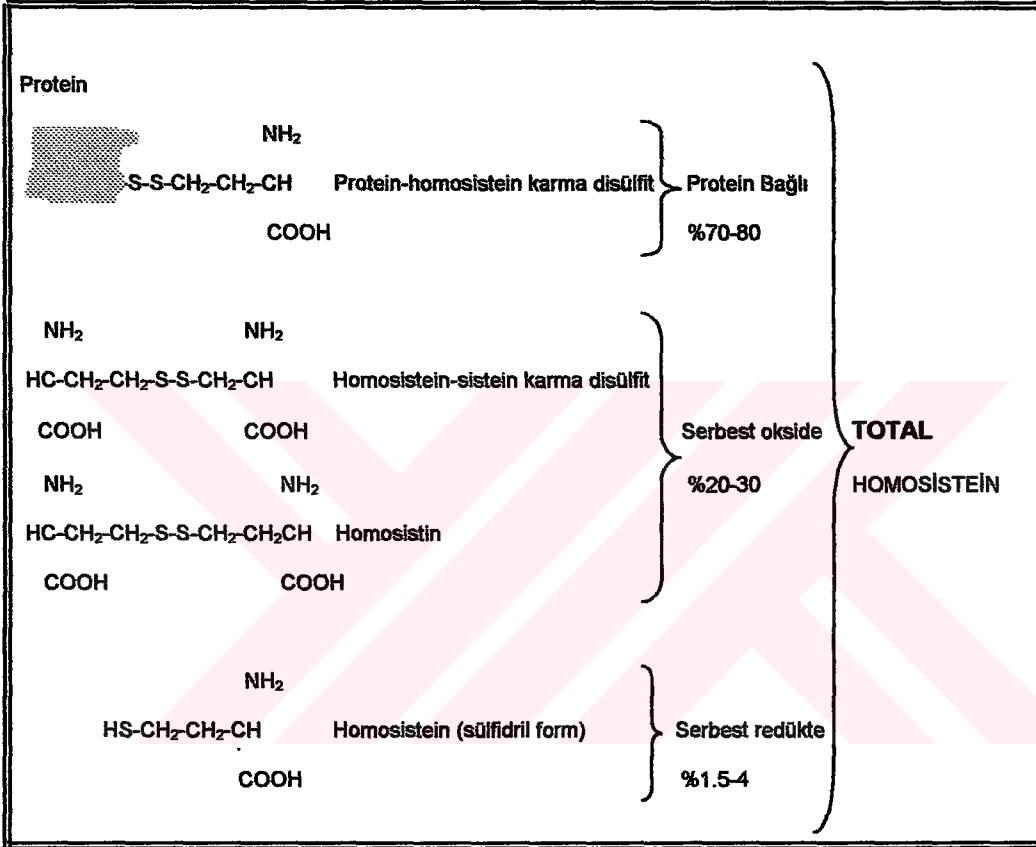


Kısaltmalar: 1- metiyonin , 2- homosistein, 3-sistein, 4-plazma homosist(e)in, 5-eritrosit

Şekil 5 : Metiyonin ve Homosistein Metabolizmasının Çok Yönlü Kompartman Modeli¹⁴.

Homosistein serbest reaktif SH grubu taşıyan bir amino asit olması nedeniyle disülfid yapıları oluşturmak üzere diğer sülfidril grupları ile reaksiyona girmektedir. Açlık taze plazma homosisteininin %70-80'i plazma proteinlerine,

özellikle albumine bağlı, %20-30'u serbest simetrik veya çoğunlukla karma disülfidler olarak bulunurken, eser miktarı (%1.5-4) serbest redükte formdadır³³ (Şekil 6).



Şekil 6:Plazmada Homosisteinin Farklı Formlarının Yapı ve Dağılımı³³.

İnsan plazması homosisteinin yanısıra sistein, sisteinilglisin ve glutatyon gibi diğer aminotiyol bileşiklerini de içermektedir. Sağlıklı bireylerde sistein ~ 250 µmol/L lik konsantrasyonla en fazla bulunan plazma aminotiyol bileşiğidir. Sisteinin yaklaşık % 65'i proteine bağlı, %30'u serbest okside ve % 3-4'ü serbest redükte formda bulunmaktadır. Sisteinilglisinin plazma konsantrasyonu ise daha düşüktür (total ~30 µmol/L) ve bunun yaklaşık % 60'ı proteine bağlı, %30'u serbest

okside ve % 10'u serbest redüktedir. Glutasyon ise plazmada 6 $\mu\text{mol/L}$ gibi düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır ve yaklaşık %65'i redükte formdadır³³.

Plazmadaki homosisteinin, sisteinin ve sisteinilgisinin redükte, okside ve proteine bağlı formları redoks ve disülfid değişim reaksiyonları yoluyla birbirlerini etkilemektedir. Plazmadaki bu aminotiyol bileşikleri redoks tiyol düzeyi olarak adlandırılan dinamik bir sistemi oluşturmaktadır. Plazma homosistein düzeyindeki artış (hiperhomosisteinemi) redoks tiyol düzeylerinde değişikliklere neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar redükte homosisteinin, fizyolojik şartlar altında düşük konsantrasyonlarda olduğunu fakat total homosisteinin bir fonksiyonu olarak arttığını göstermektedir. Redükte/total homosistein oranındaki artış paralel olarak diğer aminotiyol bileşiklerinin oranında da değişikliğe neden olmaktadır³⁴⁻³⁷.

Plazmadaki redükte homosistein ve tiyol konsantrasyonu ortamın sıcaklığına bağlı olarak azalmaktadır. Glutasyon ve homosistein için bu süre, sisteinilgisin ve sisteine kıyasla daha düşüktür. Oda sıcaklığında homosistein türevleri arasındaki devamlı dağılım, proteine bağlı homosistein oranını artırmaktadır. Bu süreç düşük sıcaklıklarda yavaştır ancak dondurucu şartlarında da meydana gelmektedir. Bu nedenle redoks tiyol bileşiklerinin ölçümü özel şartlar gerektirmektedir ve total homosistein ölçümü klinik çalışmalarda daha uygun olmaktadır^{38,39}.

Plazma total homosistein düzeyleri; homosistein, homosisteinin disülfid türevleri olan homosistin ve homosistein-sistein ile proteine bağlı formunun toplamı olarak ifade edilmektedir. Plazma homosistein konsantrasyonları için güvenilir bir referans aralığı vermek güçtür. Homosistein için normal referans üst değeri bir laboratuvaradan diğerine büyük oranda değişiklik göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda bu değer 12.3 $\mu\text{mol/L}$ ⁴⁰, 16.1 $\mu\text{mol/L}$ ⁴¹, 21.2 $\mu\text{mol/L}$ ⁴², 13.9 $\mu\text{mol/L}$ ⁴³, ve

30.1 $\mu\text{mol/L}$ ⁴⁴ olarak bildirilmiştir. Ortalama olarak 15-16 $\mu\text{mol/L}$ üst sınır olarak kabul edilmektedir. Bu değerler arasındaki değişiklik, uygulanan metodoloji ve örnek toplanmasındaki farklılığın yanısıra, referans kişilerin seçimine de bağlı olabilmektedir¹³.

Total homosistein konsantrasyonu yaş ve cinsiyete bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Premenapozal kadınların postmenapozal kadınlardan ve erkeklerden daha düşük homosistein düzeylerine sahip olduğu ve seks hormonlarının serum homosistein düzeylerini etkilediği birçok çalışmayla desteklenmiştir^{45,46}.

Çocuklar yetişkinlere oranla daha düşük plazma homosistein düzeylerine sahiptir ve yaş ilerledikçe buna paralel olarak homosistein düzeylerinde de artış olduğu görülmüştür⁴⁷. Plazma homosistein referans aralıkları Tablo 1'de verilmiştir⁴⁸.

Tablo 1: Yaş Gruplarına Göre Homosistein Referans Aralıkları⁴⁸.

Yaş Grubu	Yeni Doğan	Adölesan	Yetişkin Erkek	Yetişkin Kadın	Yaşlılar	Sentenaryan
Plazma Homosistein (μM)	3-6	5-8	6-15	3-12	15-20	25-27

II.1.6. İdrar Homosistein Düzeyleri

Radioenzimatik ve kapiller gaz kromatografi- kütle spektrofotometresi ile yapılan çalışmalarda idrar homosistein konsantrasyon aralığı 3.5-9.5 $\mu\text{mol/L}$

olarak belirlenirken, 24 saatte atılan homosistein konsantrasyonu yaklaşık 6 μmol olarak bulunmuştur. Bu değer labil metil grubu turnoverinin yaklaşık 1/1000'idir. Normal fizyolojik şartlar altında renal homosistein klirensi total kreatinin klirensinin yaklaşık olarak %3'ünü yani minör bir kısmını oluşturmaktadır^{49,50}.

II.2. HİPERHOMOSİSTEİNEMİ

Homosisteinin, de novo metiyonin sentezi yönündeki veya sistatyonin sentaz aracılığı ile katabolize olma yönündeki dağılımı, metiyonin ihtiyacına bağlı olarak S-adenozilmetiyonin tarafından koordine bir şekilde regüle olmaktadır. Hücre içi homosistein konsantrasyonları bu koordine regülasyonun bozulması sonucu artmakta ve hücresel eksport mekanizmaları aracılığı ile hücre içi homosisteini hücre dışı ortamlara atılmaktadır⁵¹. Homosisteinin plazmada anormal derecede yükselmesi (hiperhomosisteinemi), homosistein metabolizmasını doğrudan etkileyen genetik ve genetik olmayan birçok bozuklukla indüklenebilmektedir.

Hiperhomosisteinemi; hafif, orta ve şiddetli form olmak üzere gruplandırılmaktadır ve plazma homosistein konsantrasyonlarının bu gruplarda sırasıyla 16-30 $\mu\text{mol/L}$, 31-100 $\mu\text{mol/L}$, ile >100 $\mu\text{mol/L}$ düzeyinde olduğu bildirilmektedir. Şiddetli hiperhomosisteinemi; yüksek konsantrasyonlarda homosisteinin idrara çıkması nedeniyle esasen homosistinüri olarak görülmekte ve nörolojik anormallikler, mental retardasyon ve çocuk yaşta görülen tromboembolik olaylardan oluşan klinik bir tablo arz etmektedir. Hiperhomosisteineminin orta ve hafif formlarında, yetişkin yaşlardaki oklüziv vasküler hastalıklar ile olan pozitif ilişki dışında, şiddetli hiperhomosisteineminin klinik özellikleri görülmemektedir^{52,53}.

II.2.1. Etiyoloji

Hiperhomosisteinemi, etiyojik temeline göre genetik ve genetik olmayan hiperhomosisteinemi olarak ayrılabilir^{53,54}:

1. Genetik Hiperhomosisteinemi⁵³⁻⁵⁵

Sistatyonin Sentaz Eksikliği: Bu defekt homosistinürinin en yaygın nedeni olup otozomal resesif kalıtsal bir bozukluktur. Biyokimyasal olarak hastalar transsülfürasyon yolağındaki blokasyona bağılı olarak hipermetiyoninemi ve düşük plazma sistein düzeyleriyle karakterizedir.

Bu enzim defektinde en az iki farklı genetik tip ortaya çıkmaktadır. Biri rezidüel enzim aktivitesinin olduğı ve enzimin kofaktörünün pridoksal-5'-fosfat olması nedeniyle yüksek dozda pridoksine cevap veren tip; diğeri ise enzimatik aktivitenin hiç olmadığı ve B₆ vitaminine cevap vermeyen genetik tiptir.

Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz Eksikliği: Sistatyonin β-sentaz eksikliğine oranla daha nadir görölmektedir. Bu hastaların biyokimyasal profili de farklılık göstermektedir. Sistatyonin β-sentaz eksikliğinde 200-400 μmol/L düzeyinde hipermetiyoninemi ve homosisteinemi görölürken, 5,10 metilen tetrahidrofolat redüktaz enzimi eksikliğinde düşük veya normal plazma metiyonin düzeyi ve 11.6 ile 233 μmol/L arasında değışen ortalama 57 μmol/L düzeyinde, orta derecede bir homosisteinemi mevcuttur.

Metilkobalamin Metabolizmasındaki Defekte Bağılı Olarak Metiyonin Sentaz Eksikliği: Metilkobalamin homosisteinin folat bağımlı metilasyonunda gerekli bir kofaktördür. Bu nedenle bu kofaktörün eksikliği orta derecede hiperhomosisteinemi meydana getirmektedir.

2. Genetik Olmayan Hiperhomosisteinemi

Genetik olmayan faktörler arasında; plazma total homosistein konsantrasyonlarının regülasyonunda etkili çeşitli bileşiklerin beslenmeye bağlı olarak ortaya çıkan değişik düzeyleri en önemli parametredir. Folik asit ve kolin sırasıyla metilen tetrahidrofolat ve betainin prokürsörleridir. Her iki metabolit de homosisteinin metilasyonunda metil grubu donörüdür^{56,57}. Siyanokobalamin, metiyonin sentazın kofaktörü olan metilkobalaminin, pridoksin ise sistatyonin β -sentazın kofaktörü olan pridoksal fosfatın öncülüdür. Bu nedenle bu bileşiklerdeki eksiklik farklı formlarda hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır^{58,59}. Bazı aminoasitler de homosistein metabolizmasının kontrolünde önemli bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Aşırı metiyonin ve protein alımı homosistein sentezinin artması nedeniyle plazma homosistein konsantrasyonlarının artmasına neden olmaktadır. Serin amino asidi ise homosisteinden sistatyonin sentezinde ve tetrahidrofolattan metilen tetrahidrofolat sentezinde bir substrattır. Bu nedenle serin amino asidi potansiyel nongenetik faktörler arasındadır⁵³.

Metiyonin, folat, B₁₂ vitamini ve kolin metabolizmasıyla ilgili farmakolojik ajanlar da hiperhomosisteinemiye genetik olmayan faktörler arasında yer almaktadır. Folat metabolizmasıyla ilgili olan metotreksat, antikonvülzan ilaçlar, B₆ vitamini antagonisti azouridin, adenzin deaminazı inhibe etmek suretiyle S-adenozil homosistein hidrolaz enzimi ile indirekt olarak etkileşen 2-deoksikoformisin, penisilamin ve endokrin aktiviteye sahip ilaçlar (antiöstrojen aktiviteye sahip tamoksifen) gibi bileşikler homosistein düzeylerini etkilemektedir. Bu bileşiklerden 2-deoksikoformisin, tamoksifen ve penisilamin plazma homosistein düzeylerini düşürürken diğer bileşikler hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır^{10,60,61}.

II.2.2. Tedavi

Hiperhomosisteineminin tedavisi defektin etiyolojik temeline ve şiddetine göre değişiklik göstermektedir. Genetik hiperhomosisteineminin tedavisinde tercih edilen metod kofaktör veya kofaktör öncülleri ile mutant enzimin aktivasyonuna dayanmaktadır. Eğer hiperhomosisteinemi bu tedaviye cevap vermezse homosistein turnoverındaki alternatif yolları artırmak için, farmakolojik dozlarda folik asit ve betain kullanılmalıdır. Farmakolojik dozda betain, betain-homosistein metiltransferaz aracılığı ile , folik asit ise metiyonin sentaz aracılığı ile homosisteinin metilasyonunu kolaylaştıracaktır. Homozigot termolabil metilen tetrahidrofolat redüktaz veya heterozigot sistatyonin β -sentaz yetersizliği gibi tek bir genetik defektin olduğu durumlarda, eğer genetik olmayan faktör veya faktörler yoksa kalıcı bir hiperhomosisteineminin oluşması ihtimali daha düşüktür. Buna bağlı olarak folat, B₁₂ vitamini, pridoksin ve kolin gibi bileşiklerin düşük normal serum değerlerini artırmak bu tür minör genetik defektlerin tedavisinde yeterli olabilecektir^{54,62}. Hiperhomosisteineminin tedavisi ana hatlarıyla Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Hiperhomosisteineminin Tedavisi⁵⁴*** Genetik Hiperhomosisteinemi**

- Mutant enzim aktivasyonu: Pridoksin ile pridoksine cevap veren sistatyonin sentazın aktivasyonu
- Substrat konsantrasyonunun artırılması: Termolabil metilen tetrahidrofolat redüktaz vakalarında folik asit verilmesi
- Homosistein sentezinin azaltılması: Metiyonin kısıtlaması
- Homosistein turnoverının artırılması: Folik asit, kolin ve betain verilmesi

*** Diyetsetel Hiperhomosisteinemi**

- Diyetsetel yetersizliğin giderilmesi: Folik asit, vitamin B₁₂ , pridoksin ve kolin(betain) verilmesi.

II.3. KORONER KALP HASTALIKLARI

Kalbin kendisini besleyen koroner arterlerin, beslediği bölgelere herhangi bir nedenle yeterli kan taşıyamamaları sonucu miyokarda oluşan iskemi ve nekrozun derecesine göre gelişen hastalıklar ve bu hastalıkların komplikasyonlarının tümü koroner kalp hastalıkları olarak incelenmektedir. Koroner kalp hastalıkları (KKH) tüm ölümlerin %35-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise %50-75'inin nedenini oluşturmaktadır. KKH'larının görülme sıklığı ve buna bağlı ölüm oranı yaşa, cinse ve diğer risk faktörlerine, toplumlara, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine ve coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir⁶³.

Koroner arterlerin daralmasına yol açan en önemli etiyolojik faktör aterosklerozdur. Ateroskleroz eskiden bilindiği gibi yaşlanma ile oluşan kaçınılmaz bir süreç değil bazı risk faktörlerinin etkisiyle gelişen kronik inflamatuvar bir süreçtir. Uzun süre devam eden bu süreçte aterom plağı giderek büyümekte, zamanla plağın yırtılması ve üzerine trombus binmesi sonucu koroner damarların tıkanmasıyla akut koroner olaylar meydana gelmektedir⁶⁴.

II.3.1. Aterosklerotik Lezyonların Gelişimi

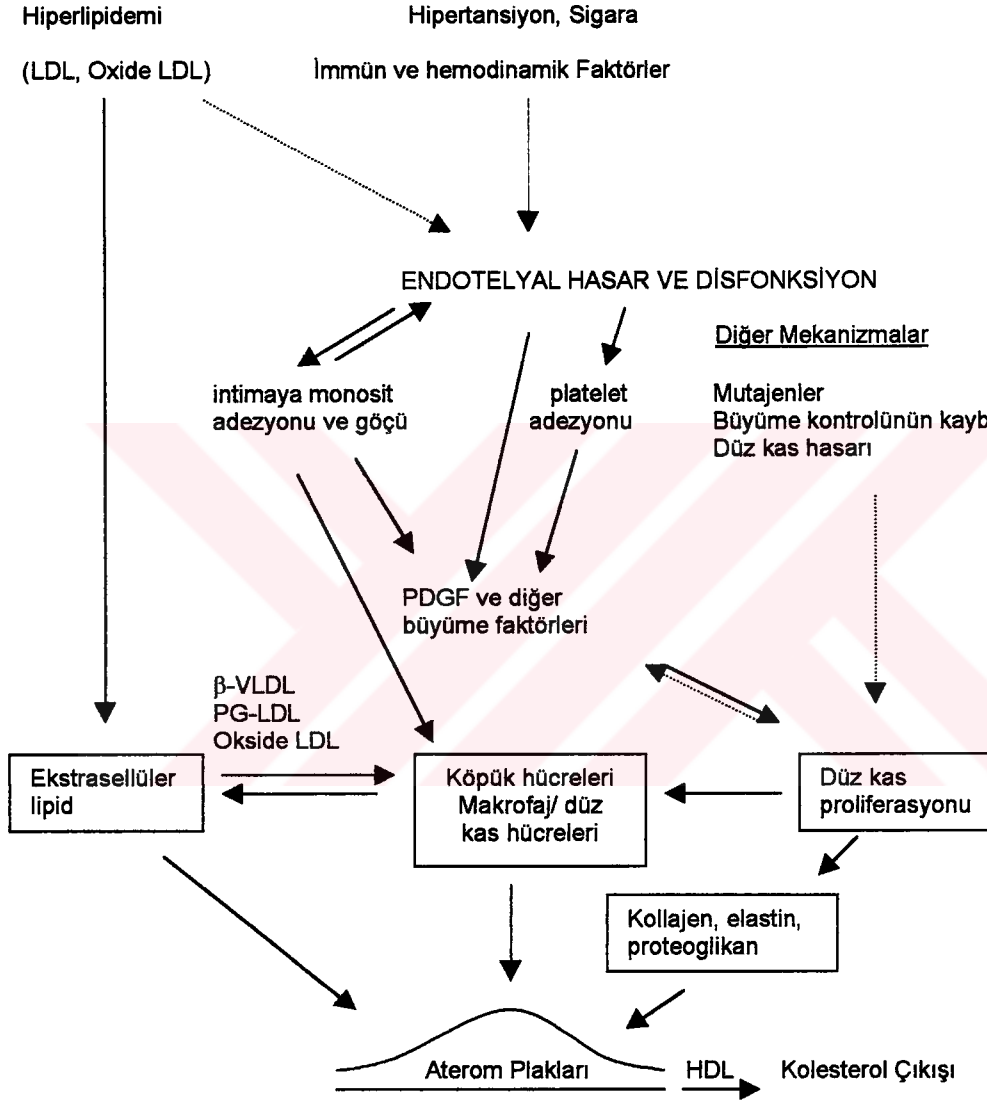
İnsanlarda ateroskleroz koroner, karotid, basilar ve vertebral arterler gibi orta büyüklükteki arterlerin yanı sıra aort ve alt ekstremiteleri besleyen iliak ve femoral arterlerde de oluşmaktadır. Birçok aterosklerotik lezyon tanımlanmasına karşın makroskobik olarak ilk görülmeye başlayan aterosklerotik lezyon yağlı çizgilerin oluşumudur⁶⁴.

Klasik intimal yağlı çizgiler, hafifçe kabarmış, dar ve boydan boya uzanmış sarı alanlar şeklindedir. Mikroskopik olarak ise yağlı çizgiler, subendotelyal köpük hücresi agregatlarından oluşmaktadır. Köpük hücreleri; stoplazması çoğunlukla lipid damlalarıyla genellikle de kolesterol ve kolesterol esterleri ile dolu olan hücrelerdir⁶⁵. Yapılan çalışmalar yağlı çizgilerdeki köpük hücrelerinin önemli bir kısmını makrofajların, geri kalan kısmını ise düz kas deriveleri ile T lenfositlerin oluşturduğunu göstermektedir^{66,67}.

Aterosklerozdaki asıl lezyon *ateromatöz veya fibrotik plakların* oluşumudur. Lezyon arterde daralmaya neden olmakta, arteri tromboz ve kalsifikasyona meyilli hale getirmekte, kaslarda zayıflığa ve anevrizmal dilatasyona yol açmaktadır. Ateromatöz plaklar yuvarlak, çapı 1 cm'yi bulabilen lezyonlardır. Histolojik olarak değişiklik göstermekle birlikte tipik bir hücresel plak; birkaç lökosit taşıyan düz kas hücreleri ile elastin, kollojen fibriller, proteoglikanlar ve temel membranları içeren nispeten yoğun bağ dokusundan oluşan "fibröz bir kapsül", kapsülün altında makrofaj, düz kas hücreleri ve T lenfositlerin karışımını içeren "hücresel bir alan" ve daha derinde hücresel kalıntılar, ekstrasellüler lipid damlaları, kolesterol kristalleri ve kalsiyum depoları içeren "nekrotik çekirdekten" oluşmaktadır. Bu nekrotik çekirdek sayısız makrofaj ve düz kas tipi büyük köpük hücresi içermektedir. Zaman zaman ise özellikle lezyonların periferinden adventia yönüne doğru neovaskülerizasyonun göstergesi olan proliferen küçük kan damarları görülmektedir. Plak içersindeki fibröz doku ve lipid içeriği oluşum bölgesine göre değişiklik gösterip, koroner arter lezyonları çoğunlukla fibröz yapı sergilemektedir (Şekil.7)⁶⁵.

Endotel hücreleri tüm damar yatağını kaplayan hücrelerdir. Endotel normalde kontraksiyona, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonuna ve de

koagülasyona engel olup, aynı zamanda inflamatuvar hücrelerin adhezyonu ve migrasyonuna engel olmaktadır. Aterosklerotik lezyon gelişimine meyilli bölgelerde



Şekil 7 : Aterojenezdeki Olayların ve Hücrel Etkileşimlerin Şematik Gösterimi⁶⁵.

endotel hücreleri bu özelliklerini kaybedip prokoagülan, proinflamatuvar, antifibrotik hale dönüşmekte ve okside düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oluşumu ile düz kas hücre proliferasyonunu artırmaktadırlar⁶⁴.

II.3.2. Risk Faktörleri

Koroner kalp hastalıkları multifaktöriyel bir hastalık olup geçmişte koroner kalp hastalıkları ile ilgili birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Geleneksel risk faktörleri; yaş, cinsiyet, aile hikayesi, hipertansiyon, obezite, yüksek LDL, düşük HDL, diyabet ve sigaradır. Son yıllarda trigliserit, lipoprotein (a), LDL ve HDL'nin alt fraksiyonları, modifiye LDL, apo E fenotipi/genotipi, fibrinojen ve homosistein gibi yeni risk faktörlerinin tanımlanmasında dikkate değer ilerlemeler olmuştur. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma yüksek serum kolesterol, trigliserit, ve LDL düzeyleri ve düşük HDL düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur^{1,48,68}.

Birçok biyolojik sürecin önemli bir bileşeni olan kolesterol ve trigliserit hidrofobik karakterleri nedeniyle kan dolaşımında lipoprotein partikülleri olarak sirküle olmaktadır. Lipoproteinler; şilomikron, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) 'den oluşan trigliseritçe zengin lipoproteinler ile düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'den oluşan kolesterolce zengin lipoproteinler olarak iki grupta değerlendirilebilir⁶⁹.

İntestinal hücrelerde sentezlenen şilomikronlar, endotel hücrelerin lümenal yüzeyine bağlı olan lipoprotein lipaz (LPL) ile şilomikron remnantına hidroliz olmaktadır. HDL şilomikron remnantına Apo E vererek onun plazmadan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Bu uzaklaşma hepatositler üzerinde bulunan LDL (Apo B/E) reseptörü ve yapısal olarak LDL reseptörüne benzeyen "LDL reseptörü ile ilişkili protein (LRP)" olarak bilinen Apo E reseptörü vasıtasıyla olmaktadır. Karaciğerde sentezlenen ve salınan VLDL ise lipoprotein lipaz ile VLDL remnantına hidroliz olmakta ve lipazların etkisiyle hızla LDL'ye dönüşmektedir. Apo E reseptörlerindeki genetik bozukluklar plazmada şilomikron ve VLDL remnantlarının

birikimine neden olmakta bu da koroner ve periferel arterlerde ateroskleroz riskini artırmaktadır⁷⁰.

LDL plazmadan birçok hücrede yaygın olarak bulunan LDL reseptörleri ile uzaklaştırılmakta ve hücrelerin eksojen kolesterolü almasındaki önemli mekanizmayı oluşturmaktadır. LDL okside olduğunda doğal reseptörlerince tanınmamaktadır. Okside LDL makrofajlarda bulunan temizleyici reseptörler vasıtasıyla alınmakta, makrofajlar okside LDL ile dolu hale gelmekte ve sonucunda aterosklerotik köpük hücreleri oluşmaktadır. LDL'nin oksidasyonu; köpük hücresi oluşumu dışında monositlerin makrofaj yönünde farklılaşmasına, monosit kemotaksisinin aktivasyonu ve makrofaj kemotaksisinin inhibisyonuna, sitotoksositeye ve koagülasyonda artışa neden olmaktadır^{68,70}.

Klinik çalışmalar yüksek LDL düzeylerini güçlü koroner kalp hastalığı için risk faktörü olarak gösterirken, LDL kolesterolünün (LDL-C) düşürülmesinin aterosklerotik plakları stabilize edebileceğini ve aterosklerotik ilerlemeyi engelleyebileceğini ortaya koymuştur^{71,72}.

HDL'nin birincil görevi kolesterolü periferden mobilize edip, kan dolaşımından uzaklaştırarak karaciğere getirmektir. Bu nedenle HDL konsantrasyonları ile koroner kalp hastalığı riski arasında ters ilişki bulunmaktadır⁷³. HDL aynı zamanda LDL'yi de oksidasyondan korumaktadır. HDL kolesterolündeki %1'lik bir artış KKH riskinde %2-4'lük bir azalmayla ilişkilendirilmiştir. Düşük HDL düzeyleri, diğer aterojenik lipoproteinlerin ve risk faktörlerinin delilini oluştururken, \geq 60 mg/dL HDL konsantrasyonu koruyucu olarak düşünülmektedir⁴⁸.

HDL, kullanılan analitik metoda bağlı olarak HDL₂ ve HDL₃ alt fraksiyonlara ayrılmaktadır. Bunlardan HDL₂ KKH'nın ilerlemesi ve derecesi ile ilişkili bulunmuştur. HDL apolipoprotein bileşimine göre sadece apo AI'i içeren LpAI ve

hem apo AI hem de apo AII'yi içeren LpAI:All olarak ayrılmaktadır. Bunlardan LpAI HDL'nin antiaterojenik kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenle LpAI ve LpAI:All 'nin ölçümü KKH riskininin doğru tahminine imkan vermektedir. LDL ise büyüklük ve dansitesine göre alt fraksiyonlara ayrılmaktadır. Daha düşük yoğunluktaki LDL partikülü, LDL- reseptör bağlanma kapasitesi daha düşük olduğu için daha aterojeniktir. Partikül çapına göre değerlendirildiğinde büyük LDL partikülü ile karakterize olan fenotip A ve daha küçük olan fenotip B olarak ayrılmaktadır. Tip B paternini taşıyan bireyler ise yüksek KKH riski taşımaktadır⁴⁸.

HDL düzeyleri azaldığında trigliserit düzeyleri artmaktadır. Yüksek trigliserit düzeyleri VLDL'nin aşırı üretimi, yetersiz şilomikron ve VLDL katabolizması ile ilgilidir. Şilomikron ve VLDL'nin remnant olarak adlandırılan katabolik ürünleri arteryal endotelyuma ve deendotelialize alanlara bağlanma eğilimindedir. Burada lokalize olan LPL, trigliseritleri hidroliz ederek bağlanan partiküllerin çapını küçültmekte ve bunların arteryal duvarın daha derinlerine inmesine olanak sağlamakta, bu ise aterojenezle sonuçlanabilmektedir⁴⁸.

Lipoprotein (a); yapısal olarak LDL'ye benzeyen farklı olarak Apo B'ye kovalent bağlı apo (a) içeren kolesterolce zengin lipoproteindir ve KKH için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bunun nedeni ise vasküler duvarda ve ateriosklerotik plakta apo (a) birikimi ve Lp(a)'nın plazminojeni dolayısıyla da fibrinolizi inhibe etmesidir^{70,74}.

Apolipoprotein E polimorfizmi; apo E, kolesterol ve trigliseridin transportunda ve lipoprotein metabolizmasında kritik rol oynamaktadır. Apo E, polimorfizmine bağlı olarak diyetsel kolesterol absorpsiyonunun etkilenmesi nedeniyle ateriosklerotik risk faktörü olarak önem kazanmıştır^{48,68}.

Fibrinoliz ve koagülasyonla ilgili faktörler; fibrinolizde azalma ve koagülasyon yolağının aktivasyonunda artışla ilgili birçok biyolojik marker, yüksek kardiyovasküler risk ile ilişkili bulunmuştur. Bunlardan en iyi bilineni olarak fibrinojen, yüksek konsantrasyonlarda, ateroskleroz oluşumunu, kan viskozitesini ve platelet agregasyonunu artırarak trombüs riskini artırmaktadır⁶⁸.

II.3.3. Ateroskleroz ve Homosistein

Yüksek homosistein düzeyleri ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir ancak yüksek homosistein konsantrasyonlarının ateroskleroz patojenezindeki etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamıştır.

Homosisteinle indüklenen tromboz ve ateroskleroz gelişimini açıklamaya yönelik araştırmalarda muhtemel mekanizmalardan biri, homosisteinin in vivo serum lipidlerinin oksidasyonunu katalizleyebileceği ve LDL modifikasyonuna neden olabileceğidir⁶⁹. Homosisteinin LDL oksidasyonu üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, Cu^{++} katalizli, azo bileşikleri ile başlatılan ve periferik kan mononükleer hücre aracılığıyla olmak üzere üç farklı oksidasyon sistemi oluşturularak, konjuge diene oluşumu, lipid peroksidler, tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) ve rölatif elektroforetik mobilitenin ölçüldüğü bir çalışmada; homosistein, normal plazma konsantrasyonlarında (6-25 μM) LDL lipid peroksidasyonu üzerinde önemli bir etki göstermezken, orta ve yüksek homosistein düzeylerine (25,100,250,500 μM) çıkıldığında üç farklı oksidasyon sisteminde homosisteinin LDL'nin lipid ve protein çekirdeklerini oksidasyona karşı koruduğu gözlenmiştir. Ancak Cu^{++} ile başlatılan oksidasyon sisteminde 6-25 μM homosistein konsantrasyonlarının, LDL lipid peroksidasyonunda küçük fakat istatistiksel olarak anlamlı bir artış oluşturduğu gözlenmiştir⁷⁵. Bu bulgu, tiyol bileşiklerinin geçiş metal iyonları varlığında serbest radikal oluşturabileceği ve lipid peroksidasyonuna neden olabileceği yönündeki diğer bulgularla da uyumludur fakat geçiş metal iyonlarının varlığında düşük homosistein

konsantrasyonlarının pro-oksidan yapısının in vivo LDL oksidasyonu için uygun olup olmadığı hala açık değildir⁷⁶.

Blom ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; hiperhomosisteinemili hasta LDL'lerinin Cu^{++} katalizli oksidasyona olan duyarlılıklarının kontrol grubuna benzer olduğu bildirilmiştir⁷⁷.

Eğer homosistein aracılı serbest radikal ve H_2O_2 oluşuyorsa bunun yüksek plazma homosistein düzeylerine sahip kişilerde lipid hidroperoksit konsantrasyonlarında artışa neden olması gerektiği düşüncesinden hareketle, plazma ve lipoprotein fraksiyonlarındaki oksidatif stresin göstergesi olarak, ubikinol₁₀ ($\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$) ve ubikinon₁₀ (CoQ_{10}) oranı ile plazma HDL kolesterol hidroperoksit düzeylerinin ölçüldüğü çalışmada; yüksek plazma homosistein düzeylerinin endojen plazma HDL kolesterol hidroperoksit düzeylerinde artışa neden olmadığı ve oksidatif streste azalması beklenen ubikinol₁₀ ($\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$)/ubikinon₁₀ (CoQ_{10}) oranının ise arttığı gözlenmiştir⁷⁸. Bu bulgular, homosisteinle indüklenen atërosklerozun, LDL'nin oksidatif modifikasyonu dışındaki mekanizmalarla olabileceğini düşündürmüştür.

İleri sürülen alternatif mekanizmalar ise; endotelial hücre hasarı, vasküler düz kas hücre büyümesi, çeşitli trombotik komplikasyonlar, prokoagülan aktivitenin stimülasyonu ve endotelial hücre tromborezistansında yetersizlik gibi etkilerden oluşmaktadır.

Vasküler endotelium, vasküler ve ekstravasküler bölgeler arasındaki sıvı, solüt ve hücre transferini kontrol ederek, vücut homeostazının devamında anahtar rol oynamaktadır. Homosisteinin endotelial bariyer fonksiyonu üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalar, homosisteinin direkt kendisinin değil Cu^{++} katalizli oksidasyonunun sonucu oluşan H_2O_2 'in endotel hücre hasarına neden olabileceğini göstermiştir⁷⁹. Hücre hasarında potansiyel sebep olarak serbest radikallerin rolünü değerlendirmeye yönelik çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır; serbest radikal üretimi ve hücresel antioksidan savunma sistemi

bakımından heterozigot sistatyonin β -sentaz yetersizliği olan hasta ve kontroller arasında bir farklılık gözlenmezken⁸⁰, hücrelerin devamlı yıkımı sonucu meydana gelen lipit peroksidasyonunun ateroskleroz gelişimine katkısı olsa bile, hiperhomosisteinemi ile ilgili vasküler aksaklığın patojenezinde böyle bir mekanizmayı destekleyen deliller bulunamamıştır⁸¹. Ancak Blundell ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada homosistein aracılı toksisitenin allopurinol ve radikal temizleyicilerle önlenmesi, hücre hasarına katkıda bulunan faktör olarak ksantin oksidazı göstermektedir⁸².

Homosisteinin, erken aterosklerotik lezyonlarla uygunluk gösteren, vasküler düz kas hücrelerinde DNA sentezini artırdığı, endotelial hücrelerin rejenerasyonunu engellerken, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu indüklediği gösterilmiştir⁸³.

Homosisteinin hemostatik faktörler üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir. Endotelial hücreler, damar duvarlarının tromborezistansını doku plazminojen aktivatörü, prostasiklin, heparin benzeri glikozaminoglikanlar ve trombomodulin gibi antitrombotik bileşikleri ile sağlamaktadır⁸⁴.

Intravasküler koagülasyonun ve trombozun önlenmesinde önemli bir mekanizmayı oluşturan intakt protein C enzim sisteminde, endotel hücre membranına bağlı bulunan glikoprotein yapısındaki trombomodulin, trombinin bağlayarak protein C'nin aktivasyonunu sağlamaktadır. Böylece trombomodulin hem protein C'nin aktivasyonunda hem de trombinin prokoagülan aktivitesinin inhibisyonunda etkili olmaktadır. Yapılan çalışmalar homosisteinin trombomodulin yüzey ekspresyonunu ve protein C aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir⁸⁵⁻⁸⁷.

Normal hemostazın sağlanmasında önemli diğer bir mekanizma da proagregatör ve protrombotik platelet tromboksan A₂ (TXA₂) ve antitrombotik prostaglandin I₂ (PGI₂, prostasiklin) arasındaki dengedir. Bu bileşiklerin üretimindeki dengesizlik ise trombolitik eğilimi artırmaktadır. In vitro çalışmalar homosist(e)inin

vasküler PGI₂ sentezini etkilemediğini ancak preagregatör platelet TXA₂ sentezini artırdığını göstermiştir⁸⁸.

Kültüre hücrelerin homosistein ile muamele edilmesi sonucu, doku plazminojen aktivatörünün aktivitesinde değişiklik⁸⁹, hücresel doku faktör aktivitesinde⁹⁰ ve faktör V'in aktivitesinde artma⁹¹, von Willebrand faktör sekresyonunda inhibisyon⁹², bağ dokusu proteoglikanlarının hipersülfasyonu gözlenmiştir⁹³. Ayrıca homosisteinin, Lp(a)'nın fibrine olan afinitesini artırarak, Lp(a)'nın trombotik ve aterojenik aktivitesini artırdığı gösterilmiştir⁹⁴. Bu etkilerin yanısıra, damar yapısının homosisteine maruz bırakılması sonucu endotel kaynaklı relaxing faktörün (EDRF)'ün biyolojik aktivitesinde azalma meydana geldiği öne sürülmüştür^{95,96}. Homosisteinin advers vasküler etkilerinin, S-nitrosohomosistein oluşturmak suretiyle hafifletildiği, S-nitrosohomosisteinin vazodilatör ve platelet inhibitör etkisinin olduğu bildirilmiştir⁹⁷.

III. MATERYAL VE YÖNTEM

III.1.KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

DL-Homosistein	(Sigma)
L-Sistein	(Sigma)
Glutatyon	(Sigma)
Sisteinilglisin	(Sigma)
Tri-n-butilfosfin (TNF)	(Merck)
Dimetilformamid	(Fluka)
SBD-F (7-fluoro-2-oxa-1,3-diazole 4- sülfonik asit amonyum tuzu)....		(Sigma)
Disodyum Etilendiamin Tetra Asetik Asit (Na ₂ EDTA)	(Sigma)
Disodyum Hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	(Merck)
Sodyum Dihidrojen fosfat (NaH ₂ PO ₄)	(Merck)
Borik Asit (H ₃ BO ₃)	(Merck)
Sodyum Asetat Trihidrat	(Merck)
Asetik asit	(Merck)
Perklorik Asit	(Merck)
Sodyum Hidroksit	(Merck)
Potasyum Hidroksit	(Merck)
Metanol (HPLC gradient grade)	(Merck)
Deiyonize su		

III.2. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

HPLC Hewlett Packard 1050
Fluoresans Dedektör Hewlett Packard 1046
İntegratör Hewlett Packard 3396 A
Analitik Kolon Supelcosil LC 18-DB (150x4.0 ID)
Guard Kolon Supelcosil LC 18-DB (2cm)
Hassas Terazı AND GR-200
Vortex Vibrolabo
PH Metre And
Magnetik Karıştırıcı Nüve
Isı Ayarlı Su Banyosu Kottermann
Ultrasonik Banyo Bandelin-Sonorex RK 100H
Yüksek Devirli Soğutmalı Santrifüj Jouan MR 1822
Derin Dondurucu Jouan
Otomatik Pipet (0-100, 100-1000 µl) Socorex
0.45µm Membran Filtre Hewlett Packard
Enjektör (25µl) Hamilton

III.3.ÇALIŞMAYA KATILAN HASTA VE KONTROL GRUBUNUN ÖZELLİKLERİ

III.3.1. Hasta Grubu:

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Koroner Yoğun Bakım Ünitesine gelen 35 myokard infarktüsü, 7 kararlı anjina, 11 kararsız anjina ve 15 diğer tiplerde koroner kalp hastalığı tanısı konmuş 50 erkek ve 18 kadın hasta olmak üzere toplam 68 hastadan oluşturulmuştur. Her hasta için aşağıda verilen anket formu uygulanmıştır.

III.3.2. Kontrol Grubu:

Gazi Üniversitesi Kardiyoloji Polikliniğine gelen herhangi bir aterosklerotik bulgusu olmayan 28 kadın ve 14 erkek olmak üzere toplam 42 kişiden oluşturulmuştur. Kontrol grubu için de anket formu doldurulmuştur.

Hasta ve kontrol grubunun genel klinik özellikleri Tablo 3'de verilmiştir.

III.4. KAN ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI:

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden sabah aç karnına EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınarak buz kabına kondu ve mümkün olan en kısa sürede 5000 g'de 10 dakika santrifüj edilip plazmaları ayrılarak -70°C'de analiz süresine kadar saklandı. Plazmanın yanı sıra vitamin B₁₂ ve folik asit ölçümleri ile rutin biyokimya ölçümleri için kan alınarak çalışıldı.

ANKET FORMU

Adı-soyadı:

Cinsiyet :

Yaş:

Boy/Kilo:

Tanı:

Aile hikayesi:

Diğer hastalıklar:

Sigara Kullanımı: () içmeyen () bırakmış () halen içiyor
ne zaman?sig/gün
..... yıldır

Alkol kullanımı: () hayır () evet
.....ml/gün, ay, yıl

Menapozal durum: () premenapoz () postmenapoz
Başlangıç yılı.....

Kullandığı ilaçlar:

Diastolik/ sistolik kan basıncı:

Glukoz:

GGT:

Total kolesterol:

Sodyum:

HDL-kolesterol:

LDL-kolesterol:

VLDL-kolesterol:

Trigliserit:

Kreatinin:

Total protein:

Albumin:

Albumin/Globulin:

AST:

LDH:

ALT:

ALP:

Potasyum:

Kalsiyum:

T.Bilirubin:

D.Bilirubin:

Vitamin B₁₂:

Folik Asit:

Tablo 3 : Hasta ve Kontrol Grubunun Genel Klinik Özellikleri

		HASTA	KONTROL
Total		68	42
Yaş (X±S.D)		59.19±11.39	51.19±12.23
Cinsiyet	Erkek	50	14
	Kadın	18	28
Hastalık	Myokard Infarktüsü	35	-
Tipi	Kararlı Angina	7	-
	Kararsız Angina	11	-
	Diğer	15	-
Menapozal	Premenapoz	2	19
Durum	Postmenapoz	16	9
Sigara	İçen	25	18
Kullanımı	İçmeyen	24	15
	Bırakmış	19	9
Alkol	İçen	-	8
Kullanımı	İçmeyen	68	34

III.5.KULLANILAN YÖNTEMLER

III.5.1.Homosistein Tayini

Çalışmamızda B. Vester ve K. Rasmussen'in yöntemini kendi şartlarımıza modifiye ederek kullandık⁹⁸.

III.5.1.1.Yöntemin Esası

Plazmadaki homosisteinin büyük bir kısmı, homosistein-albumin disülfid formunda, eser miktarı redükte formda, kalan kısmı ise tiyol bileşikleri ile disülfid oluşturmuş şekildedir. Bu nedenle total homosistein tayini için ilk aşama homosistein ile diğer tiyol bileşikleri arasındaki disülfid bağının redüklenmesidir.

Redükleyici ajanın seçimi kullanılan yöntemlere göre değişmekle birlikte, ditiyoenitritol, ditiyothreitol ve merkaptoetanol gibi sülfidril grubu taşıyan redükleyici ajanlar, tiyol gruplarına spesifik olan re ajanlarla reaksiyona girebilmekte ve böylece ortamdaki türevlendirici ajanı bitirebilmektedirler. Sodyum ve potasyum borohidrit de güçlü redükleyici ajanlardır. Bu bileşiklerle redüksiyon yüksek konsantrasyonlarda birkaç dakika sürmekle birlikte, düşük konsantrasyonlar uzun süre ısıtmayı gerektirdiği gibi, kromatografik koşullarda sorun oluşturabilecek gaz çıkışına neden olabilmektedir¹³. Çalışmamızda tiyol gruplarına spesifik olması, türevlendirici ajanla reaksiyona girmemesi ve gaz çıkışına neden olmaması nedeniyle, tri-n-butilfosfin redükleyici ajan olarak kullanıldı.

Redükleyici ajan ile redüksiyona uğratıldıktan sonra ortamdaki proteinler, trikloroasetik asit veya perklorik asit gibi çöktürücülerle ortamdan uzaklaştırılır.

Ortamdaki tiyoller daha sonra tiyol gruplarına spesifik olan türevlendirici bir ajanla, kolon öncesi veya sonrası türevlendirme reaksiyonuna sokulurlar. Floresans türevlendirmenin (derivatizasyonunun) amacı floresans özelliği olmayan veya zayıf olan bileşikleri yüksek floresans özelliği taşıyan bileşiklere dönüştürmektir. Bu amaçla bimanlar ve halojenesülfonilbenzofurazan bileşikleri kullanılmaktadır. Monobromobimanlar pH 8'de ve oda sıcaklığında reaksiyon vermelerine rağmen dezavantajları; hidroliz ürünü olmaları nedeniyle safsızlık içermeleri, bu safsızlıkların floresans özellik göstermelerinden dolayı homosistein tayinini etkilemeleri yanısıra birçok reajan piki vermeleri ve fazla reajanı uzaklaştırmak için de ek metodları gerektirmeleridir⁹⁹.

Halojenesülfonilbenzofurazan bileşikleri olan ABD-F (7-Fluoro-2-oxa-1,3-diazole 4-sülfonamid) ve özellikle SBD-F (7-fluoro-2-oxa-1,3-diazole 4-sülfonik asit), türevlendirici ajan olarak sıklıkla kullanılmaktadır¹⁰⁰. ABD-F tiyollerle pH 8-9.5 arasında 50 °C'de 10 dakikada reaksiyon vermektedir ancak aminlerle derivatize olarak düşük floresans verebilmektedir. SBD-F, tiyollerle pH 9.5'da 60 °C'de 60 dakikada reaksiyon vermesine karşın, aminlerle reaksiyona girmemesi ve ortamda reaksiyona girmeyen türevlendiricinin floresans özellikte olmaması, tiyol komplekslerinin stabil olması ve floresans özellikli hidroliz ürünü oluşturmaması nedeniyle tercih edilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda kolon öncesi türevlendirici ajan olarak SBD-F kullanıldı.

Uygulanan yöntem ana hatlarıyla aşağıda verilmiştir. SBD-F'nin yapısı ve tiyollerle reaksiyonu da Şekil 8'de gösterilmiştir.

Proteine bağılı homosistein
+ Karma disülfid homosistein
+ Serbest homosistein

Tri-n-butilfosfin ile
disülfid bağlarının
redüksiyonu



Total serbest homosistein
+ Protein

Proteinlerin
çöktürülmesi ve
uzaklaştırılması



Total serbest homosistein
+ SBD-F

Türevlendirme ve
floresans özellikteki
kompleksin oluşumu



SBD-F

SBD-SR

Şekil 8 : SBD-F'nin Yapısı ve Tiyollerle Reaksiyonu¹⁰⁰

III.5.1.2. Kullanılan Çözeltiler

Asetat Tamponu (pH 4): 0.1 M asetik asit ve 0.1 M sodyum asetat stok çözeltileri 450:120 oranında karıştırılarak hazırlanan tampon çözeltisinin pH'sı aynı çözeltilerle 4 olacak şekilde ayarlandı. Tampona %2 oranında metanol ilave edildi.

Fosfat Tamponu (pH 6): 0.1 M sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4) ve 0.1 M disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) stok çözeltileri 405:95 oranında karıştırılarak hazırlanan tampon çözeltisinin pH'sı aynı çözeltilerle 6 olacak şekilde ayarlandı. Tampona %5 oranında metanol ilave edildi.

Borat Tamponu I (pH 9.5): 0.1 mol/L olacak şekilde borik asit tartılarak üzerine 2 M sodyum hidroksit ilave edilmek suretiyle pH 9.5 'a ayarlanıp istenilen hacme tamamlandı. Tampon çözeltisine 2 mmol/L olacak şekilde Na_2EDTA ilave edildi.

Borat Tamponu II (pH 10.5): 2 mol/L olacak şekilde borik asit tartılarak üzerine 2 M potasyum hidroksit ilave edilerek pH 10.5 'a ayarlanıp istenilen hacme tamamlandı. Tampon çözeltisine 5 mmol/L olacak şekilde Na_2EDTA ilave edildi.

Perklorik Asit çözeltisi: 0.6 mol/L konsantrasyonda hazırlanarak içerisine 1 mmol/L olacak şekilde Na_2EDTA ilave edildi.

Redükleyici Ajan: 100 ml/L'lik konsantrasyonda dimetilformamid içerisinde hazırlanan tri-n-butilfosfin çözeltisi.

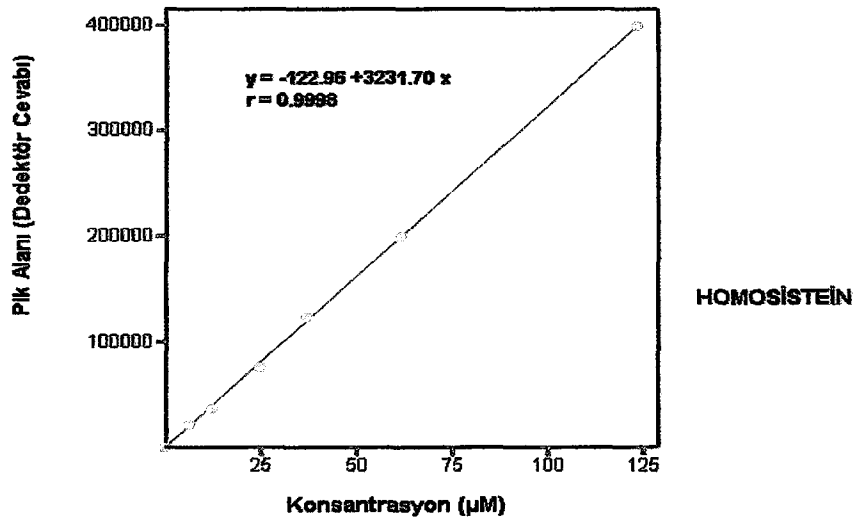
SBD-F Çözeltisi: Floresans özellik taşıyan kompleksi oluşturmak amacıyla borat I tamponu içerisinde 1g/L'lik konsantrasyonda 7-fluoro bezo-2-oxa 1,3-diazole 4-sülfonik asit (SBD-F) çözeltisi hazırlandı.

III.5.1.3. Örneğin Hazırlanması

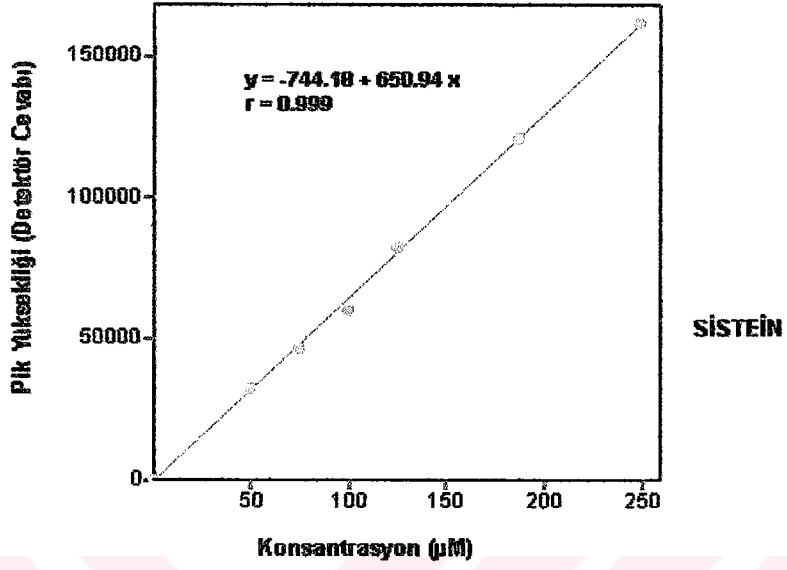
200 µl plazma 20 µl tri-n-butilfosfin ile karıştırılarak 0 °C'de 30 dak. bekletilerek redüksiyon sağlandı. Nümuneye proteinleri çöktürmek amacıyla 125 µl perklorik asit çözeltisi ilave edilerek 0 °C'de 10 dak. bekletildikten sonra 15500 g'de 10 dak. santrifüj edildi. 100 µl süpernatant cam tüplerde 200 µl borat II tamponu ve 100 µl SBD-F çözeltisi ile karıştırılarak 60°C lik su banyosunda 60 dak. inkübe edildi. Bu sürenin sonunda soğutulmuş enjeksiyona hazır hale getirildi.

III.5.1.4. Kalibrasyon

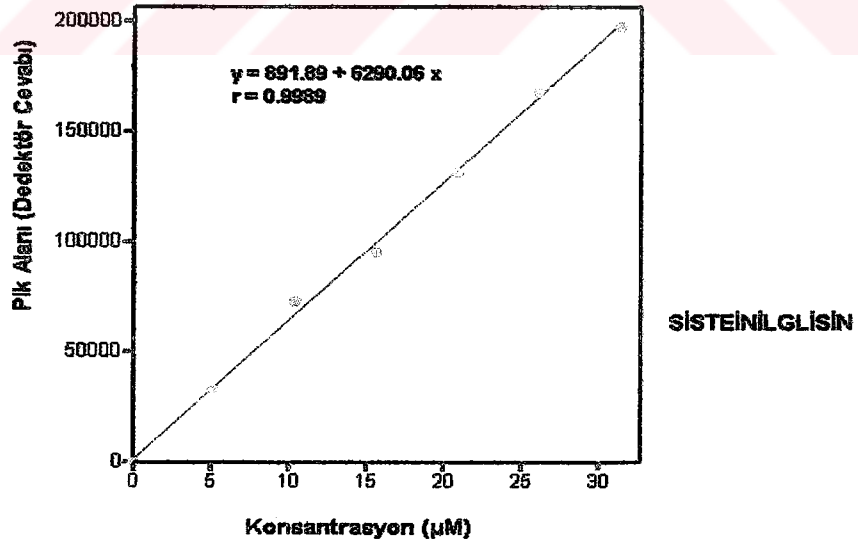
Homosistein (6.18-123.68 µmol/L), sisteinilglisin (5.24-31.44 µmol/L) konsantrasyon aralığında, sistein ise (49.78-248.92 µmol/L) konsantrasyon aralığında plazma Borat I tamponunda hazırlanan standart çözeltilerinden hareketle kalibrasyon doğruları oluşturulmuştur (Şekil 9,10,11). Oluşturulan kalibrasyon doğru denklemlerinden hareketle nümune konsantrasyonları hesaplanmıştır. Standartlara ve plazmaya ait kromatogram örnekleri Şekil 12 ve Şekil 13' de verilmiştir.



Şekil 9 : Homosistein Kalibrasyon Grafiği.



Şekil 10 : Sistein Kalibrasyon Grafiği.



Şekil 11 : Sisteinilglisin Kalibrasyon Grafiği.

III.5.1.5. Kromatografik Koşullar

Kolon : LC 18 DB (15 cm X 4.0 mm ID) (3 mikron)

Mobil faz : Asetat (pH 4) : metanol (98 : 2)

Fosfat (pH 6) : Metanol (95 : 5)

Akış Hızı: 0.7ml/dakika

Elüsyon : Gradient elüsyon uygulandı.

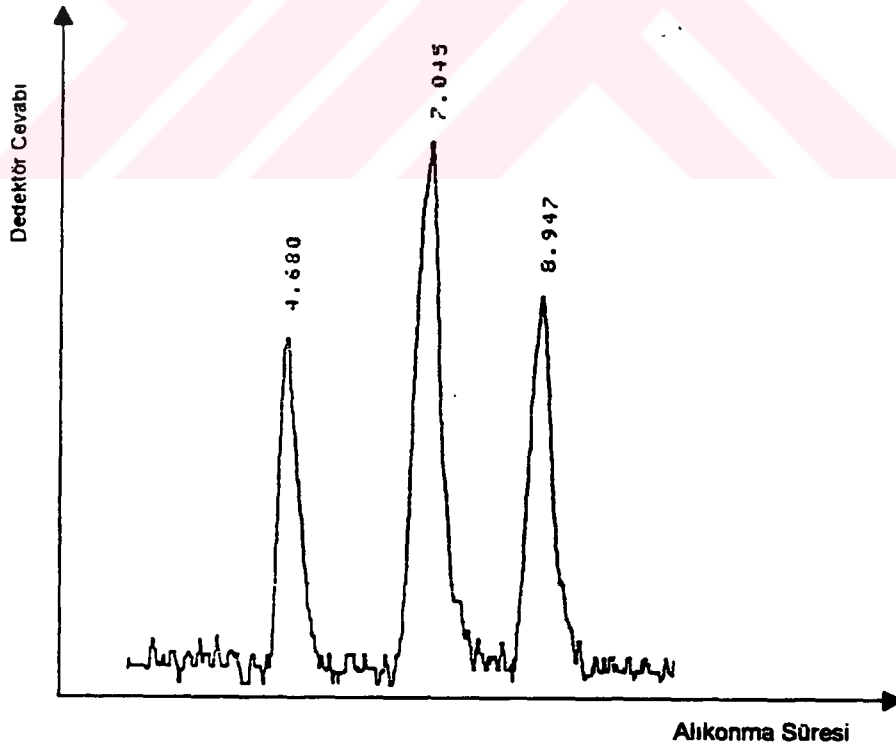
Asetat tamponu (0.dak % 100 → 10.dak %30 → 15.dak % 100)

Fosfat tamponu (0.dak % 0 → 10.dak % 70 → 15.dak % 0)

Enjeksiyon hacmi: 20 µL

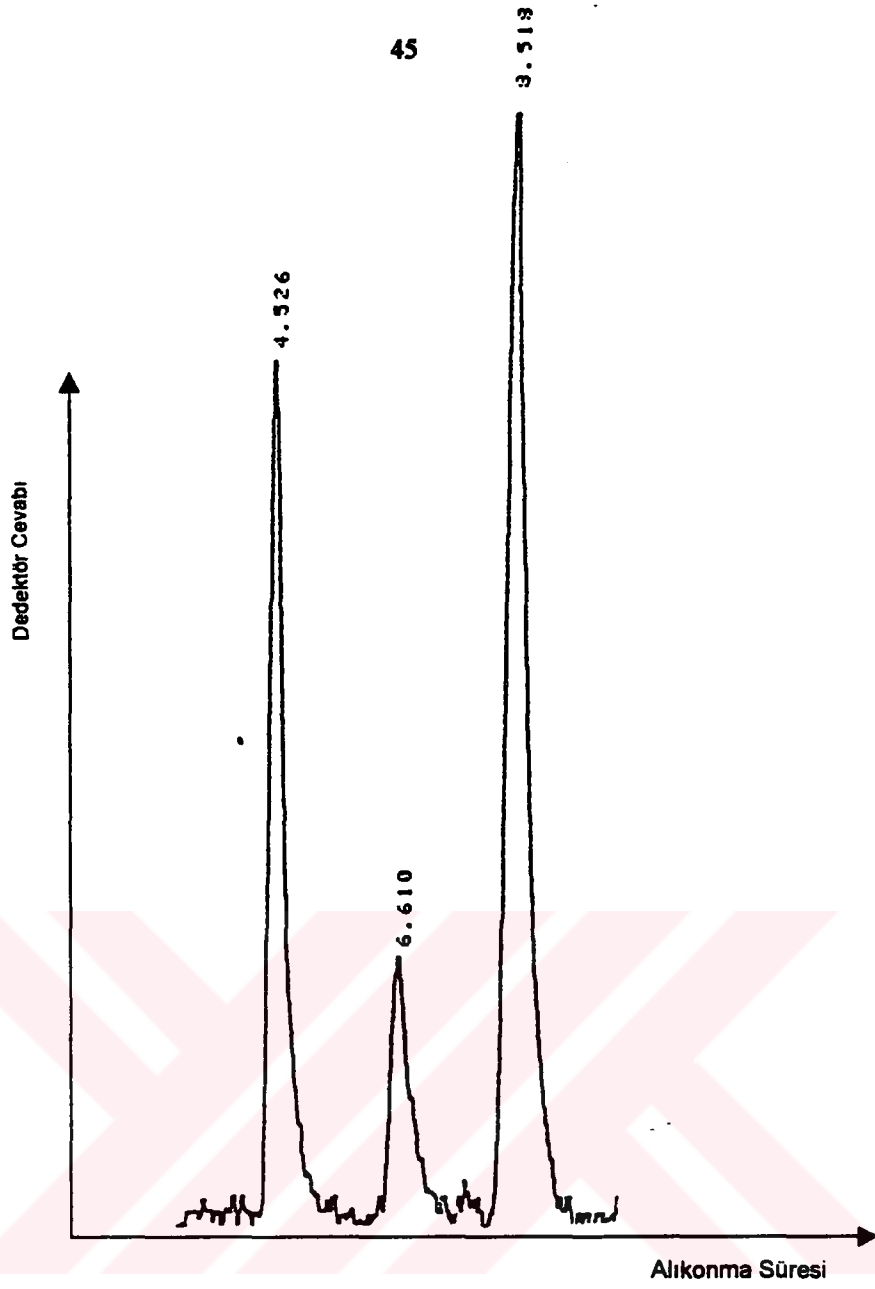
Detektör: Floresans $\lambda_{\text{excitation}} = 385 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{emission}} = 515 \text{ nm}$

Rt: Alıkonma Süresi



Şekil 12 : Standartlara Ait Kromatogram (a) Sistein, Rt: 4.680

(b) Homosistein, Rt: 7.045 (c) Sisteinilglisin, Rt: 8.947



Şekil 13 :Plazmaya Ait Kromatogram (a) Sistein, Rt: 4.526

(b) Homosistein, Rt: 6.610 (c) Sisteinilglisin, Rt: 8.518

III.5.1.6. Güniçi ve Günlerarası Tekrarlanabilirlik

Kullandığımız yöntemin güniçi ve günlerarası tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla, hazırlanmış olan üç farklı numune gün içinde farklı zamanlarda (Tablo 4) ve farklı günlerde (Tablo 5) enjekte edildiğinde güniçi tekrarlanabilirlik varyasyon katsayısı %1.35 ve günlerarası varyasyon katsayısı %6.63 olarak bulundu.

Tablo 4: Güniçi Tekrarlanabilirlik Çalışma Çizelgesi

Numuneler	Alan	Konsantrasyon	Ortalama	Standart Sapma
Plazma M.E.	19504	11.38	11.62	0.3394
	20947	11.86		
Plazma H.D.	19350	11.33	11.31	0.0282
	19218	11.29		
Plazma O.U	45952	20.11	19.96	0.2121
	45045	19.81		
Ortalama			14.29	0.1932
% CV			1.35	

Tablo 5 : Günlerarası Tekrarlanabilirlik Çalışma Çizelgesi

Numuneler	Alan	Konsantrasyon	Ortalama	Standart Sapma
Plazma Ş.Y.	52866	22.40	23,30	1.2800
	58360	24.21		
Plazma H.D.	19350	11.33	12.21	1.2516
	24717	13.10		
Plazma A.D.	27618	8.59	13.55	0.7212
	24620	7.67		
Ortalama			16.35	1.0843
% CV			6.63	

III.5.1.7. Yöntemin Verimliliği

Yöntemin verimliliğini belirlemek amacıyla üç farklı plazma içerisine 1:1 oranında 24.74 μM konsantrasyondaki standart çözeltilerden ilave edildi. Plazma, standart çözeltisi ve standart+plazma karışımı HPLC'ye uygulanarak konsantrasyonlar hesaplandıktan sonra verim hesabı yapıldı (Tablo 6).

Tablo 6: Yöntem Verim Hesabı Çizelgesi

Numuneler	Alan	Konsantrasyon μM	% verim
Standart	59961	24,74	
Plazma 1	24064	12.89	117
Plazma 1+standart	52153	22.16	
Plazma 2	32660	15.72	97
Plazma 2+standart	44980	19.79	
Plazma 3	20056	11,56	96
Plazma 3+standart	38015	17.49	
Ortalama verim			% 103

III.5.2. Folik Asit ve Vitamin B₁₂ Tayini

Folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri, Access Immunoassay Sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Yöntem kompetitif-immünoenzimatik bağlanma esasına dayanmaktadır. Folik asit ve vitamin B₁₂, bağlayıcı proteinlerinden ayrıldıktan sonra reaksiyon karışımı nötralize edilmektedir. Reaksiyon ortamına paramagnetik partiküller tutturulmuş fare anti-IgG, intrinsik faktör- ve folik asit-alkali fosfatazları ve

fare anti-intrinsik faktörü ile fare anti-folat bağlayıcı protein ilave edilir. Magnetik alanda ayırma işlemi ve yıkama işlemi sonucunda katı faza bağlı olmayan materyaller ayrılır. Ortama daha sonra kemilüminesans bileşik olan Lümi-Phos® 530 ilave edilerek oluşan ışık lüminometrede ölçülür. Foton üretimi folik asit ve vitamin B₁₂ konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

Folik asit ve vitamin B₁₂ normal aralığı aşağıdaki gibidir.

Vitamin B₁₂ : 180-914 pg/mL

Folik Asit : >3 ng/mL

III.5.3. Diğer Parametrelerin Tayini

Total kolesterol, trigliserit, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein, albumin ve kreatinin düzeyleri Technicon Dax 48 otoanalizörü ile çalışılmış VLDL düzeyleri ise Trigliserit/5 formülü ile hesaplanmıştır. Bu parametreler için normal kabul edilen referans sınırlar aşağıdaki gibidir:

Trigliserit : 50-170 mg/dL

Total kolesterol: 120-200 mg/dL

HDL-kolesterol: 36-60 mg/dL

LDL-kolesterol: 40-150 mg/dL

VLDL : 10-35 mg/dL

Total protein : 6-8.5 g/dL

Albumin : 3.5-5.5 g/dL

Kreatinin : 0.5-1.5 mg/dL

III.6. KULLANILAN İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ

İstatistiksel değerlendirme için tek yönlü varyans analizi ve t-testi uygulandı. Bu amaçla SPSS version 8. programı kullanıldı.



IV. BULGULAR

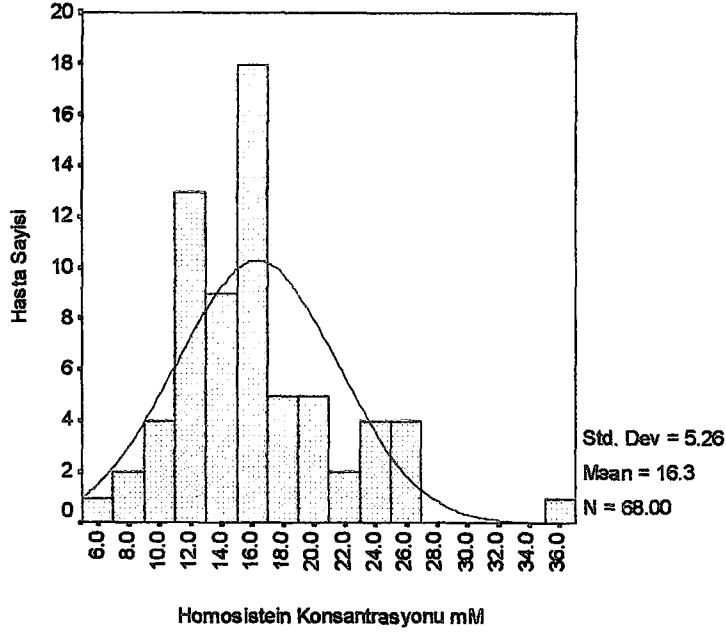
Çalışmamızda koroner kalp hastalığı bulunan, 68 kişiden oluşan hasta grubunun ve herhangi bir koroner kalp hastalığı ve aterosklerotik bulgusu bulunmayan 42 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunun plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ile serum folik asit, vitamin B₁₂, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, VLDL, trigliserit, total protein, albumin ve kreatinin düzeyleri ölçülmüş, tiyol bileşiklerini oluşturan homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeylerinde cinsiyet, yaş, menapoz, sigara ve alkol gibi parametrelere bağlı olarak meydana gelen değişiklikler incelenmiştir.

Folik asit ve vitamin B₁₂'nin homosistein metabolizmasında önemli kofaktörler olması ve homosistein düzeylerinin bu vitaminlerin düzeylerinde meydana gelen değişikliklerden etkilenmesi nedeniyle homosisteinin folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri ile olan korelasyonu ve ayrıca diğer parametrelerle olan korelasyonu incelenmiştir.

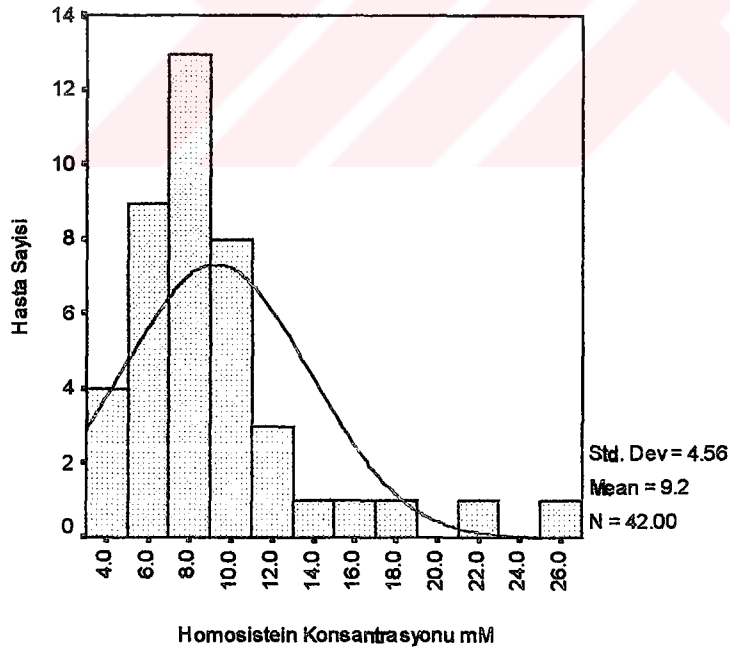
Genel olarak değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubu arasında total homosistein ve sistein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken ($p < 0.0001$), sisteinilglisin düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 7). Hasta ve kontrol grubu homosistein dağılımı şekil 14'te verilmiştir.

Tablo 7: Hasta ve Kontrol Grubunun Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HASTA	N	KONTROL	P
Homosistein (μM)	68	16.32 \pm 0.64	42	9.23 \pm 0.70	< 0.0001
Sistein (μM)	68	254.61 \pm 8.09	42	187.10 \pm 7.68	< 0.0001
Sisteinilglisin (μM)	68	30.52 \pm 1.14	42	28.34 \pm 1.88	> 0.05



HASTA



KONTROL

Şekil 14 :Hasta ve Kontrol Grubu Homosistein Dağılımı

Hasta ve kontrol gruplarının total homosistein düzeyleri incelendiğinde;

Cinsiyete göre yapılan istatistiksel değerlendirmede; erkek hastaların kontrollerine göre ve kadın hastaların kontrollerine göre anlamlı derecede daha yüksek plazma total homosistein düzeylerine sahip oldukları gözlemlendi ($p<0.0001$) (Tablo 8).

Yaşa göre yapılan değerlendirmede; 70 yaş ve üzerindeki hasta grubu ile kontrolü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0.05$), 50 yaşın altı ve 50-70 yaş arası hasta grupları ile kontrolleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.0001$) (Tablo 8).

Menapozal durumlarına göre kadın hastalarda yapılan değerlendirmede; premenapozlu kadın hastaların kontrollerine göre daha yüksek plazma total homosistein düzeylerine sahip oldukları ($p<0.05$), postmenapozlu hastaların ise kontrollerine göre daha yüksek homosistein düzeylerine sahip olmakla birlikte bu yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığı gözlemlendi ($p>0.05$) (Tablo 8).

Sigara kullanma durumuna göre yapılan istatistiksel değerlendirmede; halen sigara kullanan, sigarayı bırakmış ve sigara kullanmayan hasta gruplarının kontrollerine göre daha yüksek homosistein düzeylerine sahip oldukları, sigara kullanmayan hasta ve kontrol grubu homosistein düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığının ($p<0.001$) diğer gruplar arasındaki farkın anlamlılığından ($p<0.0001$) daha düşük olduğu gözlemlendi (Tablo 8).

Hasta grubunda alkol kullanan bireylerin bulunmaması nedeniyle, hasta ve kontrol grubu arasında alkol kullanma alışkanlığına göre total homosistein, sistein ve sisteinilgisin düzeyleri bakımında bir değerlendirme yapılamadı (Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10).

Tablo 8: Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Plazma Homosistein Düzeylerinin Karşılaştırılması.

		HOMOSİSTEİN ($\mu\text{mol/L}$)				
		X \pm S.H.				
		N	HASTA	N	KONTROL	P
CİNSİYET	Erkek	50	16.49 \pm 0.78	14	9.65 \pm 1.24	<0.0001
	Kadın	18	15.84 \pm 1.09	28	9.02 \pm 0.87	<0.0001
YAŞ	X < 50	15	14.49 \pm 1.30	19	7.97 \pm 0.69	<0.0001
	50 \leq x < 70	41	16.25 \pm 0.79	18	8.53 \pm 0.58	<0.0001
	X \geq 70	12	18.80 \pm 1.63	5	16.56 \pm 3.73	>0.05
MENAPOZAL DURUM	Premenapoz	2	11.89 \pm 0.47	19	7.48 \pm 0.49	<0.05
	Postmenapoz	16	16.33 \pm 1.17	9	12.28 \pm 2.18	>0.05
SİGARA İÇME DURUMU	İçmiyor	24	16.31 \pm 0.92	15	10.40 \pm 1.56	<0.001
	Bırakmış	19	16.57 \pm 1.21	9	9.67 \pm 0.57	<0.0001
	İçiyor	25	16.13 \pm 1.21	18	8.04 \pm 0.93	<0.0001
ALKOL İÇME DURUMU	İçmiyor	68	16.32 \pm 0.64	34	9.54 \pm 0.85	<0.0001
	İçiyor	-	-	8	7.93 \pm 0.52	-

Hasta ve kontrol gruplarının total sistein düzeyleri incelendiğinde;

Cinsiyete göre yapılan istatistiksel değerlendirmede; erkek hastaların kontrollerine göre ($p < 0.001$) ve kadın hastaların kontrollerine göre ($p = < 0.0001$) anlamlı derecede daha yüksek plazma total sistein düzeylerine sahip oldukları gözlemlendi (Tablo 9).

Yaşa göre yapılan değerlendirmede; 70 yaş ve üzerindeki hasta grubu ile kontrolü arasında ortalama sistein değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p > 0.05$), 50 yaşın altı ve 50-70 yaş arası hasta grupları ile kontrolleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.0001$) (Tablo 9).

Menapozal durumlarına göre kadın hastalarda yapılan değerlendirmede; premenapozlu ve postmenapozlu hasta grupları ile kontrolleri arasında total sistein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 9).

Sigara kullanma durumuna göre yapılan istatistiksel değerlendirmede; halen sigara kullanan, sigarayı bırakmış ve sigara kullanmayan hasta grupları ile kontrolleri arasında total plazma sistein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (sırasıyla $p<0.0001$, $p<0.05$, $p<0.01$) (Tablo 9).

Tablo 9: Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Plazma Sistein Düzeylerinin Karşılaştırılması.

		SİSTEİN ($\mu\text{mol/L}$)				
		X \pm S.H.				
		N	HASTA	N	KONTROL	P
CİNSİYET	Erkek	50	246.96 \pm 8.08	14	193.32 \pm 9.46	<0.001
	Kadın	18	275.86 \pm 20.37	28	183.99 \pm 10.57	<0.0001
YAŞ	X < 50	15	247.93 \pm 17.51	19	182.91 \pm 9.58	<0.01
	50 \leq x < 70	41	244.84 \pm 9.74	18	170.17 \pm 8.46	<0.0001
	X \geq 70	12	296.36 \pm 19.89	5	263.98 \pm 25.67	>0.05
MENAPOZAL DURUM	Premenapoz	2	190.06 \pm 17.06	19	162.21 \pm 8.61	>0.05
	Postmenapoz	16	286.59 \pm 21.39	9	229.97 \pm 20.76	>0.05
SİGARA İÇME DURUMU	İçmiyor	24	260.26 \pm 16.86	15	193.13 \pm 16.16	<0.01
	Bırakmış	19	254.36 \pm 14.56	9	177.39 \pm 11.86	<0.05
	İçiyor	25	249.38 \pm 10.57	18	186.94 \pm 10.72	<0.0001
ALKOL İÇME DURUMU	İçmiyor	68	254.61 \pm 8.09	34	182.39 \pm 8.67	<0.0001
	İçiyor	-	-	8	207.14 \pm 15.37	-

Hasta ve kontrol gruplarının total sistein ilgisin düzeyleri cinsiyet, yaş, menapozal durum, sigara ve alkol kullanma alışkanlığına göre değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 10).

Tablo 10: Hasta ve Kontrol Grubuna Ait Plazma Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

		SISTEİNİLGİSİN ($\mu\text{mol/L}$)				
		X \pm S.H.				
		N	HASTA	N	KONTROL	P
CİNSİYET	Erkek	50	30.83 \pm 1.36	14	28.12 \pm 1.60	>0.05
	Kadın	18	29.65 \pm 2.11	28	28.45 \pm 2.72	>0.05
YAŞ	X < 50	15	28.06 \pm 1.83	19	28.81 \pm 1.83	>0.05
	50 \leq x < 70	41	30.24 \pm 1.49	18	28.01 \pm 4.00	>0.05
	X \geq 70	12	34.55 \pm 3.08	5	27.75 \pm 0.48	>0.05
MENAPOZAL DURUM	Premenapoz	2	21.68 \pm 1.58	19	25.79 \pm 1.78	>0.05
	Postmenapoz	16	30.64 \pm 2.25	9	34.06 \pm 7.54	>0.05
SİGARA İÇME DURUMU	İçmiyor	24	30.16 \pm 1.98	15	32.08 \pm 4.87	>0.05
	Bırakmış	19	29.95 \pm 2.42	9	24.97 \pm 1.63	>0.05
	İçiyor	25	31.30 \pm 1.68	18	26.91 \pm 1.33	>0.05
ALKOL İÇME DURUMU	İçmiyor	68	30.52 \pm 1.14	34	28.75 \pm 2.31	>0.05
	İçiyor	-	-	8	26.60 \pm 1.07	-

Hastalarda cinsiyete göre yapılan değerlendirmede; kadın hastaların erkek hastalara kıyasla daha düşük plazma total homosistein ve sisteinilglisin ve daha yüksek plazma total sistein düzeylerine sahip olduğu, ancak kadın ve erkek hastalar arasındaki bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi (Tablo 11).

Kontrollerde cinsiyete göre yapılan değerlendirmede; kadın hastaların erkek hastalara kıyasla daha düşük plazma total homosistein ve sistein ve benzer sisteinilglisin düzeylerine sahip olduğu, ancak kadın ve erkek hastalar arasındaki bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi (Tablo 12).

Tablo 11:Hastalarda Cinsiyete Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X ± S.H.
Kadın	18	15.84±1.09	275.86±20.37	29.65±2.11
Erkek	50	16.49±0.78	246.96±8.07	30.83±1.36
P		P > 0.05	P> 0.05	P > 0.05

Tablo 12: Kontrollerde Cinsiyete Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X ± S.H.
Kadın	28	9.02±0.87	183.99±10.57	28.45±2.72
Erkek	14	9.65±1.24	193.32±9.46	28.12±1.60
P		P>0.05	P>0.05	P>0.05

Hastalarda yaşa göre yapılan değerlendirmede; total homosistein düzeyleri bakımından 50 yaşın altındaki hasta grubu ile 70 yaşın üzerindeki hasta grubu arasında ($p<0.05$), total sistein düzeyleri bakımından 50-70 yaş grubu ile 70 yaşın üzerindeki hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken ($p<0.05$), sisteinilglisin düzeyleri bakımından yaş grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 13).

Kontrollerde yaşa göre yapılan değerlendirmede; total homosistein düzeyleri bakımından 50-70 yaş grubu ile 70 yaşın üzerindeki hasta grubu arasında ($p<0.001$), total sistein düzeyleri bakımından ise 50 yaşın altındaki hasta grubu ile 70 yaşın üzerindeki hasta grubu ve 50-70 yaş grubu ile 70 yaşın üzerindeki hasta grubu arasında istatistiksel olarak

anlamli bir fark bulundu ($p < 0.01$). Sisteinilglisin düzeyleri bakımından yaş grupları arasında anlamli bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 14).

Tablo 13:Hastalarda Yaşa Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X \pm S.H.
X < 50	15	14.49 \pm 1.30*	247.93 \pm 17.51	28.06 \pm 1.83
50 \leq x < 70	41	16.25 \pm 0.79	244.84 \pm 9.74*	30.24 \pm 1.49
X \geq 70	12	18.80 \pm 1.63	296.36 \pm 19.89	34.55 \pm 3.08
P		* X \geq 70 ile karşılaştırıldığında P<0.05	* X \geq 70 ile karşılaştırıldığında P<0.05	P> 0.05

Tablo 14:Kontrollerde Yaşa Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X \pm S.H.
X < 50	19	7.97 \pm 0.69	182.91 \pm 9.58*	28.81 \pm 1.83
50 \leq x < 70	18	8.53 \pm 0.58*	170.17 \pm 8.46*	28.01 \pm 4.00
X \geq 70	5	16.56 \pm 3.73	263.98 \pm 25.67	27.75 \pm 0.48
P		* X \geq 70 ile karşılaştırıldığında P<0.001	* X \geq 70 ile karşılaştırıldığında P<0.01	P>0.05

Hasta kadınlarda menapozal duruma göre yapılan değerlendirmede; premenapozlu hastalar ile postmenapozlu hastalar arasında homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamli bir fark gözlenmedi (Tablo 15).

Kontrol grubunda yer alan kadınlar menapozal durumlarına göre değerlendirildiğinde; premenapozal kadınlar ile postmenapozal kadınlar arasında total homosistein ve sistein düzeyleri bakımında anlamlı bir fark olduğu, premenapozlu kadınların postmenapozlu kadınlardan daha düşük homosistein ve sistein düzeylerine sahip olduğu görüldü ($p < 0.01$). Bu iki grup arasında sisteinilglisin bakımından anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 16).

Tablo 15: Hastalarda Menapozal Duruma Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİNİGLİSİN (μM) X \pm S.H.
Premanapoz	2	11.89 \pm 0.47	190.06 \pm 17.06	21.68 \pm 1.58
Postmenapoz	16	16.33 \pm 1.17	286.59 \pm 21.39	30.64 \pm 2.25
P		P>0.05	P>0.05	P>0.05

Tablo 16: Kontrollerde Menapozal Duruma Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİN (μM) X \pm S.H.	SİSTEİNİGLİSİN (μM) X \pm S.H.
Premanapoz	19	7.48 \pm 0.49	162.21 \pm 8.61	25.79 \pm 1.78
Postmenapoz	9	12.28 \pm 2.18	229.97 \pm 20.76	34.06 \pm 7.54
P		P<0.01	P<0.01	P>0.05

Sigara kullanma alışkanlığına göre değerlendirme yapıldığında; halen sigara kullanan, kullanmayan ve sigarayı bırakmış kişiler arasında hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 17, 18).

Tablo 17: Hastalarda Sigara Kullanımına Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X ± S.H.
İçmiyor	24	16.31±0.92	260.26±16.86	30.16±1.98
Bırakmış	19	16.57±1.21	254.36±14.56	29.95±2.42
İçiyor	25	16.13±1.21	249.38±10.57	31.30±1.68
P		P>0.05	P>0.05	P>0.05

Tablo 18: Kontrollerde Sigara Kullanımına Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X ± S.H.
İçmiyor	15	10.40±1.56	193.13±16.16	32.08±4.87
Bırakmış	9	9.67±0.57	177.39±11.86	24.97±1.63
İçiyor	18	8.04±0.93	186.94±10.72	26.91±1.33
P		P>0.05	P>0.05	P>0.05

Hastalarda alkol kullanımına göre plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeylerinin karşılaştırılması, hastalarda alkol kullanan olmaması nedeniyle yapılamadı.

Kontrol grubu alkol kullanma alışkanlığına göre değerlendirildiğinde, alkol kullanan ve kullanmayan gruplar arasında plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo19).

Tablo 19:Kontrollerde Alkol Kullanımına Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X ± S.H.
İçiyor	8	7.93±0.52	207.14±15.37	26.60±1.07
İçmiyor	34	9.54±0.86	182.39±8.67	28.75±2.31
P		P>0.05	P>0.05	P>0.05

Hasta grubunda plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri hastalığın tipine göre değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı, ancak en yüksek homosistein ve sistein değerlerinin kararlı anjina grubunda olduğu gözlemlendi (Tablo 20).

Tablo 20:Hastalarda Koroner Arter Hastalığı Tipine Göre Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HOMOSİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİN (μM) X ± S.H.	SİSTEİNİLGLİSİN (μM) X ± S.H.
Myokard Enfarktüsü	35	16.55±1.06	258.12±11.60	29.86±1.63
Kararlı Angina	7	18.42±1.87	265.84±18.61	30.64±3.72
Kararsız Angina	11	14.80±0.86	227.18±16.82	29.07±2.55
Diğerleri	15	15.90±1.01	261.29±19.73	33.06±2.46
P		P>0.05	P>0.05	P>0.05

Hasta ve kontrol grubu serum folik asit ve vitamin B₁₂ düzeylerine göre değerlendirildiğinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 21).

Tablo 21:Hasta ve Kontrol Grubunda Serum Folik Asit ve Vitamin B₁₂ Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HASTA X ± S.H.	N	KONTROL X ± S.H.	P
Vitamin B ₁₂ pg/mL	68	221.84±14.53	42	249.12±19.29	>0.05
Folik Asit ng/mL	68	7.54±0.45	42	7.71±0.36	>0.05

Hasta grubu plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ile serum folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri arasındaki korelasyon incelendiğinde; bu bileşikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı (Tablo 22).

Tablo 22:Hasta Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin ile Vitamin B₁₂ ve Folik Asit Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.

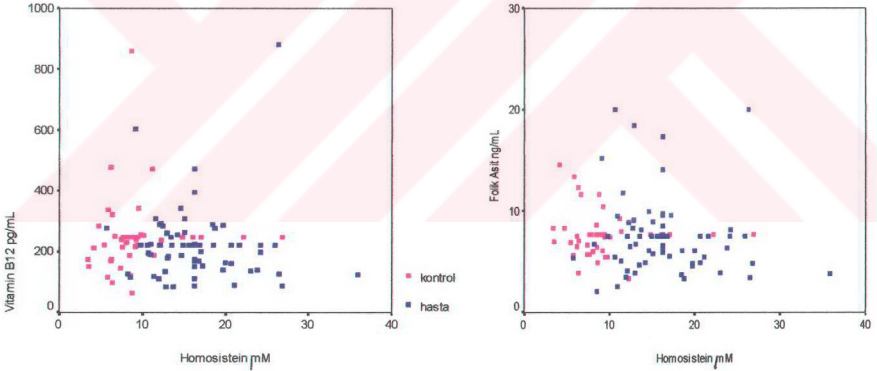
N=68	HOMOSİSTEİN (μM)	SİSTEİN (μM)	SİSTEİNİLGİSİN (μM)
Folik Asit ng/mL	0.104, 0.40	0.01, 0.94	0.12, 0.31
VitaminB ₁₂ pg/mL	0.021, 0.86	0.06, 0.64	0.06, 0.62

Kontrol grubu plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ile serum folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri arasındaki korelasyon incelendiğinde; bu bileşikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı (Tablo 23).

Hasta ve kontrol grubu homosistein düzeyleri ile folik asit ve vitamin B₁₂ arasındaki korelasyona ilişkin dağılım şekil 15'de verilmiştir.

Tablo 23: Kontrol Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin ile Vitamin B₁₂ ve Folik Asit Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.

N=42	HOMOSİSTEİN (μM)	SİSTEİN (μM)	SİSTEİNİGLİSİN (μM)
Folik Asit ng/mL	0.120, 0.45	0.16, 0.30	0.05, 0.76
VitaminB ₁₂ pg/mL	0.073, 0.64	0.28, 0.067	0.06, 0.70



Şekil 15 :Hasta Grubu Homosistein Düzeyleri ile Folik Asit (a) ve Vitamin B₁₂ (b) Arasındaki Korelasyon

Hastalar normal plazma değerlerinin altında ve normal plazma değerlerinde folik asit ve vitamin B₁₂ düzeylerine sahip gruplara ayrılarak, bu gruplar plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında; vitamin B₁₂

düzeyleri düşük ve normal olan hasta grupları arasında sistein ve sisteinilglisin düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 24).

Tablo 24 :Normal Düzeyinin Altında ve Normal Folik Asit ile Vitamin B₁₂ Değerlerine Sahip Hasta Gruplarının Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması

	HOMOSİSTEİN μM		SİSTEİN μM		SİSTEİNİLGİSİN μM	
Hasta Folik Asit ≤ 3 ng/mL (n=2)	9.84 \pm 1.21	P>0.05	265.74 \pm 65.17	P>0.05	29.24 \pm 4.03	P>0.05
Hasta Folik Asit > 3 ng/mL (n=66)	16.51 \pm 0.64		254.27 \pm 8.21		30.56 \pm 1.68	
Hasta Vitamin B ₁₂ ≤ 180 pg/mL (n=24)	17.77 \pm 1.30	P>0.05	277.70 \pm 11.78	P<0.05	34.24 \pm 2.32	P<0.05
Hasta Vitamin B ₁₂ > 180 pg/mL (n=44)	15.52 \pm 0.67		242.02 \pm 10.32		28.49 \pm 1.13	

Kontrol grubunda normalin altında folik asit düzeyine sahip kişi bulunmaması nedeniyle değerlendirme yapılamadı.

Kontrol grubunda vitamin B₁₂ düzeyleri düşük olan kişiler ile normal olan kişiler karşılaştırıldığında sadece homosistein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 25).

Tablo 25:Normal Düzeyinin Altında ve Normal Vitamin B₁₂ Değerlerine Sahip Kontrol Grubunun Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	HOMOSİSTEİN μM		SİSTEİN μM		SİSTEİNİLGİSİN μM	
Kontrol Vitamin B ₁₂ ≤ 180 pg/mL (n=9)	6.32 \pm 0.63	P<0.05	167.33 \pm 12.98	P>0.05	24.64 \pm 1.47	P>0.05
Kontrol Vitamin B ₁₂ > 180 pg/mL (n=33)	10.03 \pm 0.83		192.50 \pm 8.97		29.35 \pm 2.33	

Homosistein, sistein ve sisteinilglisin birbirleri ile olan korelasyonu incelendiğinde;

Hastalarda homosistein düzeyleri ile sistein ($r=0.53$, $p=0.0001$), sisteinilglisin düzeyleri arasında ($r=0.49$, $p=0.0001$) ve sistein düzeyleri ile sisteinilglisin düzeyleri arasında ($r=0.44$ $p=0.0.002$) anlamlı bir pozitif bir korelasyonun olduğu görüldü (Tablo 26).

Kontrollerde ise sadece homosistein düzeyleri ile sistein ($r=0.56$, $p=0.0001$), düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyonun olduğu görüldü (Tablo 26).

Tablo 26:Hasta ve Kontrol Grubunda Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.

Hasta

N=68	SISTEIN		SISTEİNİLGİSİN	
SISTEİNİLGİSİN	0.44	0.0002	0.49	0.0001
HOMOSİSTEİN	0.53	0.0001	0.44	0.0002

Kontrol

N=42	SISTEIN		SISTEİNİLGİSİN	
SISTEİNİLGİSİN	0.01	0.93	0.21	0.17
HOMOSİSTEİN	0.56	0.0001	0.01	0.93

Hasta ve kontrol gruplarında diğer parametreler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde;

Hasta grubu trigliserit ve VLDL düzeyleri, normal serum düzeylerinin üzerinde olup kontrol grubu düzeylerine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.0001$); HDL-kolesterol düzeyleri normal sınırlar içerisinde bulunmakla birlikte kontrollere oranla anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p<0.0001$); LDL-kolesterol düzeyleri ve total kolesterol

düzeyleri bakımından hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 27).

Hasta grubu total protein ve albumin düzeyleri normal sınırlar içerisinde olup kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunurken, kreatinin düzeyleri de normal sınırlar içerisinde olup kontrollere oranla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.0001$) (Tablo 27).

Tablo 27:Hasta ve Kontrol Grubunda Lipid Parametreleri, Total Protein, Albumin ve Kreatinin Düzeylerinin Karşılaştırılması.

	N	HASTA X ± S.H.	N	KONTROL X ± S.H.	P
Trigliserit mg/dL	68	189.59±11.54	42	127.62±9.08	<0.0001
T.Kolesterol mg/dL	68	203.01±5.53	42	203.88±6.35	>0.05
HDL-Kolesterol	68	37.98±1.16	42	46.21±1.52	<0.0001
LDL-Kolesterol	68	124.74±4.73	42	133.07±5.68	>0.05
VLDL-Kolesterol	68	37.94±2.31	42	25.54±1.82	<0.0001
Total Protein	68	6.73±0.08	42	7.16±0.07	<0.0001
Albumin	68	4.02±0.06	42	4.56±0.05	<0.0001
Kreatinin	68	1.08±0.03	42	0.87±0.02	<0.0001

Hasta grubunda total tiyol bileşikleri ile lipid parametreleri arasındaki korelasyon incelendiğinde; HDL-kolesterol ile homosistein arasında anlamlı ($r=0.30$, $p=0.01$), total kolesterol ($r=0.28$, $p=0.02$) ve HDL-kolesterol ($r=0.29$, $p=0.02$) ile sisteinilglisin arasında anlamlı ve total protein ile sisteinilglisin arasında da anlamlı ($r=0.29$, $p=0.01$) bir korelasyon olduğu gözlemlendi (Tablo 28).

Kontrol grubunda yapılan değerlendirmelerde; albumin ile homosistein ($r=0.47$, $p=0.001$) ve sisteinilglisin ($r=0.33$, $p=0.03$) arasında anlamlı bir korelasyon olduğu gözlemlendi (Tablo 29).

Tablo 28:Hasta Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin ile Lipid Parametreleri, Total Protein, Albumin ve Kreatinin Düzeyleri Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.

N=68	HOMOSİSTEİN (µM)		SİSTEİN (µM)		SİSTEİNİLGLİSİN (µM)	
	0.05	0.70	0.13	0.27	0.06	0.65
Trigliserit mg/dL	0.12	0.33	0.02	0.87	0.28	0.02
T.Kolesterol mg/dL	0.30	0.01	0.03	0.78	0.29	0.02
HDL-Kolesterol mg/dL	0.07	0.55	0.06	0.61	0.23	0.06
LDL-Kolesterol mg/dL	0.04	0.72	0.13	0.29	0.05	0.67
VLDL-Kolesterol mg/dL	0.13	0.27	0.09	0.44	0.29	0.01
Total Protein g/dL	0.15	0.22	0.05	0.71	0.18	0.13
Albumin g/dL	0.10	0.43	0.06	0.62	0.02	0.86
Kreatinin mg/dL						

Tablo 29: Kontrol Grubunda Plazma Homosistein, Sistein ve Sisteinilglisin ile Lipid Parametreleri, Total Protein, Albumin ve Kreatinin Düzeyleri Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi. İlk Değer Korelasyon Katsayısını (r), İkinci Değer Olasılığı (p) Göstermektedir.

N=42	HOMOSİSTEİN (µM)		SİSTEİN (µM)		SİSTEİNİLGLİSİN (µM)	
	0.03	0.86	0.09	0.55	0.09	0.53
Trigliserit mg/dL	0.09	0.55	0.11	0.50	0.06	0.71
T.Kolesterol mg/dL	0.10	0.55	0.08	0.60	0.22	0.17
HDL-Kolesterol mg/dL	0.10	0.52	0.10	0.54	0.09	0.58
LDL-Kolesterol mg/dL	0.03	0.86	0.10	0.55	0.10	0.53
VLDL-Kolesterol mg/dL	0.23	0.15	0.13	0.40	0.07	0.67
Total Protein g/dL	0.47	0.001	0.25	0.11	0.33	0.03
Albumin g/dL	0.08	0.60	0.06	0.68	0.04	0.78
Kreatinin mg/dL						

V.TARTIŞMA VE SONUÇ

Homosistein, 1932 yılında DeVigneaud tarafından metiyoninin demetilasyon ürünü olarak bulunmuş ve bunu izleyen yıllarda transsülfürasyon yolağında homosisteinin rolüyle ilgili çalışmalar devam etmiştir. Kısa bir süre sonra homosisteinin, sistein, metiyonin veya kolin içermeyen diyetle beslenen hayvanların büyümesinde etkili olduğu ve büyümeyi desteklediği bulunmuştur¹⁰. 1962-1964 yılları arasında mental geriliği olan infantlarda homosistinüri tespit edilmiş, devam eden çalışmalarda ise homosistinüriye neden olan defektler aydınlatılmıştır. 1969 yılında McCully hiperhomosisteinemi, sistatyoninüri ve metilmalonik asidürisi bulunan bir ölü infantın, daha sonraki yıllarda sistatyonin β -sentaz eksikliği bulunan hastalarda da gösterilen, arteryal lezyonlar sergilediğini bildirmiştir¹⁰¹. Homosistinürinin tanımlanmasından sonraki 20 yılda araştırmacılar homosistein metabolizmasındaki düzensizliklerin kardiyovasküler hastalıklarda önemli olabileceği hipotezi üzerinde çalışmışlar ancak bu hipotez 90'lı yıllarda önem kazanmış ve bu tarihlerden sonra araştırmalar yoğunlaşmıştır¹⁰².

İlk yıllar fizyolojik şartlarda insan plazma ve dokularında homosisteinin bulunmadığı kabul edilirken, 80'li yıllardan sonra kullanılan tekniklerdeki gelişmelere bağlı olarak fizyolojik şartlarda homosistein tayini mümkün olmuştur. Geleneksel amino asit analizörlerinin normal plazmada bulunan çok küçük miktardaki homosisteini tespit etmedeki yetersizliği nedeniyle ateroskleroz ve plazma homosistein düzeyleri arasındaki ilişkiyle ilgili ilk çalışmalar metiyonin yükleme testlerine dayanmaktadır. Bu testlerde kişilere yüksek miktarlarda metiyonin verilerek homosistein konsantrasyonunun tespit edilebilir düzeylere çıkması sağlanmaktadır. Homosistein düzeylerinde meydana gelen artış derecesi de normal ve anormal bireylerde değişiklik göstermektedir¹⁰.

Total plazma homosistein düzeylerinin çok daha hassas HPLC metoduyla ölçümü; normal düzeylerin anormal düzeylerden herhangi bir yükleme veya tolerans testine ihtiyaç duymaksızın ayrılmasına imkan sağlamaktadır. Bu da homosistein tayininin hem klinik araştırmalarda hem de rutin uygulamalarda kullanılabilmesi yönündeki araştırmaları hızlandırmıřtır³.

Homosistein, diyetSEL protein kaynaklı metiyoninin metabolizması sırasında meydana gelen sülfür içeren bir amino asittir. Bir defa sentezlendikten sonra homosistein, ya metil donörü olarak metilen tetrahidrofolatı ve esansiyel kofaktör olarak kobalamini kullanan metiyonin sentaz enzimi veya minör remetilasyon mekanizması olan, metil donörü olarak betaini kullanan betain-homosistein metiltransferaz enzimi ile metiyonine yeniden remetile olmakta, ya da sistein sentezine ihtiyaç duyulduğunda veya aşırı metiyonin varlığında transsülfürasyon yolağına girmektedir. Transsülfürasyon yolağında ise homosistein önce serinle sistatyonin oluşturmak üzere kondanse olmakta, bu reaksiyon pridoksal 5'-fosfat bağımlı bir enzim olan sistatyonin β-sentaz ile katalizlenmektedir. Oluşan sistatyonin ise pridoksal 5'-fosfat bağımlı bir reaksiyonla sistein ve α-keto bütürata hidroliz olmaktadır. Bu iki yolak, plazma homosistein konsantrasyonlarının belirleyicisi olan metabolik yolaktır. Folik asit, vitamin B₁₂ ve B₆ bu metabolik yollardaki enzimler için gerekli kofaktörler olmaları nedeniyle homosistein metabolizmasında önem kazanmaktadır⁵¹.

Transsülfürasyon yolağı sonucunda oluşan sistein inorganik sülfata dönüşebildiğı gibi glutatyon prokürsörü olarak da kullanılmaktadır. Glutatyon ise başlıca hücre membranlarının dış yüzeyinde lokalize olan ve plazmada bulunan γ-glutamiltanspeptidaz enziminin katalizlediğı reaksiyonla yıkılmakta ve sisteinilglisin

açığa çıkmaktadır. Bu nedenle bu tiyol bileşikleri metabolik olarak birbirleriyle ilişkili bileşiklerdir³⁴.

Homosistein ile ilgili yapılan prospektif çalışmalar sonuçları bakımından değişkenlik göstermektedir. Bazı çalışmalar homosisteinin vasküler hastalıklar üzerinde genel olarak pozitif fakat nispeten zayıf bir etkisinin olduğunu gösterirken^{41,103,104}, bazıları bir etkisinin olmadığı yönündedir^{105,106}. Orta derecede hiperhomosisteinemiye neden olduğu bilinen iki genetik faktörün vasküler hastalık riskindeki artışla ilişkili olmadığı bildirilmektedir. Bu iki genetik faktörden yaklaşık olarak 1:70 sıklıkla görülen heterozigot sistatyonin β -sentaz eksikliğinin¹⁰⁷ ve benzer şekilde plazma total homosistein konsantrasyonlarını %25 artırdığı bilinen homozigot metilen tetrahidrofolat redüktaz C677T mutasyonunun koroner arter hastalığı riski ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir^{108,109}. Bu bulgular, hafif homosisteineminin vasküler hastalıklarla nedensel bir ilişkisinin olmayacağı veya yüksek total homosistein düzeylerinin sadece diğer geleneksel risk faktörleriyle birleştiğinde kardiyovasküler risk oluşturduğu görüşünü doğurmuştur.

Yapılan hasta-kontrol çalışmaları ise orta düzeyde hiperhomosisteineminin koroner, serebral ve periferik vasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğunu bildirmektedir. Boushey ve arkadaşları prospektif ve retrospektif çalışmalar üzerinde yaptıkları analizler sonucunda hiperhomosisteinemi ve koroner arter hastalıkları arasında güçlü bir ilişki olduğunu desteklemiştir. Bu analiz sonucunda total homosistein konsantrasyonundaki 5 $\mu\text{mol/L}$ 'lik bir artışın koroner arter hastalığı riskini kadınlarda %80, erkeklerde ise %60 artırdığı ve bunun 0.5 mmol/L'lik kolesterol artış riskine eşdeğer olduğu bildirilmektedir¹¹⁰.

Homosistein hipotezi ve homosisteinle indüklenen vasküler hasarın muhtemel mekanizmaları hala tartışmalıdır. Total homosisteinin vasküler hasarı indüklediği varsayılan muhtemel mekanizmalar; endotel disfonksiyonu, düz kas

hücre proliferasyonu, ekstrasellüler matris modifikasyonu, lipoprotein oksidasyonu, sitotoksinite ve koagülasyon ile plateletler üzerine olan etkileridir¹¹¹. Homosisteinin endotelial hücrelere direkt olarak zarar verdiği ve düz kas hücre proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir¹¹². Ayrıca homosisteinin tüm etkilerinin olmasa da bir kısmının endotel aracılı olduğu ve daha spesifik olarak homosisteinin nitrik oksit salınım ve aktivitesini etkilediği yönünde bulgular mevcuttur⁹⁷.

Seçilen popülasyona ve uygulanan metoda göre farklılık göstermesi nedeniyle, normal açlık total homosistein düzeyleri ile ilgili kesin bir değer bulunmamaktadır ancak ilerleyen tekniklere paralel olarak son yıllarda yapılan çalışmalar baz alındığında, yetişkinler için normal total homosistein konsantrasyon aralığı serumda 13-18 $\mu\text{mol/L}$, plazmada 10-15 $\mu\text{mol/L}$ olarak bildirilmektedir^{13,102,113,114}.

Tayvan'da 192 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada 60 yaşın üzerinde, erkek, diyabetik, hiperkolesterolemik, sigara içen ve 10.1 $\mu\text{mol/L}$ 'den daha yüksek homosistein düzeylerine sahip olmanın koroner arter hastalıkları için bir risk teşkil ettiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada total homosistein konsantrasyonlarına göre hastalar gruplara ayrılarak değerlendirildiğinde 14 $\mu\text{mol/L}$ 'den yüksek ve 10.1-13.9 $\mu\text{mol/L}$ arasındaki homosistein gruplarının 7.9 $\mu\text{mol/L}$ 'den daha düşük homosistein düzeyine sahip gruba kıyasla sırasıyla 4.0 ve 3.2 kez daha yüksek koroner kalp hastalığı riski taşıdıkları bildirilmektedir. Yine aynı çalışmada hiperhomosisteinemi, aterosklerozun şiddeti ve yaygınlığı ile ilişkili bulunmuştur¹¹⁵.

Çalışmamızda hasta grubu plazma total homosistein düzeyleri, bildirilen normal sınırların üzerinde ve 16.32 \pm 0.64 $\mu\text{mol/L}$ olarak saptanmış ve kontrol grubu total homosistein düzeyleri (9.23 \pm 0.70) ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.0001) (Tablo 7). Bu bulgu koroner arter

hastalığı bulunan kişilerin daha yüksek homosistein düzeylerine sahip olduğunu bildiren çalışmalar ile uyumludur^{41,115-117}.

İnsan plazmasındaki majör aminotiyol bileşikleri homosistein (~10µM), sistein (~240µM) ve sisteinilglisindir (~30 µM). Bu bileşikler plazmada okside, redükte ve majör olarak da proteine bağlı formda bulunmaktadır. Homosistein konsantrasyonundaki artış, sistein ve sisteinilglisin gibi plazmadaki diğer tiyol bileşiklerinin redoks düzeylerini ve proteine bağlanmalarını etkileyebilmektedir. Plazma aminotiyol bileşiklerinin redoks düzeylerindeki değişiklikler, proteinlerin ve enzimlerin sülfidril rezidülerini etkileyebilir ve bunların fonksiyonlarını değiştirebilir^{33,35}.

Orta derecedeki hiperhomosisteineminin aterosklerotik risk artışıyla ilişkili olduğu yönündeki çalışmaların artmasına karşın potansiyel vasküler toksisiteye sahip olan diğer tiyol bileşikleri ile ilgili sınırlı bilgi mevcuttur. Daha az reaktif olmasına karşın sistein, molekül yapısındaki sülfidril grubundan dolayı homosisteinin bazı kimyasal özelliklerini paylaşmaktadır. Sistein, yeterli redoks düzeylerinin sağlanması için tiyol/disülfid değişiminde ekstraselüler regülatuvar bir faktördür. Bu bileşiğin total düzeylerindeki artışın, çevresel faktörlere bağlı olarak zararlı olması muhtemeldir. Sisteinin in vitro sitotoksik olduğu ve kültürdeki insan endotelial hücrelerinin yapışmasını ilerlettiği bildirilmiştir¹¹⁸. Ayrıca sistein metal iyonları varlığında otooksidasyona uğrayarak serbest radikal ve H₂O₂ oluşturabilmektedir^{119,120}. Sisteinin, süperoksit bağımlı LDL modifikasyonunu ve böylece köpük hücre oluşumunu indüklemesi nedeniyle^{76,121} özellikle hiperkolesterolemik kişilerde aterojenik ve kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir¹²².

Homosistinürili hastalarda yapılan bir çalışma, plazma homosistein ve homosistein türevlerinin konsantrasyonlarının belirgin derecede arttığını, paralel olarak da sistein ve sisteinilglisin düzeylerinin orta derecede arttığını göstermiştir³⁶.

Çalışmamızda hasta grubu total sistein düzeyleri ($254.61 \pm 8.09 \mu\text{M}$) normalin üzerinde ve kontrollere göre ($187.10 \pm 7.68 \mu\text{M}$) anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p < 0.0001$), sisteinilglisin bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 7). Total homosistein düzeyleri ile total sistein düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon hasta grubunda %53 düzeyinde iken ($r = 0.53$, $p = 0.0001$), kontrol grubunda %56 düzeyinde ($r = 0.56$, $p = 0.0001$) olmuştur. Homosistein ile sisteinilglisin arasında ($r = 0.49$, $p = 0.0001$) ve sistein ile sisteinilglisin arasında ($r = 0.44$, $p = 0.0002$) pozitif korelasyon sadece hasta grubunda gözlenmiştir (Tablo 26). Bu bulgularımız daha önceki çalışmalarda serebral infarktüsü⁶, periferik vasküler hastalıklı¹⁴, myokard infarktüsü hastalardan¹¹⁶ ve hiperlipidemik hastalardan¹²² elde edilen bulgular ile uygunluk göstermektedir.

35 myokard infarktüsü, 11 kararsız ve 7 kararlı angina ile bunların dışında koroner arter hastalığı olan 15 kişiden oluşan hasta grubumuzda, normalin üzerinde ve en yüksek homosistein ile sistein düzeyleri (sırasıyla $18.42 \pm 1.87 \mu\text{M}$, $265.84 \pm 18.61 \mu\text{M}$) kararlı angina grubunda bulunurken, sisteinilglisin düzeyleri bu grupta normal düzeyinde kalmıştır ($30.64 \pm 3.72 \mu\text{M}$). En düşük homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ise (sırasıyla 14.80 ± 0.86 , 227.18 ± 16.82 , $29.07 \pm 2.55 \mu\text{M}$) kararsız angina grubunda gözlenmiştir. Ancak hasta gruplarında total tiyol bileşikleri ortalama değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye ulaşmamıştır (Tablo 20).

Homosistein düzeylerinin regülasyonu genetik kontrol altında olup, diyetel faktörlerin yanısıra, yaşa ve cinsiyete de bağlıdır. Homosistein konsantrasyonları renal fonksiyonlar, hormonal düzeyler, ilaç alımı ve diğer birçok faktörden etkilenmektedir.

Yapılan çalışmalar yaş ilerledikçe homosistein düzeylerinin de paralel olarak arttığını gösterirken^{47,122}, bu artış yaş ilerledikçe sistatinyonin β -sentaz enziminin aktivitesinde meydana gelen azalma ile ilişkili kılınmıştır¹²³.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubumuzu 50 yaş altı, 50-70 yaş arası ve 70 yaş üstü olmak üzere üç farklı gruba ayırdığımızda; yaş ilerledikçe doğru orantılı olarak hem hastalarda hem de kontrollerde homosistein konsantrasyonlarının arttığını gözlemledik (Tablo 8). 70 yaş üzerindeki grupları ile karşılaştırıldığında 50 yaşın altındaki hasta grubunun homosistein düzeyleri ile kontrol grubunun sistein düzeyleri anlamlı derecede düşük bulunmuştur. 50-70 yaş grubu ile 70 yaş üzeri grubunun kıyaslanmasında; hasta ve kontrol gruplarının sistein düzeyleri 70 yaş grubunda anlamlı derecede yüksek bulunurken homosistein düzeyleri ise sadece 70 yaş kontrol grubunda yüksek bulunmuştur. Sisteinilgisin düzeyleri ise hasta grubunda yaş ilerledikçe artış göstermiş ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye ulaşmamıştır (Tablo 13,14). Yaş grupları ayrı ayrı ele alındığında; 70 yaş üzerindeki hasta ve kontrol gruplarının homosistein ve sistein düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. 50-70 yaş arası ve 50 yaş altındaki grupların homosistein ve sistein düzeyleri bakımından yapılan değerlendirilmesinde ise, hasta gruplarında kontrollerine göre anlamlı derecede yüksek değerler bulundu (Tablo 8,9,10).

Çalışmalar erkeklerin kadınlardan daha yüksek homosistein düzeylerine sahip olduğunu ve premenapozal kadınların postmenapozal kadınlardan

ve erkeklerden daha düşük homosistein düzeylerine sahip olduğunu göstermektedir^{124,125}. Cinsiyete bağlı olarak homosistein düzeylerindeki farklılığın açıklaması henüz tam olarak yapılmış olmasa da bu farklılıkta vitamin düzeylerinin, kas kütlesinin ve hormon düzeylerinin etkili olduğu düşünülmektedir¹²⁶.

Östrojen ve progesteron düzeylerinin premenapozal kadınlarda postmenapozal kadınlardan yüksek olması ve kortizol ile östrojenin karaciğer betain-homosistein metiltransferaz ve böbrek metiyonin sentaz aktivitesinde artışa neden olması nedeniyle steroid hormonların homosistein metabolizmasını etkilediği düşünülmüştür⁶⁰. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada günlük olarak östrojenik bileşik verilen sıçanların idrarında kontrollerine oranla daha fazla homosistein atıldığı, progesteron verilen grupta ise homosistein atılımı yönünden herhangi bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir¹²⁷, ve yine hormon replasman tedavisi uygulanan postmenapozal kadınlarda açlık total serum homosistein konsantrasyonlarının azalması⁴⁶ seks hormonlarının serum homosistein konsantrasyonlarını etkilediğini göstermektedir.

Erkeklerle kıyasla premenapozal kadınların idrarlarında metiyonin yüklemesini takiben yüksek konsantrasyonlarda transaminasyon metabolitlerinin atılması, östrojenin etkilerinin metiyonin transaminasyonu ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular, premenapozal kadınların transaminasyon yolağı aracılığı ile metiyonini daha hızlı yıktıklarını ve böylece homosistein konsantrasyonlarını minimum düzeyde tutarak premenapozal kadınlarda kardiyovasküler riski azalttıklarını düşündürmektedir¹²⁸.

Hastalarda menapozal duruma göre yapılan değerlendirmede, premenapozal hasta kadınların total plazma homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri postmenapozal kadınlara oranla daha düşük bulunmakla birlikte

premenapozlu kadın sayısının iki olması nedeniyle total tiyol bileşikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Tablo 15). Kontrol grubunda ise premenapozlu kadınların homosistein ve sistein düzeyleri anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Tablo 16). Ayrıca premenapozlu hasta grubunun premenapozlu kontrol grubuna göre homosistein değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 8).

Postmenapozlu kadınlar ile erkeklerin total homosistein değerlerinin benzerlik göstermeleri^{124,125} nedeniyle çalışmamızda yer alan hasta grubunun büyük çoğunluğunun da postmenapozal kadınlardan teşkil olmasına bağlı olarak cinsiyete göre yapılan istatistiksel değerlendirmemizde total tiyol bileşikleri bakımından kadın ve erkekler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Tablo 11,12). Ancak erkek hasta ile kontrolleri ve kadın hastalar ile kontrolleri arasında homosistein ve sistein düzeyleri bakımından istatistiksel bir anlamlılık gözlemlendi. Erkek hasta grubu ve kadın hasta grubu homosistein ve sistein düzeyleri kontrol grupları düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 8,9).

Sigara kullanımı kardiyovasküler hastalıklar için iyi bilinen bir risk faktörüdür. Bazı çalışmalar total homosistein konsantrasyonunun sigara kullananlarda kullanmayanlara oranla daha yüksek olduğunu bildirmektedir^{104,129}. Sigara kullanımının folat ve total homosistein konsantrasyonlarını etkilediğinin bilinmesine karşın, sigara içenlerde gözlenen total homosistein artışının mekanizması aydınlatılmamıştır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada folat ve total homosistein ile myokard infarktüsü riski arasındaki ilişki sigaraya göre düzeltme yapıldıktan sonra ortadan kalkmıştır¹³⁰.

Çalışmamızda sigara kullanımına bağlı olarak total plazma homosistein ve diğer tiyol bileşiklerinin düzeyleri değerlendirildiğinde; hem hasta

grubunda hem de kontrol grubunda sigara kullanan, sigara kullanmayan ve sigarayı bırakmış hastaların total tiyol bileşiklerinin düzeylerinde birbirleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 17,18). Sigara kullanma alışkanlığına göre ayrılan her bir hasta grubu kontrolleri ile karşılaştırıldığında homosistein ve sistein düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılık gözlenirken, sisteinilglisin düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 8,9,10).

Alkol kullanımının tiyol bileşikleri üzerine olan etkisi, gerek hasta grubunda alkol kullanan bireylerin bulunmaması gerekse kontrol grubundaki sayının az olması nedeniyle değerlendirilememiştir. Kontrol grubunda alkol kullananların kullanmayanlara oranla daha düşük homosistein ile sisteinilglisin ve daha yüksek sistein düzeylerine sahip oldukları gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 19).

Dolaşımda bulunan homosistein düzeyleri metiyonin alımı ile doğrudan, vitamin alımıyla ters bir korelasyon göstermektedir. Özellikle folik asit ve vitamin B₁₂, homosistein konsantrasyonlarını azaltan primer metabolik yollar için gereklidir. Homosistein metabolizmasındaki katabolik enzimler olan sistatyonin β-sentaz ve γ-sistatyonaz enzimleri aktiviteleri için pridoksine gereksinim duymaktadır. Homosistein metabolizmasındaki bu etkin rollerinden dolayı homosistein düzeylerinin belirlenmesinde bu vitaminlerin düzeyleri önem taşımaktadır.

Yeterli düzeyde folat bulunduğu total homosistein düzeyleri değişmemekte ancak yetersiz folat düzeylerinde total homosistein düzeyleri artmaktadır. Benzer fakat daha düşük etkiler vitamin B₁₂ ile görülmektedir¹⁰².

Myokard infarktüsülü hastalarda yapılan çalışmada plazma folat düzeyleri ve daha az oranda plazma vitamin B₁₂ düzeyleri total homosistein düzeyleri ile ters bir korelasyon gösterirken vitamin B₆ ile böyle bir korelasyon

görülmemiştir. Aynı çalışmada diyetel vitamin alımı ile myokard infarktüsü arasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir¹¹⁶. Bu bulgular doğal diyetel folat alımının homosistein ve folat düzeyleri üzerinde meydana getirdiği iyileşmenin incelendiği ve meyve veya sebze tüketiminin folat ve homosistein düzeylerini iyileştirdiği bildirilen çalışmayla da indirekt olarak desteklenmiştir¹³¹.

Total homosistein konsantrasyonlarını düşürmek amacıyla folik asit, pridoksin ve kobalaminde oluşan kombinasyonlar uygulanmıştır ancak optimal vitamin dozu ve hedef total homosistein konsantrasyonu hala kesinleşmiş değildir.

Düşük dozda folat (0.5 mg) ve pridoksin (100mg)/gün kombinasyonunun prematüre arteryal hastalığı olan kişilerde açlık ve yükleme sonrası total homosistein konsantrasyonlarını %30 azalttığı gösterilmiştir⁵⁸.

Epidemiyolojik çalışmalar folik asitin total homosistein düzeylerini azaltıcı etkide en önemli belirleyici olduğunu ve optimal total homosistein konsantrasyonları için günde en az 0.3-0.4 mg folat alımının gerekliliğini vurgulamaktadır^{116,132}.

Pridoksinin homosistein düzeylerine olan etkisi metiyonin yüklemesinden sonraki homosistein konsantrasyonlarının azaltılması ile sınırlıdır. Çünkü pridoksinin açlık total homosistein konsantrasyonu üzerinde bile etkisi görülmemiştir^{133,134}.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunun folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri normal sınırlar içerisinde bulunup, bu iki vitamin yönünden hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 21).

Çalışmamızda homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ile folik asit ve vitamin B₁₂ arasındaki korelasyon incelendiğinde hem hasta hem de kontrol grubunda anlamlı bir korelasyon gözlenmedi (Tablo 22,23).

Hasta ve kontrol grubunu normal değerlerin altında ve normal değerlerde folik asit ile vitamin B₁₂ içeren gruplara ayırdığımızda; vitamin B₁₂ düzeyleri düşük olan (≤ 180 pg/mL) hasta grubunun sistein ve sisteinilglisin düzeyleri, vitamin B₁₂ düzeyleri normal olan (> 180 pg/mL) hasta grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.01$). Normal değerlerin altında (≤ 3 ng/mL) folik asit düzeylerine sahip hasta grubunun, hasta sayısının az olması nedeniyle, 3 ng/ml'den yüksek folik asit düzeylerine sahip hasta grubuna kıyasla, total tiyol bileşikleri düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Tablo 24). Benzer şekilde kontrol grubunu incelediğimizde sadece homosistein düzeyleri bakımından, vitamin B₁₂ düzeyleri düşük olan grup ile normal olan grup arasında anlamlı bir farklılık gözlendi ($p < 0.05$) (Tablo 25).

Renal fonksiyonlardaki yetersizliğe bağlı olarak homosistein düzeylerinin artması nedeniyle¹¹ çalışmamızda hasta ve kontrol grubu kreatinin düzeyleri belirlendi. Hem hasta hem de kontrol grubunda kreatinin düzeylerinin normal sınırlar içerisinde olduğu ancak hasta grubu kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0.0001$) (Tablo 27). Ancak hasta grubu kreatinin düzeylerinin kontrollere kıyasla daha yüksek olması, hasta ve kontrol grupları arasında homosistein düzeyleri bakımından görülen farklılığın bundan kaynaklanıyor olabileceğini düşündürse de, hasta grubu kreatinin değerinin normal sınırlar içinde olması yeterli renal fonksiyonun olduğunu, homosistein düzeylerindeki bu farklılığın renal yetmezlikten kaynaklanmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda geleneksel risk faktörleri olan¹ lipid parametreleri değerlendirildiğinde, hasta grubu trigliserit ve VLDL düzeyleri kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.0001$). Total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri ise normal sınırlar dahilinde olup, hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. HDL-kolesterol düzeyleri ise hasta ve kontrol grubunda normal sınırlar içerisinde olmakla birlikte, kontrol grubu HDL-kolesterol düzeyi hasta grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.0001$) (Tablo 27).

Total protein ve albumin düzeyleri hem hasta hem de kontrol grubunda normal sınırlar içerisinde olup, hasta grubunun kontrol grubuna kıyasla daha düşük total protein ve albumin düzeylerine sahip olduğu gözlemlendi ($p<0.0001$) (Tablo 27).

Hasta ve kontrol grubunda homosistein, sistein ve sisteinilglisin ile lipid parametreleri, proteinler ve kreatinin arasındaki korelasyonu incelediğimizde, daha önce yapılmış olan çalışmalarla uyumlu bir şekilde HDL-kolesterol düzeyleri ile homosistein¹³⁰ ve sisteinilglisin arasında anlamlı pozitif bir korelasyon gözlemlendi ($r=0.30$, $p=0.01$) ($r=0.29$, $p=0.02$). Hasta grubu total kolesterol düzeyleri ile sisteinilglisin düzeyleri arasında anlamlı ($r=0.28$, $p=0.02$) ve total protein ile sisteinilglisin arasında da anlamlı ($r=0.29$, $p=0.01$) bir korelasyon olduğu gözlemlendi (Tablo 28).

Kontrol grubunda yapılan değerlendirmelerde; albumin ile homosistein ($r=0.47$, $p=0.001$) ve sisteinilglisin ($r=0.33$, $p=0.03$) arasında anlamlı bir korelasyon olduğu gözlemlendi (Tablo 29).

Koroner kalp hastalıkları ile ilgili birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Yaygın olarak kabul edilen risk faktörleri yaş, diyabet, tütün kullanımı, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi, azalmış HDL-kolesterol düzeyi, hiperkoagülabilite ve yükselmiş plazma homosistein düzeyleridir. Çalışmamızda her ne kadar HDL-kolesterol düzeyleri normal sınırlarda bulunsa da, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük düzeyler, trigliserit düzeylerinde saptadığımız yüksek değerler ile uyum içindedir. HDL düzeyleri azaldığında trigliserit düzeylerinin arttığı bilinmektedir. HDL-kolesterol düzeyleri azaldığında trigliserit düzeylerinin artması, aşırı VLDL üretimi ve yetersiz şilomikron ile VLDL katabolizmasıyla ilgilidir.

Vitamin B₁₂ ve folik asit eksikliği ile bazı doğuştan metabolizma bozukluklarında plazma homosistein düzeylerinde belirgin artış olduğu bilinmektedir. Bununla beraber homosistein birikiminin koroner, serebral ve periferik ateroskleroz için bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda saptadığımız folik asit ve vitamin B₁₂ düzeylerinin normal sınırlar içerisinde olması nedeniyle, hastalarda saptadığımız plazma homosistein düzeylerindeki artış, homosisteinin ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği görüşünü kuvvetlendirmektedir.

Çalışmamızda, komplike olmaları ve düşük seçicilik göstermeleri nedeniyle klinik uygulanabilirlikleri yeterli olmayan yöntemler yerine, daha seçici ve hassas olan floresans dedektörlü HPLC metodu kullanmak suretiyle elde ettiğimiz bulgulara göre, bu yöntemin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak rutin uygulamaya girmesiyle klinikte bağımsız bir risk faktörü olarak homosistein tayini oldukça önem kazanacaktır.

VI.ÖZET

Çalışmamızda koroner kalp hastalığı bulunan, 68 kişiden oluşan hasta grubunun ve herhangi bir koroner kalp hastalığı ve aterosklerotik bulgusu bulunmayan 42 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunun plazma total homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ile serum folik asit, vitamin B₁₂, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-Kolesterol, VLDL, trigliserit, total protein, albumin ve kreatinin düzeyleri ölçüldü, tiyol bileşiklerini oluşturan homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeylerinde cinsiyet, yaş, menapoz, sigara ve alkol gibi parametrelere bağlı olarak meydana gelen değişiklikler incelendi. Total tiyol bileşiklerinin folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri ile olan korelasyonu ve ayrıca diğer parametrelerle olan korelasyonu yapıldı.

Hasta grubu ortalama plazma total homosistein düzeyleri 16.32 ± 0.64 $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı ve kontrol grubu total homosistein düzeyleri (9.23 ± 0.70) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Hasta grubu total sistein düzeyleri (254.61 ± 8.09 μM) kontrollere göre (187.10 ± 7.68 μM) anlamlı derecede yüksek bulunurken, sisteinilglisin bakımından anlamlı bir fark bulunamadı. Total homosistein düzeyleri ile total sistein düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon hasta grubunda %53 düzeylerinde iken, kontrol grubunda %56 düzeyinde bulundu. Homosistein ile sisteinilglisin arasında ve sistein ile sisteinilglisin arasında pozitif korelasyon sadece hasta grubunda gözlemlendi.

Normalin üzerinde ve en yüksek homosistein ile sistein düzeyleri kararlı angina grubunda bulunurken, sisteinilglisin düzeyleri bu grupta normal düzeyde idi. En düşük homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ise kararsız angina grubunda saptandı. Ancak hasta gruplarında total tiyol bileşikleri ortalama değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Hem

hastalarda hem de kontrollerde yaş ilerledikçe homosistein konsantrasyonlarının arttığı saptandı. Çalışmamızda yer alan hasta grubunun büyük çoğunluğunu postmenapozal kadınlar oluşturması nedeniyle cinsiyete göre yapılan değerlendirmede total tiyol bileşikleri bakımından kadın ve erkekler arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Çalışmamızda sigara kullanımına bağlı olarak total plazma homosistein ve diğer tiyol bileşiklerinin düzeyleri değerlendirildiğinde; hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda sigara kullanan, sigara kullanmayan ve sigarayı bırakmış kişilerin total tiyol bileşiklerinin düzeyleri birbirleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubunun folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri normal sınırlar içerisinde bulunup, bu iki vitamin yönünden hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Homosistein, sistein ve sisteinilglisin düzeyleri ile folik asit ve vitamin B₁₂ arasındaki korelasyon incelendiğinde, hem hasta hem de kontrol grubunda anlamlı bir korelasyon gözlenmedi. Vitamin B₁₂ düzeyleri düşük olan hasta grubunun sistein ve sisteinilglisin düzeyleri, vitamin B₁₂ düzeyleri normal olan hasta grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu.

Hasta grubu kreatinin, trigliserit ve VLDL düzeyleri normal sınırlar içerisinde ancak kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu. Hasta grubunun kontrol grubuna kıyasla daha düşük total protein ve albumin düzeylerine sahip olduğu gözlemlendi.

VII. SUMMARY

In our study, fasting plasma levels of total homocysteine, cysteine and cysteinilglycine, and fasting serum levels of folic acid, vitamin B₁₂, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL, triglyceride, total protein, albumin and creatinine were measured in 68 cases with coronary heart disease and in 42 control subjects with no history of coronary heart disease or atherosclerosis.

Changes in the levels of total thiol compounds depends on sex, age, menopausal status, alcohol intake, cigarette smoking were evaluated. Also we studied, the correlation between the levels of total thiol compounds consist of homocysteine, cysteine and cysteinilglycine and folic acid, vitamin B₁₂ and other measured parameters in both cases and controls.

The mean plasma homocysteine and cysteine values in the patient and control groups were $16.32 \pm 0.64 \mu\text{M}$, $254.61 \pm 8.09 \mu\text{M}$ and $9.23 \pm 0.70 \mu\text{M}$, $187.1 \pm 7.68 \mu\text{M}$, respectively. Differences observed for homocysteine and cysteine between cases and controls were statistically significant but non significant for cysteinilglycine. Highly significant positive correlations were observed between the levels of plasma total homocysteine and cysteine, these correlations were 56% for controls and 53% for cases. There were the positive correlations between homocysteine and cysteinilglycine and between cystein and cysteinilglycine in patient group.

The cases were divided in four groups consist of stable angina, unstable angina, myocard infarction and others. The highest and over normal homocysteine and cysteine levels were found in the stable angina group whereas cysteinilglycine levels were normal in this group. otherwise the lowest homocysteine, cysteine and cysteinilglycine levels were observed in the unstable angina group.

However, there was no statistically significant difference among patient groups in terms of mean values of thiol compounds. We found a correlation of plasma homocysteine levels with age. Because of the fact that most of patients in our study consist of postmenopausal women, no significant difference was found between women and men in terms of homocysteine, cysteine and cysteinylglycine levels.

When the levels of homocysteine and other thiol compound were evaluated depending on cigarette smoking, total thiol levels did not show any difference among the current smoker, ex-smoker and nonsmoker both in cases and controls.

The levels of folic acid and vitamin B₁₂ were in normal range in both cases and controls and, no statistically significant difference was found. When the correlations were evaluated between homocysteine, cysteine cysteinylglycine and folic acid, vitamin B₁₂, there was no significant correlation in both cases and controls. Patients with low levels of vitamin B₁₂ had significantly higher cysteine and cysteinylglycine levels than patients with normal levels of vitamin B₁₂.

The higher serum creatinine, triglyceride and VLDL and lower protein and albumin levels were found in patients to compared with controls, but the levels of these parameters are in the normal range.

VIII.KAYNAKLAR

1. KANNEL, W.B.; SYTKOWSKI, P.A. Atherosclerosis Risk Factors. *Pharmac.Ther.*32:207-235,1987.
2. McCULLY,K.S. Atherosclerosis, Serum Cholesterol and the homocysteine Theory: A Study of 194 Consecutive Autopsies. *Am.J.Med.Sci.* 299:217-223, 1990.
3. MASSER,A.P.; TAYLOR, L.M.; PORTER, J.M. Importance of Elevated Plasma Homocysteine Levels as a Risk Factor for Atherosclerosis. *Ann.Thorac. Surg.* 58:1240-1246,1994.
4. BOERS, G.H.J.; SMALS,A.G.H. TRIJBELS, F.J.M.; FOWLER, B.; BAKKEREN, J.A.J.M.;CSHOONDERWALDT, H.C.; KLEIJER, W.J.; KLOPPENBORG, P.W.C. Heterozygosity for homocystinuria in Premature Peripheral and Cerebral Occlusive Arterial Disease. *N.Engl.J.Med.* 313(12):709-715, 1985.
5. CLARKE,R.; DALY, L.; ROBINSON, K.; NAUGHTEN, E.; CAHALANE,S.; FOWLER, B.; GRAHAM, I. Hyperhomocysteinemia: An Independent Risk Factor for Vascular Disease. *N.Engl.J.Med.* 324(17): 1149-1155, 1991.
6. ARAKI, A.; SAKO, Y.; FUKUSHIMA, Y.; MATSUMOTO, M.; ASADA, T.; KITA, T. Plasma Sulfhydryl-containing Amino Acids in Patients with Cerebral Infarction and in Hypertensive Subjects. *Atherosclerosis* 79: 139-146, 1989.
7. TSAI,M.Y. Editorial. Laboratory Assessment of Mild Hyperhomocysteinemia as an Independent Risk Factor for Occlusive Vascular Disease. *Clin.Chem.* 42(4):492-493, 1996.

8. MONTALESCOT, G. Editorial. Homocysteine: The New Player in the Field of Coronary Risk. *Heart* 76:101-102, 1996.
9. OLSZEWSKI, A.J.; SZOSTAK, W.B.; BIALKOWSKA, M.; RUDNICKI, S.; McCULLY, K.S. Reduction of Plasma Lipid and Homocysteine levels by Pyridoxine, Folate, Cobalamin, Choline, Riboflavine, and Troxerutin in Atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 75:1-6, 1989.
10. UELAND, M.; REFSUM, H. Plasma Homocysteine, a Risk Factor for Vascular Disease: Plasma Levels in Health, Disease, and Drug Therapy. *J.Lab.Clin.Med.* 114(5):473-481, 1989.
11. HULTBERG, B.; ANDERSSON, A.; ARNADOTTIR, M. Reduced, Free and Total Fractions of Homocysteine and Other Thiol Compounds in Plasma from Patients with Renal Failure. *Nephron*, 70:62-67, 1995.
12. KREDICK, N.M.; HERSHFIELD, M.S.; FALLETTA, J.M.; KINNEY, T.R.; MITCHELL, B.; KOLLER, C. Effects of 2'deoxycoformycin on Homocysteine Metabolism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin.Res.* 29: 541-545, 1981.
13. UELAND, P.M.; REFSUM, H.; STABLER, S.P.; MALINOW, M.R.; ANDERSSON, A.; ALLEN, R.H. Total Homocysteine in Plasma or Serum: Methods and Clinical Applications (Review). *Clin.Chem.* 39:1764-1779, 1993.
14. MALINOW, M.R. Homocyst(e)ine and Arterial Occlusive Disease. *J. Int.Med.* 236:603-617, 1994.
15. McCULLY, K.S. Chemical Pathology of Homocysteine I. Atherogenesis. *Ann.Clin.Lab.Sci.* 23(6): 477-493, 1993.

16. COOPER, A.J.L. Biochemistry of Sulfur-Containing Amino Acids. *Ann.Rev.Biochem.* 52:187-222, 1983.
17. STIPANUK, M.H. Metabolism of Sulfur-Containing Amino Acids. *Ann.Rev.Nutr.* 6:179-209, 1986.
18. FINKELSTEIN, J.D. Methionine Metabolism in Mammals. *J.Nutr.Biochem.* 1:228-237, 1990.
19. GIULIDORI, P. ; GALLI-KIENLE, M. ; CATTO, E.; STRAMENTINOLI, G. Transmethylation, Transsulfuration, Aminopropylation Reactions of S-Adenosyl-L-Methionine in vivo. *J.Biol.Chem.* 259:4205-4211, 1984.
20. BENEVENGA, N.J. Evidence for Alternative Pathways of Methionine Catabolism. *Adv.Nutr.Res.* 6:1-18, 1984.
21. BLOOM, H.J. TANGERMAN, A. Methanethiol Metabolism in Whole Blood. *J.Lab.Clin.Med.* 11:606-610, 1988.
22. GAHL, W.A.; BERNARDINI, I.; FINKELSTEIN, J.D.; TANGERMAN, A.; MARTIN, J.J.; BLOM, H.J.; MULLEN, K.D.; MUDD, S.H. Transsulfuration in an Adult with Hepatic Methionine Adenosyltransferase Deficiency. *J.Clin.Invest.* 81:390-397, 1988.
23. BLOOM, H.J.; BOERS, G.H.J.; TRIJBELS, J.M.F.; VANROESSEL, J.J.M. TANGERMAN, A. Cystathionine Synthase Deficient Patients do not Use the Transamination Pathway of Methionine to Reduce Hypermethioninemia and Homocystinemia. *Metabolism*, 38:577-582, 1989.

24. SCHRADER, J.; SCHUTZ, W.; BARDENHEUER, H. Role of S-Adenosylhomocysteine Hydrolase in Adenosine Metabolism in Mammalian Heart. *Biochem.J.* 196:65-70, 1981.
25. UELAND, P.M. Pharmacological and Biochemical Aspects of S-Adenosylhomocysteine and S-Adenosylhomocysteine Hydrolase. *Pharmacol Rev.* 34:223-253, 1982.
26. BILLINGS, R.E.; NOKER, P.E.; TEPHLY, T.R. The Role of Methionine in Regulating Folate-Dependent Reactions in Isolated Rat Hepatocytes. *Arch.Biochem.Biophys.* 208:108-120, 1981.
27. FRASCA, V.; BANERJEE, R.V.; DUNHAM, W.R.; SANDS, R.H.; MATTHEWS, R.G. Cobalamin-Dependent Methionine Synthase from *Escherichia Coli* B: Electron Paramagnetic Spectra of the Inactive Form and the Active Methylated Form of the Enzyme. *Biochemistry* 27:8448-8465, 1988.
28. MUDD, S.H.; POOLE, J.R. Labile Methyl Balances for Normal Humans on various Dietary Regimens. *Metabolism* 24:721-735, 1975.
29. FINKELSTEIN, J.D.; MARTIN, J.J. Methionine Metabolism in Mammals: Adaptation to Methionine Excess. *J.Biol.Chem.* 261(4):1682-1587, 1986.
30. FINKELSTEIN, J.D.; MARTIN, J.J. Methionine Metabolism in Mammals: Distribution of Homocysteine Between Competing Pathways. *J.Biol.Chem.* 259(15) : 9508-9513, 1984.
31. SVARDAL, A.; DJURHUUS, R.; UELAND, P.M. Disposition of Homocysteine and S-3-deazaadenosylhomocysteine in Cells Exposed to 3-Deazaadenosine. *Molec.Pharmacol.* 30:154-158, 1986.

32. SVARDAL, A.M.; DJURHUUS, R.; REFSUM, H.; UELAND, P.M. Disposition of Homocysteine in Rat Hepatocytes and in Nontransformed and Malignant Mouse Embryo Fibroblast Following Exposure to Inhibitors of S-Adenosylhomocysteine Catabolism. *Cancer Res.* 46:5095-5100, 1986
33. UELAND, P.M. Homocysteine Species as Components of Plasma Redox Thiol Status. *Clin.Chem.* 41(3): 340-342, 1995.
34. MANSOOR, A.M.; SVARDAL, A.M.; UELAND, P.M. Determination of the in Vivo Redox Status of Cysteine, Cysteinylglycine, homocysteine, and Glutathione in Human Plasma. *Anal.Biochem.* 200:218-229, 1992.
35. MANSOOR, A.M.; UELAND, P.M.; SVARDAL, A.M. Redox Status and Protein Binding of Plasma Homocysteine and Other Aminothiols in Patients with Hyperhomocysteinemia due to Cobalamin deficiency. *Am.J.Clin.Nutr.* 59:631-635, 1994.
36. MANSOOR, A.M.; UELAND, P.M.; AARSLAND, A.; SVARDAL, A.M. Redox Status and Protein Binding of Plasma Homocysteine and Other Aminothiols in Patients with Homocysteinuria. *Metabolism*, 42(11): 1481-1485, 1993.
37. MALLOY, M.H.; RASSIN, D.K.; GAULL, G.E. Plasma Cyst(e)ine in Homocyst(e)inemia. *Am.J.Clin.Nutr.* 34:2619-2621, 1981.
38. ANDERSSON, A.; LINDGREN, A.; HULTBERG, B. Effect of Thiol Oxidation and Thiol Export from Erythrocytes on Determination of Redox Status of Homocysteine and Other Thiols in Plasma from Healthy Subjects and Patients with cerebral Infarction. *Clin.Chem.* 41(3): 361-366, 1995.

39. FINKERSTRAND,T.; REFSUM, H.; KVALHEIM, G.; UELAND, P.M.
Homocysteine and Other Thiols in Plasma and Urine: Automated determination and Sample Stability. *Clin.Chem.* 39(2):263-271, 1993.
40. MØLLER, J.; RASMUSSEN, K. Homocysteine in Plasma: Stabilization of Blood Samples with Fluoride (Tech. Brief). *Clin.Chem.* 41:758-759, 1995.
41. STAMPFER, M.F.; MALINOW, M.R.; WILLET, W.C.; NEWCOMER, L.M.; UPSON,B.; ULLMANN,D. ET AL. A Prospective Study of Plasma Homocyst(e)ine and Risk of Myocardial Infarction in US Physicians. *JAMA* 268(7): 877-881, 1992.
42. NILSSON, K.; GUSTAFSON, L.; FALDT, R.; ANDERSSON, A.; HULTBERG, B. Plasma Homocysteine in Relation to Serum Cobalamin and Blood Folate in a Psychogeriatric Population. *Eur.J.Clin.Invest.* 24:600-606, 1994.
43. NAURATH, H.J.; JOOSTEN, E.; RIEZLER, R.; STABLER, S.P.; ALLEN, R.H.; LINDENBAUM, J. Effects of Vitamin B₁₂ , Folate, and Vitamin B₆ Supplements in Elderly People with Normal Serum Vitamin Concentrations. *Lancet* 346:85-89, 1995.
44. UBBINK, J.B.; BECKER, P.J.; VERMAAK, WJ..H.; DELPORT, R. Results of B-vitamin Supplementation Study Used in a Prediction Model to Define a Reference Range for Plasma Homocysteine. *Clin.Chem.* 41:1033-1037, 1995.
45. MIJATOVIC, V.; KENEMANS, P.; JACOBS, C.; BAAL, M.V.; PETERS-MULLER, E.R.; MOOREN, M.J. A Randomized Controlled Study of the Effects of 17 Beta-Estradiol-Dydrogesterone on Plasma Homocysteine in Postmenopausal Women. *Obstet.Gynecol.*91(3):432-436,1998.
46. MIJATOVIC, V.; KENEMANS, P.;NETELENBOS, C.; JACOBS C.; POPP-SNIJDERS, C.; PETERS-MULLER, E.R.; MOOREN, M.J. Postmenopausal Oral

- 17 β -Estradiol Continuously Combined with Dydrogesterone Reduces Fasting Serum Homocysteine Levels. *Fertil.Steril.* 69(5):876-882, 1998.
47. RASMUSSEN, K.;MOLLER, J.; LYNGBAK, M.; PEDERSEN, A.M.H.; DYBKJAER, L. Age- and Gender-Specific Reference Intervals for Total Homocysteine and Methylmalonic Acid in Plasma Before and After Vitamin Supplementation. *Clin.Chem.* 42(4):630-636, 1996.
48. WU, L.L. Review of Risk Factors for Cardiovascular Diseases. *Ann.Clin.Lab.Sci.* 29(2): 127-132,1999.
49. STABLER,S.P.; MARCELL,P.D.; PODELL, E.R.; ALLEN, R.H. Quantitation of Total Homocysteine, Total Cysteine, and Methionine in Normal Serum and Urine Using Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal.Biochem.* 162:185-196, 1987.
50. REFSUM, H.; HELLAND,S.; UELAND,P.M. Radioenzymic Determination of Homocysteine in Plasma and Urine. *Clin.Chem.*31(4): 624-628,1985.
51. SELHUB,J.; MILLER, J.W. The Pathogenesis of Homocysteinemia: Interruption of the Coordinate Regulation by S-Adenosylmethionine of the Remethylation and Transsulfuration of Homocysteine. *Am.J.Clin.Nutr.* 55:131-138,1992.
52. CACCIARI,E.;SALARDI, S. Clinical and Laboratory Features of Homocystinuria. *Haemostasis* 19(suppl 1):10-13,1989.
53. KANG, S.S. Treatment of Hyperhomocyst(e)inemia: Physiological Basis. *J.Nutr.* 126:1273S-1275S, 1996.
54. SKOVBY, F. Inborn Error of Metabolism Causing Homocysteinemia and Related Vascular Involvement. *Haemostasis* 19(suppl 1):4-9,1989.

55. BAILEY, L.B.; GREGORY, J.F. Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase and Other Enzymes: Metabolic Significance, Risks and Impact on Folate Requirement. *J.Nutr.* 129:919-922, 1999.
56. JACOB, R.A.; JENDEN, D.J.; ALLMAN-FARINELLI, M.A.; SWENDSEID, M.E. Folate Nutriture Alters Choline Status of Women and Men Fed Low Choline Diets. *J.Nutr.*129:712-717,1999.
57. BAILEY, L.B.; GREGORY J.F. Folate Metabolism and Requirements.*J.Nutr.*129:779-782, 1999.
58. GRIEND, R.; HAAS, F.J.L.; BIESMA D.H.; DURAN, M.; MEUWISSEN O.J.A.; BANGA, J.D. Combination of Low Dose Folic Acid and Pyridoxine for Treatment of Hyperhomocysteinemia in Patients with Premature Arterial Disease and Their Relatives. *Atherosclerosis*, 143:177-183, 1999.
59. ALLEN, R.H.; STABLER, S.P.; SAVAGE, D.G.; LINDENBAUM, J. Metabolic Abnormalities in Cobalamin (Vitamin B₁₂) and Folate Deficiency. *FASEB.J.* 7:1344-1353, 1993.
60. KIM, M.; KIM, E.; PASSEN, E.L.; MEYER, J.; KANG, S.S. Cortisol and Estradiol: Nongenetic Factors for Hyperhomocyst(e)inemia. *Metabolism* 46(3): 247-249, 1997.
61. REFSUM, H.; WESENBERG, F.; UELAND, P.M. Plasma Homocysteine in Children with Acute Lymphoblastic Leucemia: Changes during a Chemotherapeutic Regimen Including Methotrexate. *Cancer Res.* 51:828-835, 1991.
62. BRATTSTROM, L. Vitamins as Homocysteine-Lowering Agents. *J.Nutr.* 126:1276S-1280S, 1996.

63. ÖZCAN, N. Koroner Kalp Hastalıkları, Sf:31-58,GATA, Ankara,1997.
64. ROSS, R. The pathogenesis of Atherosclerosis- An Update. N.Engl.J.Med. 314(8):488-500,1986.
65. MUNRO, J.M.; COTRAN, R.S. The pathogenesis of Atherosclerosis: Atherogenesis and Inflammation. Lab.Invest. 58(3):249-261, 1988.
66. AQEL, N.M.; BALL, R.Y.; WALDMAN, H.; MITCHINSON, M.J. Identification of Macrophages and Smooth Muscle Cells in Human Atherosclerosis Using Monoclonal Antibodies. J.Pathol 146:197-200, 1985.
67. MUNRO, J.M.; WALT,J.D.; MUNRO, J.S.; CHALMERS, J.A.C.; COX, E.L. An Immunohistochemical Analysis of Human Aortic Fatty Streaks. Human Pathol. 18: 373-378, 1987.
68. FRISHMAN, W.H. Biologic Markers as Predictors of Cardiovascular Disease. Am.J.Med. 104(6A)18S-27S, 1998.
69. HAVEL, R. McCollum Award Lecture,1993: Triglyceride-rich Lipoproteins and Atherosclerosis-New Perspectives.Am.J.Clin.Nutr. 59:795-799, 1994.
70. O'BRIEN, K.D.; CHAIT, A. Lipid Disorders: The Biology of the Artery Wall in Atherogenesis. Med. Clin. North America 78(1):41-67,1994.
71. SCANDINAVIAN SIMVASTATIN SURVIVAL STUDY GROUP. Randomized Trial of Cholesterol Lowering 4444 Patients with Coronary Disease: Scandinavian Simvastatin Survival Study. Lancet 344:1383-1389, 1994.
72. KRAUSS, R.M. Relationship of Intermediate and Low-Density Lipoprotein Subspecies to Risk of Coronary Artery Disease. Am.Heart.J.113:578-582, 1987.

73. BARTER, P.J.; RYE, K.A. High Density Lipoprotein and Coronary Disease. *Atherosclerosis*. 121:1-12, 1996.
74. SCANU, A.M.; FLESS, G.M. Lipoprotein (a): Heterogeneity and Biological Relevance. *J.Clin.Invest*. 85:1709-1715, 1990.
75. HALVORSEN, B.; BRUDE, I.; DREVON, C.A. ; NYSOM, J.; OSE, L.; CHRISTIANSEN, E.N.; NENSETER, M.S. Effect of Homocysteine on Copper Ion-catalyzed, Azo Compound-Initiated, and Mononuclear Cell-Mediated Oxidative Modification of Low Density Lipoprotein. *J.Lipid Res*. 37:1591-1600, 1996.
76. HEINECKE, J.W.; ROSEN, H.; SUZUKI, L.A.; CHEIT, A. The Role of Sulfur-Containing Amino Acids in Superoxide Production and Modification of Low Density Lipoprotein by Arterial Smooth Muscle Cells. *J.Biol.Chem*. 262(21):10098-10103, 1987.
77. BLOM, H.J.; KLEINVELD, H.A.; BOERS, G.H.J.; DEMACKER, P.N.M.; ; HAK-LEMMERS, H.L.M.; TEPOELE-POTHOFF, M.T.W.B.; TRIJBELS, J.M.F. Lipid Peroxidation and Susceptibility of Low Density Lipoprotein to In Vitro Oxidation in Hyperhomocysteinemia. *Eur.J.Clin.Invest*. 25:149-154, 1995.
78. DUDMAN, N.P.B.; WILCKEN, D.E.L., STOCKER, R. Circulating Lipid Hydroperoxide Levels in Human Hyperhomocysteinemia. *Arterioscler. and Thromb*. 13:512-516, 1993.
79. BERMAN, S.B.; MARTIN, W. Arterial Endothelial Barrier Dysfunction: Action of Homocysteine and the Hypoxanthine-xanthine Oxidase Free Radical generating System. *Br.J.Pharmacol*. 108:920-926, 1993.

80. OLSZEWSKI,A.J.; MccULLY,K.S. Homocysteine Metabolism and the Oxidative Modification of Proteins and Lipids.Free Rad.Biol.Med. 14:683-693,1993.
81. JONES,B.G.; ROSE,F.A.; TUDBALL,N. Lipid Peroxidation and Homocysteine Induced Toxicity. Atherosclerosis 105:165-170,1994.
82. BLUNDELL,G.; JONES,B.G.; ROSE,F.A.; TUDBALL,N. Homocysteine Mediated Endothelial Cell Toxicity and its Amelioration. Atherosclerosis 122:163-172,1996.
83. TSAI,J.; PERELLA,M.A.; YOSHIZUMI,M. ET AL. Promotion of Vascular Smooth Muscle cell growth by Homocysteine: A Link to atherosclerosis. Proc.Natl.Acad.Sci. USA. 91:6369-6373,1994.
84. HARPEL,P.C.; ZHANG,X.; BORTH, W. Homocysteine and Hemostasis: Pathogenic Mechanisms Predisposing to Thrombosis. J.Nutr.126:1285S-1289S,1996.
85. ESMON,C.T. The Role of Protein C and Thrombomodulin in the Regulation of Blood Coagulation. J.Biol.Chem.264:4743-4746,1989.
86. LENTZ, S.; SADLER, J.E. Inhibition of Thrombomodulin Surface Expression and Protein C Activation by the Thrombogenic Agent homocysteine. J.Clin.Invest.88:1906-1914,1991.
87. RODGERS,G.M.; CONN,M.T. Homocysteine, an Atherogenic Stimulus, Reduces protein C Activation by Arterial and Venous Endothelial Cells. Blood, 75(4):895—901,1990.
88. GRAEBER, J.E.; SLOTT,J.H.; ULANE, R.E.; SCHULMAN, J.D.; STUART, M.J. Effect of Homocysteine and Homocystine on Platelet and vascular Arachidonic Acid Metabolism. Pediatr.Res.16:490-493,1982.
89. STAMLER,J.S.; LOSCALZO, J. Gluthatione Dramatically alters the Activity of Tissue Plasminogen Activator. Clin.Res. 38:246-250, 1990.

90. FRYER, R.H., WILSON,B.D.; GUBLER,D.B.; FITZGERALD,L.A.; RODGER,G.M.
Homocysteine, a Risk Factor for Premature Vascular Disease and Thrombosis,
Induces Tissue Factor Activity in Endothelial Cells. *Arterioscler. Thromb.* 13(9):1327-
1333,1993.
91. RODGER,G.M.; KANE,W. Activation of Endogenous Factor V by a Homocysteine-
Induced vascular Endothelial Cell Activator. *J.Clin.Invest.*77:1909-1916,1993.
92. FREYBURGER,G.; LABROUCHE,S.; SASSOUST,G.; ROUANELT,S.; PARROT, F.
Mild Hyperhomocysteinemia and Hemostatic Factors in Patients with Arterial vascular
Disease. *Thromb. Hemostasis* 77(3):466-471,1997.
93. STAMLER,J.S.; SLIVKA,A. Biological Chemistry of Thiols in the Vasculature and in
Vascular-related Disease. *Nutr.Rev.*54(1):1996.
94. HARPEL,P.C.; CHANG,V.T.; BORTH, W. Homocysteine and Other Sulfhydryl
Compounds Enhance the Binding of Lipoprotein (a) to Fibrin: a Potential Biochemical
link between Thrombosis, Atherosclerosis, and Sulfhydryl Compounds metabolism.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 89:10193-10197,1992.
95. UPCHURCH, G.R.; WELCH, G.N.; LOSCALZO, J. Homocysteine, EDRF and
Endothelial Function. *J.Nutr.* 126:1290-1294, 1996.
96. UPCHURCH, G.R.; WELCH, G.N.;FABIAN, A.J.; FREEDMAN, J.E.; JOHNSON, J.L.;
KEANEY, J.F.; LOSCALZO, J. Homocyst(e)ine Decreases Bioavailable Nitric Oxide
by a Mechanism Involving Glutathione Peroxidase. *J.Biol.Chem.* 272(27): 17012-
17017, 1997.
97. STAMLER, J.S.; OSBORNE, J.A.; JARAKI, O.; RABBANI, L.E.; MULLINS, M.;
SINGEL, D.; LOSCALZO, J. Adverse Vascular Effects of Homocysteine Are

- Modulated by Endothelium-derived Relaxing Factor and Related Oxides of Nitrogen. *J.Clin.Invest.* 91:308-318, 1993.
98. VESTER, B.; RASMUSSEN, K. High Performance Liquid Chromatography Method for Rapid and Accurate Determination of Homocysteine in Plasma and Serum. *Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem.* 29:549-554, 1991.
99. REFSUM, H.; UELAND, M.; SVARDAL, A.M. Fully Automated Fluorescence Assay for Determining Total Homocysteine in Plasma. *Clin.Chem.* 35(9): 1921-1927, 1989.
100. IMAI, K.; TOYO'OKA, T. Fluorometric Assay of Thiols with Fluorobenzoxadiazoles. *Method. Enzymol.* 143: 67-75, 1987.
101. MCCULLY, K.S. Vascular Pathology of homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Am.J.Pathol.* 56:111-28, 1969.
102. LANGMAN, L.J.; COLE, D.E.C. Homocysteine: Cholesterol of the 90s ? *Clin.Chim.Acta* 286 (1-2):63-80, 1999.
103. WALD, N.J.; WATT, H.C. ; LAW, M.R. ; WEIR, D.G.; McPARTLIN, J ; SCOTT, J.M. Homocysteine and Ischaemic Heart Disease. *Arch. Int.Med.* 158:862-867, 1998.
104. ARNESEN, E.; REFSUM, H.; BONAA, K.H.; UELAND, P.M.; FORDE, O.H.; NORDREHAUG, J.E. Serum Total Homocysteine and Coronary Heart Disease. *Int.J.Epidemiol.* 24:704-709, 1995.
105. ALFTHAN, G.; PEKKANEN, J. ; JUAHIANEN, M. Relation of Serum Homocysteine and Lipoprotein (a) concentrations to Atherosclerotic Disease in a Prospective Finnish Population Based Study. *Atherosclerosis* 106:9-19, 1994.
106. FOLSOM, A.R.; NIETO, F.J.; McGOVERN, P.G. et al. Prospective Study of Coronary Heart Disease Incidence in Relation to Fasting Total Homocysteine,

- Related genetic Polymorphism, and B Vitamins: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 98:204-210,1998.
107. WICKEN, D.E.L.; REDDY, S.G. , GUPTA, V.J. Homocysteinemia, Ischemic Heart Disease, and the Carrier State for Homocystinuria. *Metabolism* 32: 363-370, 1983.
108. DUNN, J.; TITLE, L.M. ; BATA, I. Et al. Relation of a Common Mutation in Methylene tetrahydrofolate Reductase to Plasma Homocysteine and Early Onset Coronary Artery Disease. *Clin. Biochem.* 31:95-100, 1998.
109. BRATTSTROM, L.; WILCKEN, D.E.L.; OHRVIK, J.; BRUDIN, L. Common Methylene tetrahydrofolate Reductase gene Mutation Leads to Hyperhomocysteinemia but not to Vascular Disease-The Result of a Meta Analysis. *Circulation* 98:2520-2526, 1998.
110. BOUSHEY, C.J.; BERESFORD, S.A.A; OMENN, G.S.; MOTULSKY, A.G. A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. *J. Am. Med. Assoc.* 274:1049-1057, 1995.
111. BELLAMY, M.F.; McDOWELL, I.F.W. Putative Mechanism for Vascular Damage by Homocysteine. *J. Inher. Metab. Dis.* 20:307-315, 1996.
112. TANG, L.; MAMOTTE, C.D.; VAN BOCKXMEER, F.M.; TAYLOR, R.R. The Effect of Homocysteine on DNA Synthesis in Cultured Human Vascular Smooth Muscle. *Atherosclerosis* 136:169-173, 1998.
113. NYGARD, O.; VOLLSET, S.E.; REFSUM, H. Total Plasma Homocysteine and Cardiovascular Risk Profile. *J. Am. Med. Assoc.* 274:1526-1533, 1995.
114. SELHUB, J.; D'ANGELO, A. Hyperhomocysteinemia and Thrombosis: Acquired Conditions. *Thromb. Haemos.* 78(1):527-531,1997.

115. CHAO, C.L.; TSAI, H.H.; LEE, C.M.; HSU, S.M.; KAO, J.T.; CHIEN, K.L.; SUNG, F.C.; LEE, Y.T. The Graded Effect of Hyperhomocysteinemia on the Severity and Extent of Coronary Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 147(2): 379-386, 1999.
116. VERHOEF, P.; STAMPFER, M.J.; BURING, J.E.; GAZIANO, J.M.; ALLEN, R.H.; STABLER, S.P.; REYNOLDS, R.D.; KOK, F.J.; HENNEKENS, C.H.; WILLETT, W.C. Homocysteine Metabolism and Risk of Myocardial Infarction: Relation with Vitamins B₆, B₁₂, and Folate. *Am.J.Epidemiol.* 143(9): 845-859, 1996.
117. KANG, S.S.; WONG, P.W.K.; COOK, H.Y.; NORUSIS, M.; MESSER, J.V. Protein-Bound Homocyst(e)ine: A Possible Risk Factor for Coronary Artery Disease. *J.Clin.Invest.* 77:2482-1486, 1986.
118. DUDMAN, N.P.B.; HICK, C.; WANG, J.; WILCKEN, D.E.L. Human Arterial Endothelial Cell Detachment in Vitro: Its Promotion by Homocysteine and Cysteine. *Atherosclerosis* 91:77-83, 1991.
119. SAEZ, G.; THORNALLY, P.J.; HILL, H.A.O.; HEMS, R.; BANNISTER, J.V. The Production of Free Radicals During the Autoxidation of Cysteine and Their Effect on Isolated Rat Hepatocytes. *Biochim.Biophys.Acta.* 719:24-31, 1982.
120. HEINECKE, J.W.; KAWAMURA, M.; SUZUKI, L.; CHAIT, A. Oxidation of Low Density Lipoprotein by Thiols: Superoxide-dependent and Independent Mechanism. *J.Lipid Res.* 34: 2051-2061, 1993.
121. PARTHARATHY, S. Oxidation of Low-density Lipoprotein by Thiols Compounds Leads to Its Recognition by the Acetyl LDL Receptor. *Biochem.Biophys. Acta.* 1987:337-340, 1987.

122. JACOB,N.; BRUCKERT, E.; GIRAL, P.; FOGLIETTI,M.J.; TURPIN, G. Cysteine is a Cardiovascular Risk Factor in Hyperlipidemic Patients. *Atherosclerosis* 146(1): 53-59,1999.
123. NORDSTROM, M.; KJELLSTROM. Age dependency of Cystathionine Beta-Synthase Activity in Human Fibroblast in Homocyst(e)inemia and atherosclerotik Vascular Disease. *Atherosclerosis* 94:213-221, 1992.
124. BOERS, G.H.; SMALS, A.G.; TRIJBELS, F.J.; LEERMAKERS A.I.;KLOPPENBORG, P.W.; Unique Efficiency of Methionine Metabolism in Premenopausal Women may Protec Against vascular Disease in the Reproductive Years. *J.Clin.Invest.* 72:1971-1976, 1983.
125. WOUTERS, MGAJ.; MOOREES, M.T.; VAN DER MOOREN, M.J.; BOERS G.H.J., SCHELLEKENS L.A. Plasma Homocysteine and Menopausal Status.*Eur.J.Clin.Invest.* 25:801-805,1995.
126. REFSUM, H.; NYGARD,O.; GUNNAR, K.; UELAND, P.M.; VOLLSET, S.E. The Hordaland Homocysteine Study: The Opposite Tails Odds Ratios Reveal Differential Effects of Gender and Intake of Vitamin Supplements at High and Low Plasma Total Homocysteine Concentrations. *J.Nutr.* 126:1244-1248,1996.
127. THOMSON, S.B.; TUCKER, D.J. Determination of Homocysteine in Urine. *J.Chromatog.* 338:201-208, 1985.
128. BLOOM, H.J.; BOERS, H.J.; ELZEN, J.P.A.M.; ROESSEL, J.J.M.; TRIJBELS, J.M.F.; TANGERMAN, A. Differences Between Premenopausal Women and Young Men in the Transaminaton Pathway of Methionine Catabolism, and the Protection Against Vascular Disease. *Eur. J.Clin.Invest.*, 18:633-638, 1988.

IX.ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Trabzon'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Derecik Bölge İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi Trabzon Lisesinde tamamladım. 1987 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde öğrenimime devam ettim. 1991 yılında mezun olduktan sonra, 1992 yılında G.Ü. Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 1995 yılında bu eğitimimi tamamladıktan sonra aynı yıl içerisinde fakültede doktora eğitimime başladım.



TR. YÖKTEKİ ÖZGEÇMİŞ KURULU
DOKÜMAN TRABZON İLİ MERKEZİ