

T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**BÖLGEMİZ HİPERTRİGLİSERİDEMİ HASTALARINDA  
GENETİK POLİMORFİZM HASTALIK İLİŞKİLERİNİN  
ARAŞTIRILARAK GENETİK YATKINLIK TARAMA  
TESTLERİNİN BAŞLATILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Emre TAŞKIN**

Samsun

Aralık-2009

T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**BÖLGEMİZ HİPERTRİGLİSERİDEMİ HASTALARINDA  
GENETİK POLİMORFİZM HASTALIK İLİŞKİLERİNİN  
ARAŞTIRILARAK GENETİK YATKINLIK TARAMA  
TESTLERİNİN BAŞLATILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Emre TAŞKIN**

Danışman: Prof. Dr. Hasan BAĞCI

Samsun

Aralık-2009

## TEŞEKKÜR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ), Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimim ve tez çalışmam sırasında bana her türlü desteği veren değerli danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Öğretim üyesi Prof. Dr. Hasan BAĞCI'ya öncelikle teşekkür ederim.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarımın tüm aşamalarında bana her konuda büyük destek veren ve büyük emeği olan OMU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ'e teşekkür ederim. Doktora eğitimim sırasında bilgilerini esirgemeyen OMU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD öğretim üyeleri Prof. Dr. Gülsen ÖKTEN'e, Prof. Dr. Mehmet ELBİSTAN'a ve Doç. Dr. Nurten KARA'ya teşekkür ederim. İstatistik çalışmalarında desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR'a, OMU Tıp Fakültesi Halk sağlığı AD araştırma görevlileri Dr. Özlem TERZİ ve Dr. Nilden ARSLAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında Moleküler Genetik Laboratuvarında desteklerini hiç esirgemeyen Sağlık Teknisyenleri Öznur MIRİK ve Mukadder AYDOĞDU'ya teşekkür ederim. Doktora eğitimim sırasında bulunduğum sitogenetik laboratuvarında desteğini gördüğüm Sağlık Teknisyeni Mustafa DÜZ ve Hanife AK'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda hasta kümesini tamamlamamda büyük katkısı olan değerli arkadaşım Dr. Kamil TURAN'a teşekkür ederim.

OMU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD'ındaki çalışma arkadaşlarım Araştırma Görevlileri Nevin KARAKUŞ'a, Şengül TURAL'a ve personel Neriman DÜZ'e ve Ayhan Yazıcı'ya teşekkür ederim.

Bu çalışmaya mali destek veren OMU Araştırma Fonu'na (Proje No:TB-404) teşekkür ederim. Araştırma görevlisi kadrosu tahsis ederek doktora eğitimimin büyük bir bölümünde beni destekleyen OMÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve kurumsal işlerimizi yürüten enstitü çalışanlarına teşekkür ederim.

Son olarak doktora eğitimim sırasında verdikleri manevi destek için tüm aileme ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

## ÖZET

# BÖLGEMİZ HİPERTRİGLİSERİDEMİ HASTALARINDA GENETİK POLİMORFİZM HASTALIK İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILARAK GENETİK YATKINLIK TARAMA TESTLERİNİN BAŞLATILMASI

Emre TAŞKIN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Aralık 2009

Günümüzde kan yağları yüksekliği ve bu duruma bağlı hastalık ve ölümler insan hayatında hem kalite düşüklüğüne neden olmakta hem de insan hayatını tehlikeye atabilmektedir. Kan yağları yüksekliğinin en sık yol açtığı hastalık ateroskleroza bağlı koroner kalp hastalığıdır.

Tüm kan yağı tiplerinde olduğu gibi kan trigliserit seviyesinde insanlarda hem etnik kümeler hem de bireyler arasında farklılıklar görülebilmektedir. Bu farklılıkların kaynağı beslenme, fiziksel alışkanlık vb gibi birçok genetik dışı etkenlere bağlı olabileceği gibi bireyin genetik özelliklerine de bağlı olabilmektedir.

Bu çalışmada Orta Karadeniz Bölgesinde yaşayan 140 yüksek trigliserit seviyesine sahip birey ve 182 normal trigliserit seviyesine sahip bireyde kan trigliserit seviyesini etkileyebilme olasılığı bulunan polimorfizmler incelenmiştir. APOA5 geninde c.56C>G, -1131T>C ve c.553G>T, APOC3 geninde ise -482C>T ve *SstI* olmak üzere toplam beş adet polimorfizm ÇZT-KPUP yöntemiyle çalışılarak bu polimorfizmlerle kan trigliserit seviyesi arasındaki ilişki veya ilişkiler araştırılmıştır. Olası polimorfizm ve trigliserit seviyesi arasındaki ilişkiler tanımlandıktan sonra ise bu polimorfizmlerin rutin genetik yatkınlık tarama testi olarak yürürlüğe konulma ihtimali amaçlanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre APOA5 -1131T>C polimorfizmi, APOC3 -482C>T polimorfizmi ve APOC3 *SstI* polimorfizmi Orta Karadeniz Bölgesinde yaşayan bireylerde yüksek kan trigliserit seviyesi ile sayımsal olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada ilişkili bulunan polimorfizmler ile önceki çalışmalarda ilişkili bulunan diğer

polimorfizmler birleştirilerek hipertrigliseridemiye yatkınlık tarama testlerinin uygulanması olası görünmektedir.

## SUMMARY

### INVESTIGATING THE RELATIONSHIP BETWEEN GENETIC POLYMORPHISM AND DISEASE IN HYPERTRIGLYCERIDEMIA PATIENTS FROM OUR REGION AND STARTING GENETIC SCREENING TESTS FOR SUSCEPTIBILITY

Emre TAŞKIN, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University Samsun, December 2009

Excess blood lipid levels and disorders of dyslipidemia not only reduce the quality of life but may also cause death. The most frequent condition which excess blood lipid levels cause is atherosclerosis that leads to coronary heart disease.

Like all blood lipid parameters, blood triglyceride levels may vary between human races as well as between individuals. These variations in blood triglyceride levels could arise due to environmental factors such as dietary habits or exercise, as much as due to the genetic factors.

In this study, 140 hypertriglyceridemic and 182 normolipidemic individuals from Middle Black Sea region were recruited for investigating the influence of polymorphisms that could potentially affect the blood triglyceride levels. A total of 5 polymorphisms located in two apolipoprotein genes, c.56C>G, -1131T>C and c.553G>T polymorphisms in APOA5 and -482C>T and SstI polymorphisms in APOC3 were investigated with PCR-RFLP method and the relation or relations between these polymorphisms and blood triglyceride levels were investigated. We aimed to use these polymorphisms in routine genetic testing in case that these polymorphic sites were correlated with high triglyceride levels.

The results obtained indicated that APOA5 -1131T>C, APOC3 -482C>T and APOC3 *SstI* polymorphisms were significantly associated with blood triglyceride levels in individuals from Middle Black Sea region. It seems that these polymorphisms as well as the other polymorphisms found to be associated with high blood triglyceride levels in previous studies could be used in screening tests for assessing the susceptibility to hypertriglyceridemia.

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. Hipertrigliseridemi</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1.1. Hipertrigliseridemilerin sınıflandırması</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1.1.1. Birincil Hipertrigliseridemi</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1.1.2. İkincil Hipertrigliseridemi</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1.2. Hipertrigliseridemi ve Ateroskleroz</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1.3. Hipertrigliseridemi ve Pankreatit</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1.4. Hipertrigliseridemide İlaç Dışı Tedavi</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1.5. Hipertrigliseridemide İlaç Tedavisi</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1.6.1. Fibratlar</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1.6.2. Statinler</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1.6.3. Niasin</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2. Apolipoprotein A-V Geni ve Proteini</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2.1. APOA5 Geni Bilgileri</b> .....	<b>10</b>
<b>2.3. Apolipoprotein C-III Geni ve Proteini</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4. İnsanlarda lipid metabolizması</b> .....	<b>13</b>
<b>2.4.1. Trigliseritler</b> .....	<b>13</b>
<b>2.4.2. Şilomikronlar</b> .....	<b>15</b>
<b>2.4.3. Kolesterol</b> .....	<b>17</b>
<b>2.4.4. Lipoproteinler</b> .....	<b>19</b>
<b>2.4.5. Lipoproteinlerin sınıflandırılması</b> .....	<b>20</b>
<b>2.4.6. Lipoproteinlerin Metabolizması</b> .....	<b>20</b>
<b>2.4.6.1. Ekzojen Lipoprotein Metabolizması</b> .....	<b>20</b>
<b>2.4.6.2. Endojen Lipoprotein Metabolizması</b> .....	<b>21</b>



2.4.7. Lipid metabolizması.....	22
2.4.8. Şilomikron Katabolizması.....	24
2.5. Lipoproteinler ve Ateroskleroz.....	25
2.5.1. LDL kolesterol ve Ateroskleroz.....	25
2.5.2. IDL kolesterol ve Aterosklerozis.....	27
2.5.3. Hipertrigliseridemi, VLDL Kolesterol ve Ateroskleroz.....	27
2.5.4. HDL kolesterol ve Ateroskleroz.....	28
2.6. Trigliseritler ve Ateroskleroz.....	28
2.6.1. Dislipidemi hakkında diğer bilgiler.....	29
2.7. İnsanlarda Kan Yağları Seviyelerini Etkileyen Lokuslarla İlgili Tüm Genom Bağlantı Çalışmaları.....	29
2.8 Literatürde APOA5 ve APOC3 Genleri ile Kan Lipit Seviyeleri Arasındaki Olası İlişkileri Araştıran Çalışmaların Özetleri.....	30
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>41</b>
3.1. Çalışma ve Kontrol Kümelerinin Oluşturulması, Kan örneklerinin ve Demografik Verilerin Toplanması.....	41
3.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler.....	42
3.3. DNA Eldesi.....	43
3.4. DNA Konsantrasyonunun Hesaplanması.....	45
3.5. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	46
3.6. Agaroz Jel Elektroforezinin Hazırlanması.....	47
3.7. Hasta ve Konrol Kümelerindeki Bireylerin Genotiplerinin Belirlenmesi.....	47
3.8. Sayımsal değerlendirme.....	52
3.8.1 Kullanılan yöntemin kontrolü.....	52
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>53</b>
4.1 Çalışma Ve Kontrol Kümelerindeki Bireylere Ait Demografik Verilerin Değerlendirmesi.....	53

<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>73</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>81</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>82</b>
<b>8. EKLER</b>	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## 1. GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde koroner arter hastalıklarına bağlı ölümler ilk sırada gelmektedir (Forester ve ark., 2001; Malloy ve ark., 2001). Aterosklerozun iyi bilinen nedenlerinden biri yüksek kan kolesterol seviyesidir. Yüksek kan trigliserit seviyesi ile koroner arter hastalık (KOH) oluşumu arasındaki ilişki kolesterol ile olan ilişki kadar güçlü değildir ancak yüksek kan trigliserit seviyesinde birkaç farklı yoldan KOH'a yol açabileceği tahmin edilmektedir (Assman ve ark., 1996; Austin ve ark., 1998; Malloy ve ark., 2001; Forester ve ark., 2001).

Kan trigliserit seviyesi hem beslenme tarzına bağlı olarak hem de populasyonlar ve bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılığın nedenlerinden biri de bireyler arasındaki genetik farklılıklardır. Ancak bireyler arasındaki trigliserit seviyesi farklılıkları Mendeliyen kurallara göre dağılım göstermemektedir (Pennacchio ve ark., 2002).

APOA1/C3/A4/A5 gen ailesi ve bu ailedeki polimorfizmler, insanlarda kan yağları seviyelerini etkileyebilmektedir. APOC3 genindeki *SstI* polimorfizmi oldukça sık çalışılmıştır ve birçok etnik populasyonda yüksek kan trigliserit seviyesi ile ilişkili bulunmuştur (Pennacchio ve ark., 2002). Bu çalışmada APOC3 geninde bulunan *SstI* ve -482C>T polimorfizmleri çalışılmıştır.

2001 yılında Pennacchio ve arkadaşları tarafından bulunan APOA5 geninde ise birçok polimorfizm tanımlanmıştır. APOA5 knock-out ve transgenik sıçanlarla yapılan çalışmalarda bu genin kan trigliserit seviyesini etkileyebileceği gösterilmiştir (Pennacchio ve ark., 2001). Bu çalışmada APOA5 geninde c.56C>G, c.553G>T ve -1131T>C polimorfizmleri çalışılmıştır.

Bu çalışmanın amacı APOA5 geninde üç adet, APOAC3 geninde ise iki adet olmak üzere toplam beş adet polimorfizmin incelenen populasyonda kan trigliserit seviyesi ile olası ilişkilerini araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. HİPERTRİGLİSERİDEMİ

Yuan ve ark.'na göre hipertrigliseridemi tanısı olan bireylerde kan trigliserit seviyesi hipertrigliseridemi olmayan bireylere göre yaş ve cinsiyet göz önüne alındığında %95'in üzerinde seyretmektedir (Yuan ve ark., 2007).

Trigliseritlerin ana kaynağı ekzojen olarak gıda ile alınan yağ, endojen olarak da karaciğerdir (Shiau ve ark., 1985). Gıda ile alınan trigliserit şilomikronlar ile, karaciğerden dolaşıma verilen trigliserit ise çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) ile taşınır (Schonfeld ve ark., 1971). VLDL'ler ve şilomikronlar kas dokusundaki ve yağ dokusundaki kapiller damarlarda lipoprotein lipaz özgeni tarafından serbest yağ asitlerine hidrolize edilirler (Nicoll ve ark., 1980). Öğün sonrası dolaşımdaki trigliseritlerin %90'ı gıda ile alınan ve bağırsaklardan dolaşıma verilen şilomikronlar halinde bulunurken, açlık halinde dolaşımdaki trigliseritler büyük oranda karaciğerden salınan VLDL'lerin yapısında bulunurlar (Karpe ve ark., 1995). Trigliseritler asıl olarak şilomikron ve VLDL'lerde bulunurlar, ancak az miktarda da olsa yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde (HDL) ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerde de (LDL) bulunurlar. Trigliseritten zengin lipoproteinlerin seviyesinin kanda artması bağırsaklardan yada karaciğerden dolaşıma verilmelerindeki artıştan ya da lipoprotein lipaz etkinliğinin azalmasına bağlı periferik olarak katabolize edilme oranlarının düşmesinden kaynaklanır (Yuan ve ark., 2007).

#### 2.1.1. Hipertrigliseridemilerin Sınıflandırılması

Fredrickson sınıflandırması (Tablo 1) tüm dislipidemileri (kan lipid parametreleri ile ilgili hastalıklar) içermektedir ve etiyolojik bir sınıflandırma değildir. Bu nedenle dislipidemileri birincil ve ikincil olarak sınıflandırmaz. Ayrıca Fredrickson sınıflandırması HDL'leri içermez (Fredrickson ve ark., 1965). Fredrickson sınıflandırması Dünya Sağlık Örgütü'nün de kabul ettiği sınıflandırma olmasına rağmen bugün birçok hekim ve araştırmacı tarafından terk edilme eğilimindedir.

**Tablo 1.** Hipertrigliseridemilerde Fredrickson sınıflandırması (Fredrickson ve ark., 1965)

<b>Tip</b>	<b>Bir gece bekletilmiş serum</b>	<b>Artan parçacık tipi</b>	<b>İlgili klinik hastalık</b>	<b>Total Kolesterol (TK)</b>	<b>Trigliserit (TG)</b>
<b>I</b>	Üst kısmı krema kıvamında	Şilomikron	LPL yetersizliği, APOC2 yetersizliği	N	Çok yüksek
<b>IIa</b>	Berrak	LDL	Ailesel hiperkolesterolemi, poligenik hiperkolesterolemi, nefrozis, hipotirodizm, ailesel kombine hiperlipidemi	Çok yüksek	Normal
<b>IIb</b>	Berrak	LDL, VLDL	Ailesel kombine hiperlipidemi	Çok yüksek	Yüksek
<b>III</b>	Bulanık	IDL (Intermediate Density Lipoprotein, Orta Yoğunluklu Lipoprotein)	Disbetalipoproteinemi	Yüksek	Yüksek
<b>IV</b>	Bulanık	VLDL	Ailesel hipertrigliseridemi, ailesel kombine hiperlipidemi, sporadik hipertrigliseridemi, diyabet	Normal, Yüksek	Çok yüksek
<b>V</b>	Üst kısım krema kıvamında alt kısım bulanık	Şilomikron, VLDL	Diyabet	Yüksek	Çok yüksek

Günümüzde daha çok kabul gören sınıflandırma ise Ulusal Kolesterol Eğitimi Programında açıklanan Yetişkin Tedavi Paneli III (ATPIII) sınıflandırmasıdır [Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP), 2002]. ATPIII sınıflandırmasında kümeler kardiyovasküler hastalık risk derecesine göre belirlenmiştir.

**Tablo 2.** ATPIII sınıflandırmasına göre hipertrigliserideminin derecelendirilmesi.

Trigliserit seviyesi	Derecelendirme	Düşünülmesi gereken ilk klinik durum
<150 mg/dl	Normal	
150 – 199 mg/dl	Sınırdaki yüksek	Metabolik sendrom
200 – 499 mg/dl	Yüksek	Koroner arter hastalık
≥ 500 mg/dl	Çok yüksek	Pankreatitis

Yuan ve ark. ise hipertrigliseridemiği birincil hipertrigliseridemi ve ikincil hipertrigliseridemi olarak iki sınıfa ayırmışlardır (Yuan ve ark., 2007).

#### 2.1.1.1. Birincil Hipertrigliseridemi

Birincil hipertrigliseridemi ailesel şilomikronemi ve birincil kombine (karışık) hiperlipidemide görülür. Öğün sonrası 12-14. saatlerde kanda hala yüksek seviyede şilomikronlar bulunmaktadır ve öğün arası trigliserit seviyesi 850 mg/dl'nin üzerindedir. Oysa normalde öğün sonrası bağırsaklardan dolaşıma verilen şilomikronlar kısa zamanda APOC2'nin koenzimi (koözgeni) olduğu lipoprotein lipaz (LPL) tarafından yıkılırlar. Ailesel şilomikronemi ve birincil karışık hiperlipidemide gözlenen klinik belirtiler ise ksantoma, lipemia retinalis, hepatosplenomegali, kısmi nörolojik belirtiler ve yüksek pankreatitis riski ile birlikte seyreden tekrarlayan epigastrik sancıdır (Yuan ve ark., 2007).

Ailesel şilomikronemi ve birincil karışık hiperlipidemi ayırımında yaş önemlidir. Ailesel şilomikronemi çocuklukta başlar, birincil karışık hiperlipidemi ise erişkinlerde görülür. LPL genindeki ve APOCII genindeki mutasyonlara bağlı LPL etkinliği yetersizliği ailesel şilomikronemide görülürken birincil karışık hiperlipidemide mutasyonlar daha seyrek görülür ve LPL yetersizliği çok daha düşük seviyededir. Birincil karışık hiperlipidemide plazma

kolesterol seviyesinde ailesel şilomikronemiye göre daha ciddi bir yükselme görülmektedir (Yuan ve ark., 2007).

Ailesel hipertrigliseridemi ise trigliserit içeriği şilomikronlar kadar yüksek olmayan VLDL lerin artışı ile tanımlanır. Ailesel hipertrigliseridemilerde tipik kan trigliserit seviyesi 260 - 850 mg/dl arasındadır (Yuan ve ark., 2007).

Ailesel kombine hiperlipoproteinemide ise birinci derece akrabalarından en az birinde anormal lipoprotein geçmişine ek olarak VLDL ve LDL seviyelerinde yükselme, HDL seviyesinde düşme gözlenir. Ailesel kombine hiperlipoproteinemide kalıtım otozomal dominant olmasına rağmen penetrans değişkendir. Etkilenen bireylerde genellikle LPL yada APOC3 mutasyonları görülür (Hegele RA., 2001).

Ailesel disbetalipoproteinemide ise en önemli belirti  $\beta$ -VLDL ve orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) olarak da bilinen trigliseritten zengin lipoproteinlerin kalıntılarındaki artıştır. Bu artış total kolesterol ve trigliserit ölçümlerine eşit oranda yansır (Walden ve ark., 1994). Bu hastalığın etkilediği bireyler APOE proteininin E<sub>2</sub> izoformu ile sonuçlanan homozigot mutasyon taşırlar. Homozigot mutasyon taşıyan bu bireylerde APOE proteinin 112 ve 158. sıralarında normal kişilerde bulunan argininler sistein ile yer değiştirmiştir. Ancak fenotipik ifadenin görülmesi için genellikle obezite, tip 2 diyabet veya hipotiroidizm gibi ikincil etkenlerin bulunması gerekmektedir (Walden ve ark., 1994).

### **2.1.1.2 İkincil Hipertrigliseridemi**

Bazı metabolik bozukluklar sıklıkla hipertrigliseridemiye yol açar, bunlardan en sık görüleni obezitedir. Ancak iyi yönetilmeyen tip 2 diyabet ve yüksek alkol tüketimi de sıklıkla hipertrigliseridemiye yol açar. Normalin üzerinde visceral yağ dokusuna sahip bireylerde kan trigliserit seviyesi genellikle yüksek ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDLK) seviyesi de düşük seyredir. Bel çevresi 90 cm'nin üzerinde olan yada trigliserit seviyesi 170 mg/dl'nin üzerinde seyreden erkek bireylerde tipik olarak kardiyovasküler hastalık belirteci olan üçlü görülür. Bu üçlü hiperinsülinemi, yüksek APOB seviyesi, küçük ve yoğun LDL partikülleridir. Bu üçlü kardiyovasküler hastalık riskini 20 kata kadar yükseltebilir (Lemieux ve ark., 2000).

İnsülinin glukozun dokulara geçişini sağlayamaması, ve insülin duyarlılığının kompanse edilememesi, tip 2 diyabetin altında yatan nedenlerdir. Tip 2 diyabeti olmayan insüline dirençli bireylerde oluşan hiperinsülinemi nedeniyle oluşan bir dizi metabolik bozukluk durumu metabolik sendrom olarak tanımlanır. Metabolik sendromla birlikte obezite, ileride gelişecek olan tip 2 diyabetin güçlü habercileridir. Metabolik sendrom glukoz toleransında bozulma, özellikle trigliserit seviyesinin 150 mg/dl'nin üzerinde olması ve HDLK'un düşük seyrettiği dislipidemi ve hipertansiyon ile karakterizedir (ATPIII, 2001). Gerek metabolik sendrom ve gerekse tip 2 diyabetde görülen hipertrigliseridemi, şilomikronemi ile birlikte veya tek başına kanda artan VLDL miktarı, yetersiz LPL etkinliği, artan kolesteril ester transfer protein etkinliği ve serbest yağ asitlerinin karaciğere yoğun girişi nedeniyle oluşur (Pollex ve ark., 2006). Yağlı karaciğere sahip bireylerde obezite ve insülin direncinin eşlik ettiği durumlarda hipertrigliseridemi sıklıkla görülür (Yuan ve ark., 2007).

Aşırı alkol tüketimine bağlı hipertrigliseridemide de plazmada yüksek miktarda VLDL görülür. Ancak yüksek oranda alkol tüketen bazı hastalarda adaptasyon nedeniyle artan LPL etkinliğine bağlı olarak hipertrigliseridemi gelişmeyebilir (Yuan ve ark., 2007).

Hipertrigliseridemiye neden olan diğer bir klinik durum ise nefrotik sendromdur. Her ne kadar LDLK artışı nefrotik sendromda ilk sırada gelirse de VLDL de dahil olmak üzere APOB içeren lipoproteinlerde nefrotik sendromlu kişilerde artış gözlenir. Kaysen ve ark. renal hastalık ve lipoprotein metabolizması arasındaki ilişkiyi derinlemesine incelemiştir (Kaysen ve ark., 1999). Temel mekanizma muhtemelen lipoproteinlerin karaciğer tarafından aşırı sentezlenmesine koşut olarak böbreklerden kaybedilen proteinin telafi edilmesi amacıyla albümin sentezinin artmasıdır. Üremide de ayrıca üremik metabolitlerin toksik etkisiyle lipolizin bozulmasına bağlı olarak VLDL seviyesinde artış gözlenir (Yuan ve ark., 2007).

Aşırı alkol tüketimine bağlı olmayan karaciğer yağlanması olan hastaların üçte birinde hepatosteatoz gelişebilmektedir (Clark ve ark., 2006; Farrell ve ark., 2006). Lipotoksisite, oksidatif stres, sitokinler ve inflamasyon medyatörleri karaciğerde steatoz durumundan steatotik hepatit durumuna geçişi tetiklerler. Aşırı alkol tüketimine bağlı olmayan dislipideminin ayırıcı tanısı yükselen trigliserit seviyesi ve baskılanan HDLK seviyesi ile kendini belli eder.



Hipotiroidizm de her ne kadar kan LDL seviyesinin yükselmesiyle ilişkilendirilse de, trigliserit seviyesinde de yükselme görülebilir. Lenfoma, lenfatik lösemi gibi paraproteinemilerde ve sistemik lupus eritematozis gibi otoimmün hastalıklarda da muhtemelen lipolizin immün aracılı baskılanmasına bağlı olarak hipertrigliseridemi gelişebilir (Yuan ve ark., 2007).

### **Hipertrigliserideminin Diğer Nedenleri**

- Obezite
- Metabolik sendrom hastalarında trigliserit seviyesinin >150mg/dl olması
- Enerji giriş-çıkış dengesinin pozitif olması, yüksek yağlı diyet alışkanlığı, yüksek glisemik indeksli diyet alışkanlığı
- Yetersiz fiziksel etkinlik
- Alkol tüketimi
- Diyabet, özellikle tip 2 olması
- Başta üremi ve glomerulonefrit olmak üzere böbrek hastalıkları
- Hipotiroidizm
- Gebeliğin özellikle 3. trimesterinde fizyolojik trigliserit miktarının 2 katına çıkması
- Paraproteinemi ve lupus eritematozis gibi otoimmün hastalıklar.
- Kortikosteroid, östrojen, tamoksifen, antihipertansifler, izotretinoin, safra asiti bağlayıcıları, siklofosfamid gibi ilaçların kullanımı.

#### **2.1.2. Hipertrigliseridemi ve Ateroskleroz**

Orta seviyedeki hipertrigliserideminin kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk etkeni olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Criqui ve ark., 1993; Hokanson ve ark., 1996). On yılı aşkın süre boyunca takip edilen ve binlerce bireyden oluşan bir çok çalışma populasyonunun verilerinin birleştirilmesinden oluşan meta analiz sonuçları göstermektedir ki, kan trigliserit seviyesindeki 88 mg/dl (1 mmol/L) miktarındaki artış HDLK seviyelerinden bağımsız olarak kardiyovasküler hastalık riskini erkeklerde %32, kadınlarda ise %76 oranında arttırmaktadır (Hokanson ve ark., 1996).

Ateroskleroza yatkınlık oluşturan metabolik ve biyokimyasal mekanizmaların karmaşıklığı trigliserit ve ateroskleroz arasındaki sebep sonuç ilişkisinin direk olarak kurulmasını zorlaştırmaktadır. Ateroskleroza yatkınlık oluşturan bu metabolik ve biyokimyasal mekanizmalar obezite, tip 2 diyabet, kanda düşük HDLK seviyesi, kanda yüksek LDL seviyesi, kanda yüksek serbest yağ asidi seviyesi, hiperinsülinemi, yüksek plazma vizkozitesi, inflamatuvar moleküllerin artması, protromboz vb. mekanizmalardır (Hodis ve ark., 1999; Criqui ve ark., 1993; Hokanson ve ark., 1996). Bu mekanizmalar da ayrıca sıklıkla kan trigliserit seviyesinin artmasına neden olabilmektedirler.

Trigliseritten zengin lipoproteinler ve bunların kalıntıları arter duvarlarındaki köpük hücrelerin oluşumuna direk katkıda bulunabilirler. Şilomikronlar direk olarak aterojenik değildir, ancak hiperşilomikronemili hastalarda ateroskleroz bildirilen çalışma bulunmaktadır (Benlian ve ark., 1996). Şilomikron kalıntıları, VLDL ve IDL lipoproteinler aterojeniktirler (Zilversmit, 1979). Yeni anlayışa göre öğün sonrası lipemi ateroskleroz için bağımsız bir risk etkenidir ancak rutin örnek alma ve ölçüm yöntemleri öğün arasına göre ayarlandığı için trigliserit seviyesinin postprandiyal ölçümü uygulamada yapılamamaktadır ve tanım değeri yoktur.

### **2.1.3. Hipertrigliseridemi ve Pankreatit**

Pankreatitlerin klinik olarak önemli ama küçük bir yüzdesinden sorumlu olan hipertrigliseridemi pankreatit riskini yükselten bir etkidir (Santamarina-Fojo, 1998; Toskes, 1990; Athyros, 2002; Yadav, 2003). Az miktardaki bazı hastalarda açlık kan trigliserit seviyesi 440–880 mg/dl arasında olduğunda pankreatit gelişse de şilomikronların da bulunduğu 880 mg/dl sınırının üzerindeki hastalar klinik olarak anlamlı risk seviyesindedirler (Santamarina-Fojo, 1998; Toskes, 1990; Athyros, 2002; Yadav, 2003). Pankreasın ekzokrin olarak lipaz sentezleme kapasitesini aşması hipertrigliseridemilerdeki pankreatit gelişimini açıklayıcı bir ipucu olabilir.

#### **2.1.4. Hipertrigliseridemide İlaç Dışı Tedavi**

Hipertrigliseridemili bireylerde sıklıkla kardiyovasküler hastalık riskini arttıran hastalıklardan olan obezite, insülin direnci, hipertansiyon ve diyabetin eşlik ettiği görülür. Tedavide vücut ağırlığının azaltılması, diyet ve egzersiz tavsiye edilir. Verilen diyetle vücut ağırlığını düşürmeye yönelik düşük enerjili, yağ ve karbonhidrat içeriği az olan gıdalar seçilmelidir. Alkol tüketimi varsa azaltılmalı yada tamamen bitirilmelidir. Şiddetli hiperşilomikroneminin de eşlik ettiği durumlarda gıda ile yağ alımı toplam alınan enerjinin %10-15 seviyelerinde tutulmalıdır (ATPIII, 2001). Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitimi Programı günlük diyetde karbonhidrat oranının %55 – 60, protein oranının %15 – 20 olmasını, toplam yağın %30 ve doymuş yağ oranının da %7'yi geçmemesini önermektedir (ATPIII, 2001). Hastalardaki diyetle ve kilo kaybı ile birlikte kan trigliserit seviyesindeki cevap olarak ortalama %25 oranında bir düşüş izlenmektedir (Gerhard ve ark., 2004).

Akdeniz mutfağının ve balık etinin bileşenlerinden olan omega-3 yağ asidinin günde 4 g olarak tüketilmesi gıdadaki azaltılmış enerji ve doymuş yağ asidi ile birleştirildiğinde plazma trigliserit seviyesinde %20'ye kadar düşüş sağlayabilmektedir (Hooper ve ark., 2006).

#### **2.1.5. Hipertrigliseridemide İlaç Tedavisi**

Hipertrigliserideminin ilaçla tedavisinde genel yaklaşım diyetle ek olarak tek bir ilaçla başlamaktır. Tek ilaca yanıt vermeyen inatçı hipertrigliseridemilerde kombine tedaviye geçilebilir ancak serum kreatin kinaz, transaminaz ve kreatininin sık sık kontrol edilmesi tavsiye edilir (Yuan ve ark., 2007).

##### **2.1.6.1. Fibratlar**

Fenofibrat gibi fibratlar hipertrigliserideminin tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaç kümesidir (Barter ve ark., 2006). Fibratlar plazma trigliserit seviyesini %50 oranında düşürebilmekte ve plazma HDLK seviyesini %20'ye kadar yükseltebilmektedir. Fenofibratlar VLDL'lerin karaciğerden dolaşıma verilme oranını azaltırlar ve plazma trigliseritlerinin lipolizini arttırlar (Rubins ve ark., 2002). Aynı zamanda LDL miktarında düşme ve HDLK miktarında artış da sağlarlar (Frick ve ark., 1987).

### 2.1.6.2 Statinler

Statinler özellikle yüksek dozlarda kullanıldığında kan trigliserit seviyesinde ciddi düşüşler sağlayabilirler. Ancak kan trigliserit seviyesi 440 mg/dl üzerinde olan hastalarda ilk tercih edilen ilaç değildir. Statinlerin özellikle tip 2 diyabetli hastalarda koroner kalp hastalığı oranlarında azalma sağladığı bildirilmektedir (Gami ve ark., 2003; Topol ve ark., 2004).

### 2.1.6.3 Niasin

Günlük 3 grama kadar tüketilen niasin (nikotik asit) plasma trigliserit seviyesini %45'e kadar düşürebilir, HDLK seviyesini %25'e kadar arttırabilir ve LDLK seviyesini %20'ye kadar düşürebilir (Carlson, 2005). Ancak niasin sıklıkla baş dönmesi, deride kızarıklık ve kaşıntıya sebep olabilmektedir. Bu yan etkiler tedaviye düşük dozla başlanarak ve beraberinde hastaya asetilsalisilik asit verilerek veya Niaspan gibi uzun etkili preparatlar kullanarak önlenbilir (Carlson, 2004).

## 2.2. APOLİPOPROTEİN A5 GENİ VE PROTEİNİ

İnsanlarda apolipoprotein A-V (APOA5, APOA-V, APOAV, RAP3) (MIM: 606368) geni 11q23'te bulunmaktadır (Pennacchio ve ark., 2001). APOA5 geni ilk kez 2001 yılında Pennacchio ve arkadaşlarının çalışmasıyla tanımlanmıştır. Pennacchio ve ark. sıçan ve insan genomlarını karşılaştırma yöntemiyle 11. kromozomun uzun kolunda daha önceden iyi bilinen APOA1/C3/A4 gen ailesinine yakın konumda APOA5 genini belirlemişlerdir (Pennacchio ve ark., 2001).

### 2.2.1 APOA5 Geni Bilgileri

- NCBI GeneID: 116519
- HUGO Gene Nomenclature Committee ID: 17288
- Konumu: 11q23
- GenBank: AF202889.1
- Proteinin ağırlığı: 41212 Da
- Genin nükleotit sayısı: 4155 (NCBI, Entrez nucleotide)
- Amino asit sayısı: 366
- Ekzon sayısı: 3

Pennacchio ve arkadaşları 2001 yılında sıçanlardaki ortolog APOA1/C3/A4 gen ailesi yakınındaki yaklaşık 200 kilobazlık bir bölgeyi evrimsel olarak korunmuş ve fonksiyonel potansiyeli olan genomik DNA'yı ortaya çıkarmak için dizilemişlerdir (Pennacchio ve ark., 2001). Türler arasında korunmuş ortak dizileri göz önüne alarak APOA1/C3/A4 gen ailesinden sentromere doğru olan 30 kilobazlık bir bölgede apolipoprotein ailesinin yeni bir üyesi olabileceği (APOA5) tahmin edilen bir dizi tanımlanmıştır. Bu dizi, sıçan EST (Expressed Sequence Tags) veri bankası ile karşılaştırıldığında ise eşleşme olduğu görülmüş ve dizinin transkripsiyonu yapılan bir dizi olabileceği tahmin edilmiştir. Bu dizideki EST'lerin ilişkilendirme çalışmaları 1107 baz içeren 4 ekzonlu bir ORF (AOP, Açık Okuma Penceresi) tanımlanmasını sağlamıştır. Bu DNA dizisine karşılık gelen 368 amino asitlik proteinin diğer apolipoproteinlere benzerlik gösterdiği görülmüştür. En çok da (%24 aynılık ve %49 benzerlik) APOA4 proteinine benzerlik göstermiştir. Bu benzerliği takiben ortolog insan genomik dizisi ile yapılan karşılaştırmada sıçandeki APOA5 dizisine büyük oranda benzer bir dizi olduğu görülmüştür ve 366 amino asitlik bir proteine karşılık gelen bir AOP'nin varlığı tespit edilmiştir. Sonrasında yapılan tahmini yapısal protein analizinde (çözümleme) hem insan APOA5 hemde sıçan APOA5 proteinlerinde lipid bağlayan proteinlerin tipik özellikleri olan birkaç amfipatik (hidrofobik) helikal (sarmal) bölge ve bir amino-terminal sinyal peptidi öngörülmüştür. Hem insan hem de sıçanlardaki farklı dokulardan elde edilen mRNA'lar ile yapılan northern blot sonuçlarına bakılarak APOA5 geninin hem sıçanda hem de insanda karaciğer dokusunda ifade edildiği görülmüştür (Baroukh ve ark., 2004).

APOA5 geninin fonksiyonunu belirleyebilmek amacıyla insan APOA5 geni knock-out ve insan APOA5 geni transgenik sıçanlar oluşturulmuştur. APOA5 transgenik sıçanlarda kontrollere göre kan trigliserit seviyelerinde üçte bir oranında düşme, APOA5 knock-out sıçanlarda ise kontrollere göre kan trigliserit seviyesinde 4 kat artış gözlenmiştir. Artış gösteren lipoproteinlerin hızlı protein sıvı kromatografisi (FPLC) ve gradient jel elektroforezi (GGE) ile yapılan çözümlerinde VLDL miktarlarında artış olduğu gözlenmiştir. Heterizogot knock-out sıçanlarda ise VLDL seviyesi homozigot knock-out ve kontrol sıçanlarınkinin yarısı olduğu gözlenmiştir (Pennacchio ve ark., 2001; Pennacchio ve ark., 2003).

### 2.3. APOLİPOPROTEİN C-III GENİ VE PROTEİNİ

- NCBI GeneID: 345
- HUGO Gene Nomenclature Committee ID: 610
- Konumu: 11q23
- GenBank: NM\_000040.1
- Proteinin ağırlığı: 10852 Da
- Genin nükleotit sayısı: 10164 (NCBI, Entrez nucleotide)
- Amino asit sayısı: 99
- Ekzon sayısı: 4

Lipoprotein lipaz özgeni (LPL), gıda ile alınan yağların bağırsaklardan dolaşıma verilen biçimi olan şilomikronların ve dolaşımda bulunan lipoproteinlerin bileşimindeki trigliseritleri hidrolize ederek serbest yağ asitlerine parçalar. APOC3 proteininin ana etkinliği LPL'yi baskılayarak trigliseritlerin hidroliz seviyesini azaltmasıdır. LPL üzerinde en çok baskılayıcı etkisi olan moleküllerden birinin APOC3 olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 1985). APOC3'ün LPL'yi baskılama etkisinden sorumlu olan bölgesinin molekülün N-terminal ucunun olduğu sentetik polipeptitlerin kullanıldığı çalışmayla gösterilmiştir (McConathy ve ark., 1992). APOC3'ün ek olarak başka özgenler üzerinde de etkileri vardır. Örneğin hepatik lipaz özgenini de baskıladığı *in vitro* olarak gösterilmiştir (Kinnunen ve ark., 1976). APOC3'ün APOE aracılı LDL reseptörü üzerinde orta seviyede, APOB aracılı LDL reseptörü üzerinde ileri seviyede, hepatik lipaz reseptörü üzerinde ileri seviyede ve LPL üzerinde de ileri seviyede baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (Havel ve ark., 1973; Landis ve ark., 1987; Sehayek ve ar., 1991; Clavey ve ark., 1995).

APOC3 proteini karaciğer ve bağırsakta ifade edilmektedir. Plazmada en çok bulunan C serisi apolipoproteinlerdir. Yapısal çözümlene çalışmaları APOC3'ün lipoproteinlerin yüzey fosfolipidlerine, proteinin C-terminal bölgesine yakın 50 ve 69. amino asitlerin oluşturduğu amfipatik heliks yapısı ile bağlandığını göstermiştir (Trieu ve ark., 1995). APOC3 proteini insanlarda öğünler arasında en çok HDL'lerin bileşiminde, öğün sonralarında ise şilomikron ve VLDL'lerin bileşiminde bulunurlar (Mahley ve ark., 1984). Ancak metabolize olan HDL ve VLDL'lerin bileşiminde bulunan APOC3 miktarının %30 ila %60'ı aynı kalmaktadır (Bukberk ve ark., 1985; Tornoci ve ark., 1993).

Kültüre edilen sıçan karaciğer hücrelerinde gösterilmiştir ki, trigliseritten zengin lipoproteinlerin APOE aracılı olarak karaciğer hücrelerine alımı APOC3 tarafından baskılanmaktadır (Quarfordt ve ark., 1982).

İki ayrı laboratuvar tarafından yapılan insan APOC3 transgenik sıçan modelleri çalışmaları yayınlanmıştır (Ito ve ark., 1990; de Silva ve ark., 1994). İnsan APOC3 transgenik sıçanlarda VLDL trigliserit seviyesinin ciddi miktarda artış gösterdiği gözlenmiştir. Bu sıçanlarda VLDL'lerde bulunan trigliseritlerin serbest bırakılması yüksek miktardaki APOC3 nedeniyle gerçekleşmemektedir. VLDL metabolizmasında normal bir aşama olan VLDL'lerdeki APOC'lerin yerine APOE geçmesi de yeterli etkinlikte gerçekleşmemektedir (de Silva ve ark., 1994; Aalto-Setälä ve ark., 1992; Aalto-Setälä ve ark., 1996). İnsan APOC3 transgenik sıçanlar ile insan APOE transgenik sıçanların çaprazlanmasından elde edilen sıçanlarda ise trigliserit seviyesinin normal düzeylerde olduğu gözlenmiş, bu sonuç APOC3 transgenik sıçanlardaki VLDL'lerin parçalanmalarındaki seviyelerinin düşük olmasının bu sıçanlarda APOE/APOC3 oranının düşük olmasıyla açıklanmıştır (de Silva ve ark., 1994; Aalto-Setälä ve ark., 1996). Ancak daha güncel çalışmalarda APOC3 transgenik sıçanlardaki hipertrigliserideminin APOE/APOC3 oranındaki düşüklük nedeniyle değil APOC3 miktarındaki artma nedeniyle olabileceği gösterilmiştir (Jong ve ark., 1999). APOE knock-out sıçanlarda çok yüksek miktarlarda plazma VLDL miktarları tespit edilmiştir (Jong ve ark., 1997). APOE knock out sıçanlar ile APOC transgenik sıçanların çaprazlanmasından elde edilen sıçanlarda ise plazmada trigliseritten zengin VLDL'lerin çok yüksek miktarlara çıktığı görülerek oluşan hipertrigliserideminin APOC3 miktarındaki yükselme nedeniyle olduğu düşünülmüştür (Ebara ve ark., 1997).

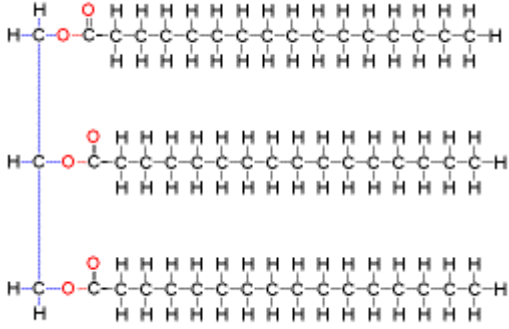
## **2.4. İNSANLARDA LİPİD METABOLİZMASI**

İnsanlarda lipid metabolizmasına katılan bileşenler trigliseritler, şilomikronlar, kolesterol ve lipoproteinlerdir.

### **2.4.1. Trigliseritler**

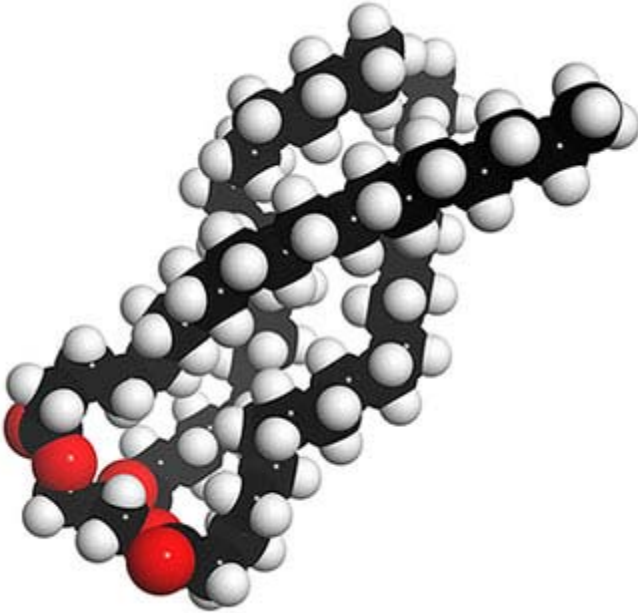
Trigliseritler (TG, triaçilgliserol) gliserol molekülünün üç adet OH grubunun her birine birer adet serbest yağ asiti bağlanmasıyla oluşur (Şekil 1 ve 2). Yağ asitleri gliserol

molekülüne ester bağıyla bağlanırlar. Trigliseritler lipoprotein lipaz özgeninin etkinliği ile bir adet gliserol ve 3 adet serbest yağ asidine parçalanırlar (Nelson ve ark., 2005).



**Şekil 1.** Trigliseritin düzlemsel yapısı

(<http://www.fishoilandomega3.co.uk/images/triglyceride.gif>)



**Şekil 2.** Trigliseridin konformasyonel yapısı



(<http://www.3dchem.com/imagesofmolecules/Triglyceride.jpg>)

Trigliseritler insanların gıda ile tükettiği yağlar içerisindeki en büyük kümeyi oluşturur. Gıda ile alınan yağların emilimi duodenumdan yapılır. Ancak duodenumdan yapılan emilim trigliseritlerin gıda içinde buldukları moleküler yapıları ile gerçekleşemez. Duodenumdan ancak monogliseritler, (bir adet gliserol ve bir adet serbest yağ asidinin birleşmesiyle oluşur) bazı digliseritler ve serbest yağ asitleri emilir (Ros E., 2000).

Trigliseritler şilomikronların ve VLDL'lerin ana bileşenleridir. Enerji metabolizmasında ve gıda ile alınan yağların dokular arası taşınmasında görev yaparlar. Gıda ile alınan trigliseritler bağırsak içerisinde lipazlar ve safra aracılığıyla monogliserit ve serbest yağ asitlerine parçalanarak bağırsak hücreleri içine alınırlar. Bu parçalanma işlemine lipolizis adı verilir. Bağırsak hücreleri içine alınan serbest yağ asitleri ve gliserol molekülleri bu hücreler içerisinde tekrar trigliserit yapısına dönüştürülürler. Yeniden oluşturulan trigliseritler bağırsak hücreleri içerisinde kolesterol ve proteinlerle birleşerek şilomikronları oluştururlar. Şilomikronlar lenf dolaşımı ile bağırsak hücrelerinden çıkarak başta karaciğer olmak üzere diğer dokulara taşınırlar. Birçok doku şilomikronlardan trigliseritleri ayrıştırarak bu trigliseritleri enerji kaynağı olarak kullanır. Karaciğer ve yağ dokuları şilomikronlardan ayrıştırdıkları trigliseritleri depolayabilirler. Enerji kaynağı olarak trigliseritlere ihtiyaç duyulduğunda glukagon hormonu lipaz özgenini harekete geçirerek trigliseritlerden serbest yağ asitlerinin ayrışmasını sağlar. Serbest yağ asitleri kaslarda enerji kaynağı olarak kullanılabilirler ancak beyin enerji kaynağı olarak glukozu kullandığı için, trigliseritlerin parçalanmasıyla açığa çıkan gliserol molekülleri glukoneogenesis ile glukozla dönüştürülebilirler. Trigliseritler kan dolaşımından hücre içerisine direk olarak alınamazlar. Kılcal damarların duvarlarında bulunan hücrelerdeki lipoprotein lipaz özgeni sayesinde gliserol ve serbest yağ asitlerine parçalanarak hücre içerisine alınırlar (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

#### **2.4.2. Şilomikronlar**

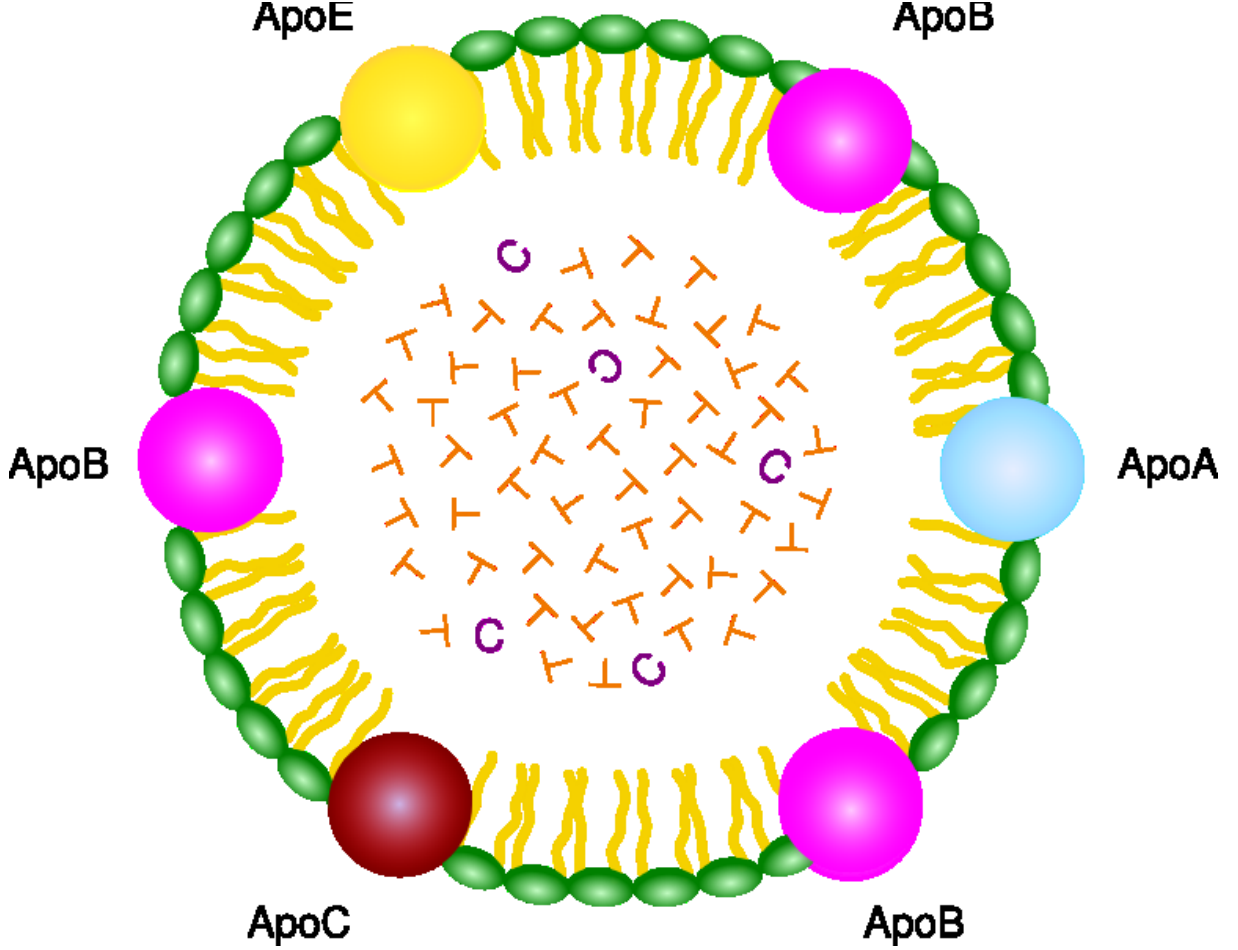
Şilomikronlar, VLDL, IDL, LDL ve HDL'ler ile birlikte gıda ile alınan yağların oluşturduğu kümenin beş üyesinden biridir (Şekil 3). Şilomikronlar yağların ve kolesterolün kan dolaşımı vasıtasıyla karaciğer, yağ dokusu, kalp kası, ve iskelet kaslarına taşınmasını

sağlarlar. Bu dokulara taşınan trigliseritler lipoprotein lipaz özgeni aracılığıyla şilomikronlardan ayrışır (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Bağırsak hücrelerinde oluşturulan şilomikronlar ilkel şilomikronlardır ve bu şekilleriyle lenf sistemine verilirler. Lenf sistemine giren şilomikronlar lenf sisteminin en büyük damarı olan torasik kanal'dan sonra subklaviyal ven yoluyla kan dolaşımına girerler. İlkel şilomikronlar %85 oranında trigliseritlerden az miktarda da kolesterol ve kolesterol esterlerinden oluşurlar. İlkel şilomikronların ana apolipoprotein bileşeni APOB-48'dir (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Gerek lenf gerekse de kan dolaşımında şilomikronlar yapıtaşlarını HDL'ler ile değiştirirler. HDL'ler yapılarında bulunan APOC3 ve APOE'leri ilkel şilomikronlara aktararak olgun şilomikronlar haline gelmelerini sağlarlar. Şilomikronlara aktarılan APOC2'nin önemi lipoprotein lipaz etkinliğinde kofaktör olarak görev yapmasıdır (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Şilomikronlar trigliserit içeriklerini kaybettiklerinde APOC2'lerini HDL'lere verirler ancak APOE'leri kendi yapılarında kalır. Bu haliyle şilomikron artık şilomikron artığıdır. Şilomikron artıkları karaciğerde APOB-48 ve APOE bileşenleri ile tanınarak yıkılırlar. İlkel bir şilomikron 75-1200 nanometre büyüklüğünde iken şilomikron artıkları 30-50 nm büyüklüğündedir (Redgrave., 2003)

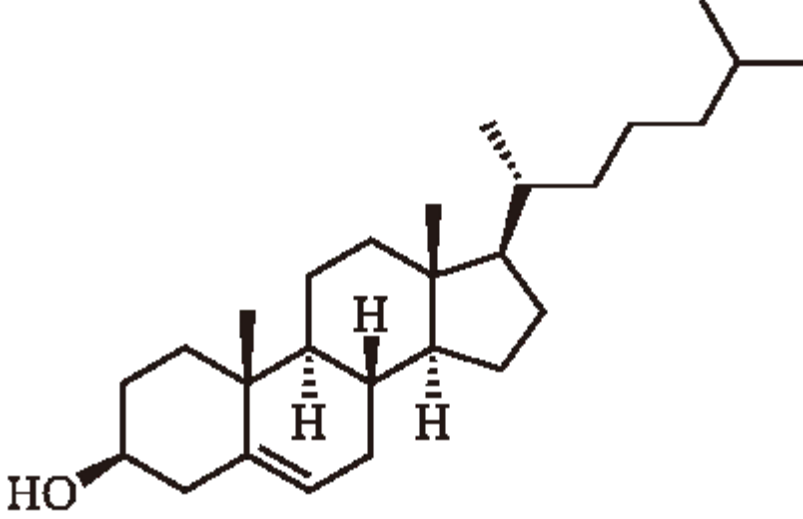


Şekil 3. Şilomikron.

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d1/Chylomicron.svg/770px-Chylomicron.svg.png>)

### 2.4.3. Kolesterol

Kolesterol, çekirdeğini 4 halkanın oluşturduğu 27 karbonlu bir moleküldür ve steroid yapısındaki moleküllerin sterol kümesine dahildir. Plazmada taşınır ve hücre zarlarının ana bileşenlerinden biridir. Hücre zarına seçici geçirgen yapısını veren moleküllerden biridir. Kolesterol ayrıca safra asitleri, steroid hormonlar ve yağda çözünen bazı vitaminlerinde öncül molekülleridir (Vance ve ark., 2008)



**Şekil 4.** Kolesterol molekülünün 2 boyutlu yapısı.

(Kaynak = <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/87/Kolesterol.png>)

Kolesterol ökaryot organizmalarda sentezlenebilmektedir. Kolesterolün hidroksil grubu membran fosfolipidlerinin ve sfingolipidlerin polar gruplarıyla etkileşir. Kolesterolün halkalardan oluşan steroid grubu ve hidrokarbon zinciri ise diğer lipidlerin polar olmayan yağ asidi zincirleriyle karşı karşıya gelecek şekilde hücre membranına gömülü durumdadırlar. Hücre zarındaki kolesterol aynı zamanda hücre içi taşıma, hücre haberleşmesi ve sinirsel iletimde de görev yapar. Kolesterol Vitamin D ve kortizol, aldosteron, progesteron, östrojen ve testosteron gibi steroid hormonlar için öncül molekül olarak da görev yapar (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Kolesterol karaciğerde, bağırsaklarda, adrenal bezlerde ve üreme organlarında sentezlenir. Organlar tarafından yapılan bu sentez, gıda ile alınan kolesterolün miktarına göre artırılarak yada azaltılarak sabit oranda tutulmaya çalışılır (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Kolesterol suda çok çok az miktarda çözündüğü için kanda lipoproteinlerle taşınır. Lipoproteinler büyük küresel moleküllerdir iç kısımlarında yağda çözünen trigliserit ve

kolesterol taşırlar dış kısımları ise suda çözünebilen amfifilik yapıdadır (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

#### **2.4.4. Lipoproteinler**

Yoğunluk artışına göre sıralanırsa, şilomikronlar, VLDL'ler, IDL'ler, LDL'ler, HDL'lerdir. Lipoproteinler lipidlerden ve proteinlerden oluşan moleküllerdir. Molekül içindeki lipid-protein bağı kovalent yada nonkovalent olabilmektedir. Birçok özgen, yapısal protein ve antijenler lipoproteinlerdir. Lipoproteinlerin görevi lipidleri ve kolesterolü kan dolaşımı içinde taşımaktır (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Şilomikronlar trigliseritleri bağırsaklardan karaciğere, kaslara ve yağ dokularına taşırlar. VLDL'ler yeni sentezlenen trigliseritleri karaciğere yağ dokusuna taşır. LDL'ler kolesterolü karaciğere vücuttaki diğer hücrelere taşır. HDL'ler ise kolesterolü vücuttaki dokulardan alarak karaciğere taşır (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

Lipoproteinlerin dış kısımlarında fosfolipidlerden, kolesterolden ve apoproteinlerden oluşan hidrofilik gruplar bulunur. İç kısımda ise trigliseritler ve kolesterol esterleri bulunur. Lipoproteinlerin yüzeylerinde bulunan proteinler lipoprotein molekülünün kandaki özgenlerle, kendi aralarında ve lipoproteinlerin bileşiminde bulunan trigliserit ve kolesterolün hücre içine alınıp alınmayacağını belirleyen hücre yüzey proteinleriyle etkileşmesini sağlarlar (Nelson ve ark., 2005; Vance ve ark., 2008).

### 2.4.5. Lipoproteinlerin sınıflandırılması

Lipoproteinlerin sınıflandırılması Tablo 3’de özetlenmiştir.

**Tablo 3.** Lipoproteinlerin sınıflandırılması

(<http://biochemistryquestions.wordpress.com/2008/08/23/structure-and-classification-of-lipoproteins/>)

Lipoprotein tipi	Büyükklük (nm)	Yoğunluk (g/ml)	Trigliserit içeriği (% ağırlık)	Fosfolipit içeriği (% ağırlık)	Kolesterol (% ağırlık)	Protein (% ağırlık)	Ana apolipoprotein içeriği
Şilomikron	75-1200	0.94	80-95	3-6	3-7	1-2	A1, A4, B48, C1, C3, E, A5
VLDL	30-70	0.94-1.006	45-65	15-20	20-30	6-10	B100, E, C1, C2, C3
IDL	25-50	1.006-1.019	27-35	17-19	18-26	9-11	E, B100, C3
LDL	18-30	1.019-1.063	4-8	18-24	51-58	18-22	B100
HDL	5-12	1.063-1.21	2-7	26-32	18-25	45-55	A1, A2, E

### 2.4.6. Lipoproteinlerin Metabolizması

Lipoprotein metabolizması ekzojen ve endojen lipoprotein metabolizması olarak ikiye ayrılır.

#### 2.4.6.1 Ekzojen Lipoprotein Metabolizması

Ekzojen lipoprotein metabolizması gıda ile alınan yağların bağırsaklardan emilimi ile başlar. Bağırsaklardan emilen kolesterolün miktarını düzenleyen mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir. Bağırsak hücrelerine alınan serbest yağ asitleri gliserol ile birleşerek trigliseritleri oluştururlar, kolesterol ise açıl-kolesterol açıl transferaz tarafından esterleştirilerek kolesterol esterleri haline getirilir. Bu lipidler bağırsak hücreleri içerisinde şilomikronlar olarak birleştirilirler. Şilomikronların ana apolipoprotein bileşeni B48’dir. Ancak APOC2 ve APOE de şilomikronların dolaşıma girebilmeleri için gereklidir. APOB48 şilomikron molekülüne lipid bağlanmasını sağlar ancak şilomikronun LDL reseptörüne

bağlanmasına izin vermez. Bu sayede şilomikronların dolaşımında gerekenden erken olarak parçalanması engellenmiş olur.

APOC2 ise LPL enziminin lipoprotein içindeki trigliseritleri serbest yağ asitlerine hidrolize ederek parçalaması için gereken kofaktördür. Açığa çıkan serbest yağ asitleri enerji üretiminde kullanılabilir, dokularda tekrar trigliseride çevrilebilir yada yağ dokusunda depolanabilirler. Trigliserit içeriğini kaybederek şilomikron artığı haline gelen molekülleri taşıdıkları APOE ile karaciğer hücreleri tarafından alınır. Karaciğerde şilomikron artıkları taşıdıkları yüzey bileşenlerinden arındırılarak HDL haline getirilirler (Rosenson., 1995)

#### **2.4.6.2. Endojen Lipoprotein Metabolizması**

Endojen lipoprotein metabolizması karaciğerde VLDL'lerin sentezi ile başlar. VLDL'lerin kütle olarak %60'ı trigliserit %20'si kolesterol esterlerinden oluşur. Hücre içinde endoplazmik retikulumda bulunan trigliserit transfer proteini trigliseritlerin endoplazmik retikuluma girişini sağlar (Raabe ve ark., 1999). VLDL'lerde bulunan APOC2 LPL özgeni için kofaktör olarak görev yapar, APOC3 LPL özgenini inhibe eder, APOB100 ve APOE ise LDL'lerdeki APOB ve APOE almaçları için ligand görevi yapar (Rader ve ark., 1994).

Bileşimindeki trigliseritler LPL tarafından parçalanmış VLDL'ler artık IDL olarak adlandırılırlar. Yüzeylerinde bulunan fosfolipit, esterleşmemiş kolesterol, APOA, APOC ve APOE proteinleri HDL'lere aktarılır. IDL'ler aynı zamanda hepatik trigliserit lipaz özgeni vasıtasıyla LDL'lere de dönüştürülebilirler.

LDL'ler kolesterol esterleri az miktarda trigliserit ve APOB/E almaçları için ligand olan APOB100 proteinlerince zenginleştirilirler. LDL'ler çeşitli dokular tarafından alınabilirler. Karaciğer hücreleri tarafından alınan LDL'lerdeki kolesterol safra asitleri yapımında kullanılabilir. Karaciğer dışındaki dokular tarafından alınan LDL'lerdeki kolesterol ise hormon üretiminde ve hücre membranı yapımında kullanılabilir yada esterleşmiş halde depo edilebilir.

Hücrelerdeki kolesterol ihtiyacının belirlenmesi LDL APOB/E almaçlarının negatif geri beslemeleri ile kontrol edilir (Brown ve ark., 1986). Kolesterol fazlası olan hücreler APOB ve APOE genleri ifadesini azaltarak hücre içine kolesterol alım seviyesini düşürürler.

Dolaşımdaki LDL makrofajlara ve çöpçü almaçlar sayesinde diğer dokulara da girebilir. Kolesterolün izlediği bu yol hücre içinde aşırı kolesterol birikimine ve dolayısıyla yağ hücresi oluşumuna sebep olur. İçinde çok miktarda kolesterol bulunan yağ hücreleri ise ateromatöz

plaklar oluşturabilirler. İnsanlarda LDL alması genindeki mutasyonlar ailesel hiperkolesterolemi hastalığına neden olurlar (Rosenson, 1996).

#### **2.4.7 Lipid metabolizması**

Karaciğerden bağırsak boşluğuna salgılanan fosfolipidler, safra asitleri gıda ile bağırsaklara gelen lipidleri emülsiyon durumuna dönüştürerek mikroskopik miselleri oluştururlar. Pankreas tarafından üretilerek bağırsak boşluğuna verilen lipaz özgeni ise gıdada bulunan yağları bağırsak hücreleri tarafından emilebilir formlar olan serbest yağ asitleri, monoaçilgliseritler ve esterleşmemiş kolesterole dönüştürürler. Serbest yağ asitleri ve monoaçilgliseritler pasif difüzyon ve taşıyıcı moleküller aracılığıyla bağırsak hücrelerine alınır (Neeli ve ark., 2007). Bağırsak hücreleri içerisinde bu bileşikler esterleştirilerek şilomikronlar haline getirilirler. Şilomikronlarda yapısal olarak en çok trigliseritler az miktarda da hem esterleşmiş hemde esterleşmemiş kolesterol bulunur. Şilomikronlar lenf yoluyla kan dolaşımına verilirler. Şilomikronlar iki aşamalı parçalanma geçirirler. Birinci aşamada şilomikronlar kan dolaşımı ile çevresel dokuların kapiller damarlarına ulaştıklarında bir kısmı yağ asitleri olarak yağ dokuda depo edilirken bir kısmı da enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere kas dokularına gider. Kas dokularında, şilomikronların bir kısmının içindeki trigliseritler endotel hücreleri içinde LPL tarafından parçalanarak serbest yağ asitlerine ayrılarak enerji kaynağı olarak kullanılabilir duruma gelirler. İkinci aşamada ise trigliserit içeriğini kaybeden şilomikronlar kolesterol esterleri bakımından zengin hale gelmiş olurlar ve şilomikron kalıntıları olarak adlandırılırlar ve kan dolaşımına verilirler. Kan dolaşımındaki bu şilomikron kalıntıları ise karaciğer hücreleri tarafından alınarak uzaklaştırılırlar (Williams, 2008).

Bağırsak hücrelerinde APOB bağımlı yolla endoplazmik retikulumda APOB-48 taşıyan lipoproteinler, trigliserit ve kolesterol içerikleri ile birlikte paketlenirler. Endoplazmik retikulum içerisinde başlangıçta küçük olan molekül içeriği zenginleştikçe büyür ve yüzeyinin kararlılığını sağlamak için fosfolipit ve APOA4 ile kaplanır. Bu partiküller daha sonra Golgi aygıtına aktarılarak lipidler bakımından daha da zenginleştirilirler ve şilomikron haline gelirler. Bağırsak hücrelerine giren kolesterolün bir kısmı ve kolesterol olmayan sterollerin tümü vücuttan atılmak üzere bağırsak boşluğuna geri verilirler. APOB bağımsız yolla ise esterleşmemiş kolesteroler hücre içine alınarak ABCA1 (kolesterol akışını kontrol eden protein) taşıyıcı molekülleri vasıtasıyla hücre membranından dışarı gönderilerek hücreler



arasında bulunan APOA1 ile bağlanmaları sağlanır. Esterleşmemiş kolesterolün hücreler arasında bulunan HDL partiküllerine de APOA1 ile birlikte bağlanmaları sağlanır. Buradaki APOA1 hem bağırsakta sentezlenir hemde dolaşım yolu ile gelebilir (Williams, 2008).

Şilomikronlarda bulunan APOB organizmada iki formda var olabilir. İlki karaciğerde sentezlenen yapısal olarak tam uzunluktaki APOB-100 formudur. Karaciğerden dolaşıma verilen VLDL ve LDL'lerde bu form vardır. APOB-100 proteininin C terminal ucunda LDL almacının tanıdığı bir domain bulunmaktadır. İkinci form olan APOB-48 ise bağırsak hücrelerinde sentezlenir. APOB-48 proteininde bulunan C terminal uç ise APOB-100'ün C terminal ucundan %52 daha kısadır (Pulai ve ark., 1997). Hem APOB-100 hemde APOB-48 proteinlerinin transkripsiyonu aynı genden yapılmaktadır. Ancak "APOB mRNA işleme özgeni" isimli bir özgen tarafından APOB-100 mRNA'sının uzunluğunun yaklaşık ortalarına gelen bir bölgede sitozin-urasil değişimine yol açarak çerçeve içinde erken bir dur kodonu oluşturur (Fisher ve ark., 2002).

Gerek bağırsak hücrelerinde gerekse karaciğer hücrelerinde lipoproteinlere eklenecek olan trigliseritler ve kolesterol esterleri diaçilgliserol açıltransferaz ve açilkolesterol açıltransferaz-2 özgenleri vasıtası ile yapılır. Lipoprotein moleküllerinin endoplazmik retikulumdaki olgunlaşmaları ise mikrozomal trigliserit transfer proteini aracılığı ile olur. Lipidlerin APOB ile bağlanarak lipoprotein haline gelmesinde bağırsak hücrelerinde şilomikronlar için karaciğer hücrelerinde ise VLDL'ler için ikinci bir adım daha bulunmaktadır (Cartwright ve ark., 2001; Gusarova ve ark., 2003; Stillemark-Billton ve ark., 2005). Karaciğerde yeni oluşan apolipoproteinlerin APOB ile bağlanmaları için hem APOB-48'de hem de APOB-100'de bulunan bir motife ihtiyaç duymaktadır, ancak bağırsak hücreleri için böyle bir motifin gerekliliği henüz bildirilmemiştir. Tam olarak hazır hale gelen şilomikronlar (APOB-48'li lipoproteinler) bağırsak hücrelerinin membranından salgı kesecikleri halinde ekzositozla lenf damarlarına verilirler (Williams, 2008).

Bağırsak hücrelerinde ayrıca gelişmekte olan lipoproteinlerin yüzeyine bağlanması için hidrofobik bir protein olan APOB4 proteini de sentezlenmektedir. Şilomikronlar kan dolaşımına ulaştıklarında yüzeylerinde bulunan APOA4 proteini ilerideki lipolizis aşamasına hazırlık için APOC ve APOE'ler ile yer değiştirirler (Hockey ve ark., 2001; Neeli ve ark., 2007). Q360H gibi APOA4 proteinin lipoproteine olan ilgisini arttıran polimorfizmler APOC

ve APOE ile olan yer değiştirmeyi engelleyerek ya da geciktirerek hipertrigliseridemiye yol açabilirler (Hockey ve ark., 2001).

İnsanlarda APOB-100 sadece karaciğerde APOB-48 ise sadece bağırsaklarda sentezlendiği için aterosklerozda görülen APOB'nin tipine bakılarak kaynağı tespit edilebilir (Pulai ve ark., 1997). APOB taşıyan lipoproteinlerin her biri sadece bir adet APOB molekülü taşırlar. Bu sayede APOB-48 veya APOB-100 kütesine bakılarak partikül sayısı tahmin edilebilir. Bol yağlı bir öğünden sonra kan trigliserit yoğunluğundaki yükselmenin %80'inden büyük bölümünden şilomikronlarda bulunan APOB-48 sorumlu iken partikül sayısının yaklaşık %80'i APOB-100 lipoproteinlerinden oluşur (Adiels ve ark., 2008). Bağırsaklardaki bir insülin direnci veya diyabet hastalığının olması durumunda sentezlenen APOB-48 sayısında artış görölmektedir (Williams, 2008).

#### **2.4.8. şilomikron Katabolizması**

Yağ dokusu ve çizgili kas dokusundaki kapiller endotele bağlanan etkin durumdaki LPL şilomikronlardaki ve VLDL'lerdeki trigliseritleri hidrolize ederek yerel ve sistemik olarak kullanılacak olan serbest yağ asitlerinin oluşmasını sağlar (Olivecrona ve ark., 1987; Wang ve ark., 1992). LPL tarafından hidrolize edilen şilomikronlar daha küçük kolesteril esterlerinden zengin lipoprotein kalıntılarına dönüşürler ve tekrar dolaşıma verilirler. In vitro çalışmalar kültüre edilen endotel hücrelerinin yüzeylerinde LPL'ı bağlayıcı moleküller olarak heparan sülfat proteoglikanlarının bulunduğunu göstermektedir (Olivecrona ve ark., 1987). şilomikronların hidrolizinde LPL'nin kofaktörü olarak APOC2 görev yapar. LPL'ın baskılayıcıları olan insanlardaki APOC3 ve APOA2'de oluşabilen polimorfizmler öğün sonrası lipoprotein metabolizmasında bozukluklara yol açarlar (López-Miranda ve ark., 2006). Kapiller endotel hücreleri LPL sentezlemezler, özgeni daha alt doku katmanındaki yağ dokusundan ve çizgili kas hücrelerinden alırlar (Wang ve ark., 1992).

LPL'nin etkinliğinin sınırlı olması nedeniyle şilomikronlardan elde edilen ürünler yağ dokusunda depolanırlar yada enerji elde etmek üzere çizgili kas hücrelerine gönderilirler. Yapılan bir çalışmada LPL'nin kas dokusunda aşırı ifade edildiği sıçanlarda şilomikronların lipolizinin yağ dokudan çizgili kas dokuya kayması sonucu gıda kaynaklı obezitenin engellendiği görölmüştür (Jensen ve ark., 1997). İnsanlarda da benzer bir fizyolojik durum söz konusudur. LPL etkinliğinin çizgili kas ve yağ dokuda farklı etkileri olmaktadır. Tok

karnına ve dinlenme durumunda LPL etkinliği daha çok yağ dokuda, aç karnına ve çalışma durumunda ise daha çok çizgili kas dokuda olmaktadır (Blanchette-Mackie ve ark., 1989; Hamilton ve ark., 2007).

2001 yılında keşfedilen apolipoprotein A5 ise kanda diğer apoproteinlere göre çok daha düşük oranda bulunmaktadır. Örneğin APOA1 seviyesinin %0.02'si oranında bulunurlar. Bu oran daha önceki çalışmalarda neden gözden kaçtığını açıklamaktadır. Apoprotein A5 trigliseritlerin LPL aracılı hidrolizinde görev yapmaktadır (Pennacchio ve ark., 2001).

## **2.5. LİPOPROTEİNLER VE ATEROSKLEROZ**

Premature koroner hastalığa maruz kalan bireylerin %70'inden fazlasında dislipidemi bulunduğu tahmin edilmektedir (Genest ve ark., 1992).

### **2.5.1. LDL kolesterol ve Ateroskleroz**

Lipoproteinlerin hücre içine girişini sağlayan birkaç tip almaç bulunmaktadır. Hayvanlarla yapılan bir çalışmada, çöpçü, LDL ve VLDL almaç mRNA'larının aterosklerotik lezyonlarda yüksek oranlarda bulunduğu, ve bu oranın yüksek olmasının düz kas hücrelerinden ve makrofajlardan oluşan köpük hücrelerinin oluşumunda etkili olabileceği gösterilmiştir (Hiltunen ve ark., 1998).

Dolaşımda bulunan ve APOB/E almaçları yoluyla dokulara girmeyen LDL'leri makrofajlar çöpçü reseptörleri yoluyla hücre içine alabilirler (Brown ve ark., 1986; Steinberg ve ark., 1989). Bu almaçlardan en önemlisinin CD36 olduğu düşünülmektedir (Podrez ve ark., 2000; Febbraio ve ark., 2000). LDL'lerin bu almaçlar tarafından hücre içine alınması için oksidasyonu da içeren biyokimyasal değişim geçirmeleri gerekmektedir. Oksidasyon arter içindeki endotel hücrelerinde, makrofajlarda, düz kas hücrelerinde ya da T-lenfositlerde gerçekleşebilir ve APOB'deki bir lizin amino asitini değiştirir.

LDL'lerin oksidasyonu isoprostanların oluşumuna neden olur. İsoprostanlar kimyasal olarak kararlı, prostaglandinlerin yapısal izomerleridir. Esansiyel yağ asitlerinin özellikle de araşidonik asitin serbest radikallerce katalizlenmiş peroksidasyon ürünleridir. İzoprostanlar lipid peroksidasyonunu yansıtırlar ve hiperkolesterolemide ve aterosklerozisde oksidatif stresin belirteçleridir. Aterosklerotik lezyonlarda isoprostanların miktarı artmıştır ve köpük hücrelerinde ve hücre dışı matrikste bulunurlar (Pratico ve ark., 1997).

LDL'lerin oksidasyonu antioksidan olan flavinoidler gibi fenolik bileşiklerce baskılanabilir.

Okside olan LDL partikülleri farklı etkileri nedeniyle aterosklerozise neden olabilirler (Steinberg ve ark., 1989; Podrez ve ark., 2000). Bu etkiler aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

- Okside olan LDL partikülleri monositler için kemotaksiktirler. Bu monositler daha sonra doku makrofajlarına dönüşürler. Doku makrofajları ise mobiliteelerini kaybedip damar duvarında kalabilirler. Hiperkolesterolemili hastalarla yapılan aferez çalışmasında, hiperkolesterolemili hastalarda endotelial yapışkanlık seviyesini arttıran endotelial lökosit adezyon molekül-1 ve hücrelerarası adezyon molekül-1 seviyelerinin arttığı, aferezden sonra ise bu moleküllerin seviyelerinin azaldığı görülmüştür (Sampietro ve ark., 1997).
- LDL kolesterol seviyesinin arttığı tüm durumlarda makrofajlar içindeki modifiye LDL miktarı da artar (Brown ve ark., 1986). Kolesterolde zenginleşen bu hücreler artık köpük hücreleridir ve parçalandıklarında, içlerinde bulunan okside olmuş LDL'ler, hücre içi özgenler ve serbest oksijen radikalleri damar duvarına zarar verirler. Okside olmuş LDL'ler CPPP32'ye benzer proteaz özgenini etkinleştirerek damar duvarında bulunan endotel hücrelerini apoptoza sevk ederler. Bu mekanizma da hasara yanıt olarak ateroskleroza neden olur (Dimmeler ve ark., 1997).
- Okside olan LDL endotel fonksiyonlarını bozarak nitrik oksit salınım düzeyini düşürür, asetilkoline olan vazorelaksasyon seviyesini düşürür ve endotele bağlı vazodilatasyon seviyesini azaltır (Chin ve ark., 1992; Anderson ve ark., 1996; Mathew ve ark., 1997). Yüksek miktardaki kolesterolün nitrik oksite bağlanarak onu inaktive eden serbest oksijen radikallerinin oluşumunu artırdığı gösterilmiştir. (Andrews ve ark., 1987; Mangin ve ark., 1993). Serbest oksijen radikalleri miktarındaki artış, hem okside olmuş hemde okside olmamış LDL'lerin sebep olduğu L-arginin (nitrik oksit öncülüdür) miktarındaki azalma ile tetiklenen nitrik oksit sentezindeki dengesizlik nedeniyle de olabilir (Vergnani ve ark., 2000).
- Okside olan LDL platelet agregasyonu ve tromboksan salınımını da arttırarak vazokonstrüksiyon ve damar içi trombus oluşumunu sağlar (Hassal ve ark., 1983). LDL ayrıca plateletlerdeki nitrik oksit sentez hızını da düşürerek platelet etkinliğini ve agregasyonunu hızlandırır (Pedrano ve ark., 1992; Chen ve ark., 1996). Endotel hücrelerinin hasarı sonucunda platelet yapışması ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunu sağlayan sitokin

salınımında artış oluşur. Böylece köpük hücresi, platelet formasyonu ve düz kas hücresi proliferasyonu hepsi bir arada aterosklerotik plak oluşumuna katılırlar (Ross., 1993).

- Bir diğer mekanizma da anjiyotensin 2 tip 1 alması miktarındaki artıştır (Nickenig G., 1997). Bu alan ise bir LDL alması olan LOX-1 almasını uyararak hücre içine LDL girişini hızlandırır (Morawietz ve ark., 1999). Kolesterol düşürücü ilaç grubu olan statinler anjiyotensin 2 tip 1 alması etkinliğini azaltarak etki eder.

### **2.5.2. IDL kolesterol ve Aterosklerozis**

Her ne kadar ateroskleroz oluşumunda ana etken LDL olsa da yapılan çalışmalarda kandaki IDL seviyesinin de diğer etkenlerden bağımsız olarak koroner kalp hastalığı riskini arttırdığı gözlenmiştir (Krause ve ark., 1987; Kugiyama ve ark., 1999). IDL'de LDL gibi makrofajlar tarafından hücre içine alınabilir ve köpük hücre formasyonu oluşturarak koroner damarların endotele bağılı vazomotor fonksiyonlarını bozabilir (Kugiyama ve ark., 1998).

### **2.5.3. Hipertrigliseridemi, VLDL Kolesterol ve Ateroskleroz**

Hipertrigliseridemini koroner hastalık riski ile olan ilişkisi henüz kesinleşmiş değildir (Garber ve ark., 1994). Hipertrigliseridemini HDL seviyesinin düşmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle koroner hastalık riskinin artmasının sorumlusu olarak HDL seviyesinin düşük olması düşünülebilir (Garber ve ark., 1994). Ancak trigliseritlerin aterojenik olduğu durumlar da olabilir. Örneğin hipertrigliseridemili hastalarda VLDL partikülleri APOE bakımından zengindirler. Bu hastalarda VLDL partiküllerinde APOE seviyesinin yüksek olması VLDL'lerde konformasyonel değişimlere yol açarak makrofajlardaki çöpü alanlara bağlanmalarını sağlar ve okside olmuş LDL'lerdekine benzer bir etki ile makrofaj içine aşırı VLDL girmesine neden olur (Gianturco ve ark., 1990).

Hipertrigliseridemili hastalardaki bir diğer mekanizma da aşırı APOB üretilmesiyle oluşan mekanizmadır. Bu hastalarda trigliserit seviyesindeki normal bireylerde bulunan LDL'lerden farklı olarak LDL'ler daha küçük ve yoğundurlar (DeJager ve ark., 1993). Küçük ve yoğun LDL partikülleri LDL reseptörüne bağlanmada daha isteksizdirler. Bu sayede de küçük ve yoğun LDL partiküllerinin yarı ömürleri uzayarak dolaşımda daha uzun süre kalırlar. Bu ise oksidatif modifikasyona maruz kalma ve sonrasında da makrofajlardaki çöpü alanlarca alınma riskini artırır (Nigon ve ark., 1991).

Hipertrigliseridemi ayrıca kan vizkozitesini ve koagülasyon riskini arttırarak aterotromboza katkı yapabilir (Rosenson ve ark., 1994).

#### 2.5.4. HDL kolesterol ve Ateroskleroz

HDL'ler LDL ve VLDL'nin aksine anti-aterojenik özellikler gösterirler. HDL'ler kırmızı hücrelerin şekil değiştirmeleri üzerindeki seçici etkileri ile ters kolesterol taşınmasında, endotel hücre fonksiyonlarının sürdürülmesini, tromboza karşı korunmayı ve kan vizkozitesinin düşük seviyede tutulmasını sağlarlar (Tall ve ark., 1990; Rosenson ve ark., 1995; Rosenson ve ark., 1996; Duverger ve ark., 1996). Ters kolesterol taşınmasında hücrelerdeki ve aterosklerotik plaklardaki fazla kolesterol uzaklaştırılır. Burada apoprotein A1 etkin rol oynar. Sıçan modellerinde insan APOA1 somatik gen transferi yapılarak sıçanların aterosklerozdan korunduğu, var olan aterosklerozislerin ise gerilediği görülmüştür (Benoit ve ark., 1999; Tangirala ve ark., 1999).

HDL ve APOA1 ayrıca eritrositlerde hücre membranının kararlılığını sağlayarak kalsiyum aracılı prokoagülant oluşumunu baskırlar (Rosenson ve ark., 1996). Membranın kararlılığının sağlanması protrombin aktivasyonu için gerekli olan anyonik lipidlerin zar üzerinden difüzyonunu engeller.

## 2.6. TRİGLİSERİTLER VE ATEROSKLEROZ

APOA5'in trigliserit seviyesini düşürebileceği üzerine birkaç mekanizma önerilmektedir. Bu mekanizmalardan bir tanesi karaciğer hücrelerinde VLDL sentezlenmesi ve salgılanmasına olan etki, diğeri de trigliseritten zengin lipoproteinlerin artan katabolizmasıdır. LPL özgeni heparinle kaplı bir yüzeye bağlandığı zaman, APOA5 varlığı durumunda trigliseritlerin hidrolizinin anlamlı derece arttığı gösterilmiştir . APOA5'in heparine yüksek derecede ilgisi olduğu ve LPL'nin heparin kaplı yüzeylere bağlanma etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle, *in vivo* olarak APOA5'in, trigliseritten zengin lipoproteinlerin LDL aracılı lipolizisin başlıca yapıldığı damar endotel hücrelerinde heparin sülfat proteoglikanlarına bağlanmasını artırdığı öngörülmektedir (Young ve ark., 2007). Heparin sülfat proteoglikanları, hücre membranlarında bulunan ve pıhtılaşmada görev yapan bir molekül kümesidir.

Trigliseritden zengin lipoproteinler LDL almaçları aracılığı ile karaciğer hücrelerine, mozaik tip-1 (SorLA) almaçları aracılığı ile de damarlardaki düz kas hücrelerine alınır (Young ve ark., 2007). Nilsson ve ark. gerek serbest gerekse lipidlere bağlı bulunan APOA5'in hem LDL almacağına hemde mozaik tip-1 almacağına kalsiyum aracılı olarak bağlandığını gösterdiler (Nilsson ve ark., 2007). Önceden heparin ile muamele edilmesi durumunda ise APOA5'in hem LDL almacağına hem de mozaik tip-1 almacağına bağlanma oranını azalttığı görülmüştür. Heparinin bu etkisi ise LDL almacağı ve mozaik tip-1 almacağına bağlanmada APOA5 ile yarış halinde olduğunu düşündürmüştür. Mutant APOA5 moleküllerinin ise hem heparine hemde LDL almacağına zayıf bağlanma gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada APOA5 ile bağlanmış LDL almacağı ve mozaik tip-1 almacağı kaplı algılayıcı çiplere şilomikron bağlanmasında artış olduğu gözlenmiştir. Nilsson ve ark.'nın yaptığı bu çalışma APOA5 için daha önceden öngörülen etkinlik mekanizmasını desteklemektedir.

### **2.6.1. Dislipidemi hakkında diğer bilgiler**

İnsanlar yaşlandıkça, bilişsel fonksiyonların korunması ile olumlu lipid ve glukoz profilleri pozitif korelasyon göstermektedir (Atzmon ve ark., 2002; Barzilay , 2006; Atzmon ve ark., 2006). Örneğin insanlarda 100 yaş ve üstü bireylerde bilişsel yeteneklerin yüksekliğinin plazma HDL-K seviyesi ile pozitif korelasyon, plazma trigliserit seviyesi ile de negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Atzmon ve ark., 2002).

## **2.7. İNSANLARDA KAN YAĞLARI SEVİYELERİNİ ETKİLEYEN LOKUSLARLA İLGİLİ TÜM GENOM BAĞLANTI ÇALIŞMALARI**

İnsanlarda kan yağları seviyesini etkileyen lokuslarla ilgili tüm genom bağlantı çalışmalarının sonuncusu 2009 Ocak ayında yayınlanmıştır. Bu çalışmada total kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserit seviyelerini etkileyen lokuslar 16 farklı popülasyonda araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen toplam birey sayısı 22562'dir. Bu bireyler 18-104 yaş arasındaydılar ve Avrupa'nın farklı coğrafik bölgelerinde yaşamaktaydılar. Bu çalışmada kan yağları seviyelerini etkileyen önceki çalışmalarda tamamlanan 16 lokusa ek olarak 6 ek lokus daha tanımlanmıştır. Bu altı lokustan üç tanesinde kan yağları seviyesine olan etki cinsiyetler arasında farklılık göstermiştir.

Aulchenko ve ark.'nın yaptığı bu çalışmada total kolesterol için 11 bölge ilişkili bulunmuştur ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) ve bunlardan sekizinin daha önceki tüm genom bağlantı çalışmalarında LDL veya trigliserit seviyeleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir, üç tanesi ise son

yapılan bu çalışmada bildirilmektedir. LDL için, ilişkili bulunan 8 lokustan üçü önceden bilinmemekteydi. HDL için 8 lokus ilişkili bulundu ve bunlardan 2 tanesi ilk kez tanımlandı. Trigliserit seviyesi için ise bu çalışmada ilişkili bulunan 7 lokusun tümü daha önceki çalışmalarda da ilişkili bulunmuştur. Yeni tanımlanan lokuslardan iki tanesinde sadece birer adet tek nükleotit polimorfizmi (TNP) tüm genom bakımından anlamlı bulunmuştur. Ancak bu iki lokus içinde de diğer TNP'ler için belirlenen  $p < 5 \times 10^{-8}$  değerine ulaşılmasa da fikir verici birçok TNP saptanmıştır (Aulchenko ve ark., 2009).

Aynı çalışmada tüm genom ölçeğinde bir ağ çözümü yapılarak lipit metabolizmasındaki biyolojik yollarla olabilecek muhtemel ilişkiler de araştırılmıştır. Buradaki tüm genom ölçekli ağ çözümlemesinde amaç araştırılan genleri Gene Ontology ([www.geneontology.org](http://www.geneontology.org)) temelinde yolları ile birlikte sıraya koyarak lipit seviyeleri ile en çok ilişkili bulunan genlerin yollarını listelemektir. Çözümlemede kullanılan bu teknik, tüm genom ölçekli transkript verilerinden elde edilen sinyallerin yollarının analizinde kullanması ile aynıdır. Buradaki tüm genom ölçekli network analizi total kolesterol ile ilişkilendirilen TNP'lerde uygulanmıştır. Her bir gen için en çok ilişkili bulunan TNP değerlendirmeye alınmıştır. İki ana yolak total kolesterolle ilişkili genleri kolesterol ve sterol metabolizmasıyla, lipit taşıyıcılarıyla ve bireylerin gıdalara olan yanıtlarıyla ilişkilendirmiştir.

2009 yılı Ocak ayında 19840 bireyin katıldığı başka bir tüm genom ölçekli çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada 11 tanesi ilk kez olmak üzere lipoprotein seviyelerini etkileyen 30 tane lokus bildirildi ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ). 11 tane yeni lokusdan 4 tanesi LDL-kolesterol seviyesi ile, 6 tanesi HDL-kolesterol seviyesi ile ve 3 tanesi ise trigliserit seviyesi ile ilişkili bulunmuştur (Kathiresan ve ark., 2009).

## **2.8 LİTERATÜRDE APOA5 VE APOC3 GENLERİ İLE KAN LİPİT SEVİYELERİ ARASINDAKİ OLASI İLİŞKİLERİ ARAŞTIRAN ÇALIŞMALARIN ÖZETLERİ**

- 1) Delgado-Lista ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada APOA1/C3/A4/A5 gen kümesindeki 9 adet polimorfizmin postprandiyal durumdaki bireylerde kandaki lipid seviyeleri üzerine etkileri olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre APOA1 genindeki -2803A>G pozisyonundaki polimorfizmi (rs2727784) homozigot olarak bulunduran bireylerde ve APOA4-APOA5 genler arası bölgede bulunan T>C polimorfizminin en az bir alelini taşıyan bireylerde (rs1263177) postprandiyal lipeminin sınırlı derecede olduğu görülmüştür.



APOA4 N147S (c.440G>A, rs5104) ve APOA4 (c.87G>A, rs5092) alellerinin en az bir tanesini taşıyan bireylerde ise portprandiyal olarak APOA1 seviyelerinin anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür (Delgao-Lista ve ark., 2009).

- 2) Yapılan bir çalışmada Tayvanda yaşayan 667 kişilik Çinli bir populasyonun APOA5 -1131T>C polimorfizminin kan trigliserit seviyesi ve HDL-kolesterol seviyesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre -1131C alelini taşıyan bireylerde trigliserit seviyesinin anlamlı derece yüksek ( $p<0.001$ ), HDL-kolesterol seviyesinin ise anlamlı derece düşük olduğu bildirilmiştir ( $p<0.013$ ). c.553G>T polimorfizminde ise c.553T alelini taşıyan bireylerde GG genotipe sahip bireylere göre anlamlı derecede yüksek kan trigliserit seviyesi saptanmıştır ( $p=0.014$ ). Haplotipler incelendiğinde ise homozigot vahşi tip haplotipe sahip bireylerin diğer tüm haplotip çiftlerine göre anlamlı derecede düşük kan trigliserit seviyesi ve anlamlı derecede yüksek HDL-kolesterol seviyesine sahip oldukları bildirilmiştir (Hsua ve ark., 2005).
- 3) Almanya'da 915 bireyle yapılan bir çalışmada, -1131T>C polimorfizminde C alelinin sıklığının, trigliserit seviyesi çalışma populasyonunun %90'ının üzerinde olan bireylerde, populasyonun trigliserit seviyesinin %90'ın altında olan bireylerine göre, VKI 25'den büyük olan bireyler ve APOE geninde bilinen bir tek nükleotit polimorfizminin polimorfik aleli olan  $\epsilon 4$  alelini taşıyan bireylerde anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerindeki yükseltici etkisi ancak ek metabolik (VKI>25) yada genetik ( $\epsilon 4$ ) etkenlerin varlığıyla ortaya çıkabilmektedir (Evans ve ark., 2003).
- 4) Çin'de yapılan ve 234 bireyin katıldığı bir çalışmada APOA5 genindeki c.553G>T polimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada hasta kümesi koroner arter hastalık geçmişi olan bireylerden, kontrol kümesi ise koroner arter hastalık geçmişi olmayan bireylerden oluşturulmuştur. Hem koroner hastalığı olan kümede (trigliserit seviyesi T alel taşıyıcılarında 235 mg/dl – GG genotipli olanlarda 171 mg/dl,  $p=0.021$ ) hemde kontrol kümesinde (trigliserit seviyesi T aleli taşıyıcılarında 203 mg/dl – GG genotipli olanlarda 149 mg/dl,  $p=0.002$ ) T aleli taşıyıcılarının GG genotipli bireylerden daha yüksek kan trigliserit seviyesine sahip olduklarını bildirmişlerdir (Tang ve ark., 2005).
- 5) Çek Cumhuriyeti'nde yapılan ve Çek Cumhuriyeti populasyonunu temsilen 2559 kişinin katıldığı çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizmi ve S19W polimorfizminin kan trigliserit seviyelerine olan etkisi araştırılmıştır. Bireylerin kan trigliserit seviyeleri ölçümleri

1997 ve 2001 yıllarında olmak üzere iki kere yapılmıştır. Sonuçlara göre hem erkek hem de kadın bireylerde -1131T>C polimorfizminin C aleli taşıyıcıları homozigot vahşi tip genotipindeki bireylere göre kan trigliserit seviyelerinde anlamlı derecede yükselme göstermişlerdir ( $p<0.01$ ). S19W polimorfizminde de yine polimorfik alele sahip bireylerdeki kan trigliserit seviyesi homozigot vahşi tip genotipli bireylere göre anlamlı derece yükselme göstermiştir ( $p<0.001$ ) (Hubacek ve ark., 2003)

- 6) Çin’de yapılan ve 312 koroner arter hastalık geçirmiş birey ve 317 hastalık geçmişi olmayan bireyin katıldığı bir araştırmada, hem hasta hem de kontrol kümelerindeki hastalarda -1131C aleli ve yüksek trigliserit seviyesi arasında anlamlı bir ilişki bildirmişlerdir (sırasıyla  $p<0.001$  ve  $p<0.001$ ). Ancak bu çalışmada APOA5 geni -1131T>C polimorfizmi ile total kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol seviyeleri arasında bir ilişki saptanmamıştır (Bia ve ark., 2004).
- 7) Hollanda’da yapılan, 119 hipertrigliseridemi hastası ve 171 bireyden oluşan tesadüfi kontrol kümesinin dahil edildiği bir çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C ve S19W polimorfizmlerinin kan trigliserit seviyesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre -1131C alelinin sıklığı kontrol kümesinde %5.9 iken hipertrigliseridemi hasta kümesinde %23.5 olarak tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). S19W polimorfizminde ise W alelini taşıyan bireylerin sıklığı kontrol kümesinde %4.4 iken hipertrigliseridemi kümesinde %19.1 olarak tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Bu sonuçlara göre her iki polimorfik alelin sıklığı da hipertrigliseridemi hastalarından oluşan kümede kontrol kümesine göre anlamlı derecede yüksektir. Hipertrigliseridemi kümesinin kendi içinde ise hem -1131C aleli hemde 19W aleli ile yüksek trigliserit seviyesi arasında ilişki tespit edilmemiştir (Hennemana ve ark., 2006).
- 8) Tayvanda yapılan ve APOA5 c.553G>T polimorfizminin hipertrigliseridemi üzerindeki olası etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 290 bireyin dahil olduğu bir hipertrigliseridemi kümesi (kan trigliserit seviyesi > 400 mg/dl) ve 303 bireyin dahil olduğu kontrol kümesi oluşturulmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre, T aleli sıklığı kontrol kümesinde 0.042 ve hipertrigliseridemi kümesinde ise 0.27 olarak tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Kan trigliserit seviyeleri ise kontrol kümesindeki GG genotipli bireylerde ortalama 92.5 mg/dl, GT genotipli bireylerde 106 mg/dl ve TT genotipli bireylerde de 183 mg/dl olarak kaydedilmiştir ( $p<0.014$ ). Çalışmanın sonucuna göre T alel taşıyan bireylerde homozigot vahşi tip genotipli bireylere göre anlamlı derecede yüksek hipertrigliseridemi riski saptanmıştır (Olasılık Oranı (OO) 11.73, GA %95 6.617–20.793,  $p<0.0001$ ) (Kao ve ark., 2003).

- 9) Hindistanda 139 sağlıklı erkek birey ile yapılan bir çalışmada APOC3 *SstI* polimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerine olan muhtemel etkisi çalışılmıştır. Çalışmada kan trigliserit seviyesi 170 mg/dl ve üzerinde olan 34 birey yüksek trigliserit kümesi, kan trigliserit seviyesi ise 170 mg/dl'nin altında olan 105 birey ise normal trigliserit kümesi olarak ayrılmıştır. Çalışmada *SstI* polimorfizminde vahşi tip alel S1, polimorfik tip alel ise S2 alel olarak adlandırılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre, yüksek trigliserit kümesinde S2 alel sıklığı normal trigliserit kümesine göre iki kat daha fazla olarak kaydedilmiştir (Chhabra ve ark. 2002).
- 10) Amerka Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada sağlıklı erkek bireylerin katıldığı 2808 bireyle oluşturulan popülasyonda APOA5 genindeki -1131T>C ve *S19W* polimorfizmlerinin kan trigliserit seviyeleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre -1131CC genotipli bireylerin homozigot vahşi tip genotipli bireylere göre %40 daha yüksek kan trigliserit seviyesi gösterdikleri, 19WW genotipli bireylerin ise homozigot vahşi tipli bireylere göre %52 daha yüksek kan trigliserit seviyesi gösterdikleri tespit edilmiştir ( $p<0.003$ ). Bu çalışmada trigliserit seviyesini en çok etkileyen haplotiplerin belirlenmesi amacıyla APOA5, APOC3 ve APOA4 genlerinde daha önceden kan trigliserit seviyesi ile ilişkilendirilen toplam 9 TNP'nin dahil edildiği haplotip çözümlemesi yapılmıştır. 9 adet TNP'nin dahil edildiği haplotip çözümlemesinde teorik olarak 512 farklı haplotip bulunabilmektedir. Ancak çalışma popülasyonunda bunlardan 62'sinin var olduğu görülmüştür. 62 haplotipten ise 10 ve daha fazla sayıda bireyde görülen 22 tanesi çözümlemeye alınmıştır. Çözümlemeye alınana bu bireyler popülasyonun %95'inden fazlasını oluşturmaktadır. Çözümleme sonuçlarına göre değerlendirmeye alınan tüm haplotiplerde kan trigliserit seviyelerinde anlamlı değişimler olduğu görülmüştür ( $p<0.0006$ ). Popülasyonda en sık görülen ve popülasyonun %32.3'ü kapsayan ve tüm 9 TNP'ninin de vahşi tip alelleri ni taşıyan haplotipteki ortalama trigliserit seviyesi 154 mg/dl olarak hesaplanmıştır. En yüksek trigliserit seviyesi ile ilişkilendirilen haplotip ise diğer polimorfik bölgelerinde vahşi tip alellere sahip W19 taşıyan haplotipte 190 mg/dl olarak hesaplanmıştır. Sonraki üç en yüksek trigliserit seviyesi gösteren haplotiplerin üçünde de ortak olan polimorfizmin ise APOC3 -482C>T olduğu bildirilmiştir. APOA5 -1131C alelini taşıyan ve diğer polimorfik bölgelerde vahşi tip alel taşıyan haplotipte ise 167 mg/dl trigliserit seviyesi olduğu bildirilmiştir (Talmud ve ark., 2002).

- 11) ABD’nde yapılan bir çalışmada 3 farklı popülasyonda APOA5 *S19W* polimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerine olan muhtemel etkisi araştırılmıştır. 264 beyaz kadından oluşan kümede hem kadınlarda ( $p<0.001$ ) hem de erkeklerde ( $p<0.005$ ) polimorfik alel (19W) sıklığı trigliserit seviyesi popülasyonun %90 üzerinde olan bireylerin oluşturduğu yüzdeler anlamli derecede daha sık olduğu tespit edilmiştir. 419 bireyden oluşan başka bir popülasyonda ise heterozigot bireylerdeki kan trigliserit seviyesinin normal diyet ( $p<0.0001$ ), aşırı yağlı ( $p<0.0001$ ) diyet ve aşırı karbonhidratlı diyet ( $p=0.0004$ ) tüketen kişilerdeki kişilere göre homozigot vahşi tip genotopindeki kişilerden anlamli derecede yüksek seyrettiği görülmüştür. 419 kişilik bu popülasyonda heterozigot bireylerdeki kan trigliserit seviyesinin polimorfizmin etkisiyle yükselme oranı %36 olarak ölçülmüştür. Yine aynı çalışmada incelenen başka bir popülasyonun bileşiminde 1392 Afrika kökenli Amerikalı, 420 İspanyol kökenli Amerikalı ve 848 beyaz bireyden oluşan bir popülasyonda *S19W* plimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Bu popülasyonda ise Afrika kökenli Amerikalı hem kadınlarda ( $p=0.0023$ ) erkeklerde ( $p=0.024$ ) beyaz kadınlarda ( $p=0.012$ ) beyaz erkeklerde ( $p=0.0012$ ) 19W alelinin kan trigliserit seviyesi üzerinde anlamli derecede yükseltici etkisi olduğu bildirilmiştir (Pennacchio ve ark., 2002).
- 12) Japonyada yapılan bir çalışmada 3794 ve 1419 bireyden oluşan 2 popülasyonda APOA5 -1131T>C ile c.553G>T polimorfizmlerinin kan trigliserit seviyesi üzerindeki olası etkileri araştırılmıştır. 3794 kişilik popülasyon küçük şikayetlerle hastanenin kontrol kliniğine başvuran hastalardan, 1419 kişilik diğer popülasyon ise tesadüfi sağlıklı bireylerden oluşmaktaydı. Bu çalışmada yaş ve cinsiyet eklenmiş çok değişkenli mantıksal regresyon analizi sonuçlarına göre birinci popülasyonda -1131T>C polimorfizmi hipertrigliseridemi ile anlamli derecede ilişkili bulunmuştur (TT genotipli 1640 bireyde ortalama trigliserit seviyesi 122 mg/dl, TC genotipli 1687 bireyde ortalama trigliserit seviyesi 151 mg/dl ve CC genotipli 459 bireyde ortalama trigliserit seviyesi 177 mg/dl) ( $p<0.05$ ). APOA5 genindeki diğer polimorfizm olan c.553G>T polimorfizmi de yine yüksek kan trigliserit seviyesi ile anlamli derecede ilişkili bulunmuştur (GG genotipli bireylerde ortalama trigliserit seviyesi 136 mg/dl, GT genotipli bireylerde ortalama trigliserit seviyesi 166 mg/dl ve TT genotipli bireylerde ortalama trigliserit seviyesi 330 mg/dl) ( $p<0.05$ ). Sonuçları teyit etmek amacıyla çalışılan diğer popülasyonda ise 1419 kişide APOA5 genindeki hem -1131T>C hem de c.553G>T polimorfizmleri yüksek kan trigliserit seviyesi ile ilişkili bulunmuştur ( $p<0.005$ ). Haplotip çözümlemesinden elde edilen sonuçlara göre ise APOA5 genindeki hem -1131T>C

polimorfizminin hem de c.553G>T polimorfizminin vahşi tip alellerini taşıyan haplotin hipertrigliseridemi için koruyucu özellikte olduğu kaydedilmiştir. Çalışılan polimorfizmlerin bağlantı eşitsizliğinin araştırılmasından elde edilen sonuçta APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizmi ile c.553G>T polimorfizminin güçlü bağlantı eşitsizliği gösterdiği kaydedilmiştir (Yamadaa ve ark., 2007).

- 13) Çek Cumhuriyetinde yapılan bir çalışmada 2500 bireyden (1168 erkek ve 1332 kadın) oluşan bir populasyonda *APOA* ile *APOE* polimorfizmlerinin ortak etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre sadece kadın bireylerde APOA5 -1131C alelinden en az bir tane ve/veya APOA5 19W alelinden en az bir tane taşıyan bireylerde APOE2 veya APOE3 alellerinden birinin eşlik etmesi durumunda trigliserit seviyelerinde anlamlı yükselme olduğu bildirilmiştir ( $p<0.01$ ) (Hubacek ve ark., 2008).
- 14) ABD’de yapılan ve 300 Asya kökenli Amerikalı ve 240 Asya kökenli olmayan Amerikalı bireyin katıldığı çalışmada APOA5 c.553G>T polimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerindeki olası etkileri araştırılmıştır. Asya kökenli Amerikalı bireylerden ve Asya kökenli olmayan Amerikalı bireylerden oluşturulan her iki populasyonda da kan trigliserit seviyesi 150 mg/dl’den yüksek olan yüksek trigliseritli bireyler kümesi ve kan trigliserit seviyesi 150 mg/dl’den düşük olan düşük trigliseritli bireyler kümesi oluşturulmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre Çin kökenli populasyonda yüksek trigliserit seviyesi gösteren kümedeki C.553T alelini taşıyan bireylerin sıklığının düşük trigliserit seviyesi gösteren kümeden 4 kat daha yüksek olduğu kaydedilmiştir ( $p<0.0001$ ). Benzer şekilde Çin kökenli olmayan Amerikalı bireylerden oluşan populasyonda da heterozigot birey sıklığının yüksek trigliserit seviyesi gösteren kümede düşük trigliserit seviyesi gösteren kümeye göre 2 kat daha fazla olduğu kaydedilmiştir ( $p<0.001$ ) (Pullinger ve ark., 2008).
- 15) Çek Cumhuriyeti’nde 83 akraba olmayan hipertrigliseridemi hastası ve 2559 akraba olmayan kontrol popülasyonunun dahil edildiği çalışmada APOA5 S19W polimorfizminin kan trigliserit seviyesi üzerindeki olası etkileri araştırılmıştır. Hasta kümesindeki bireylerin ortalama trigliserit seviyesi 1795 mg/dl ve kontrol kümesindeki bireyleri kan trigliserit seviyesinde ortalama 176 mg/dl olarak belirtilmiştir. Hasta kümesindeki SW (%26.5) ile WW (%3.6) genotip sıklıklarının kontrol kümesindeki SW (%13.8) ve WW (%0.3) genotip sıklıklarından anlamlı derecede yüksek olduğu kaydedilmiştir ( $p<0.0001$ ) (Vrablik ve ark., 2003).
- 16) ABD’de yapılan bir çalışmada 477 İspanyol kökenli Karayipli bireyden oluşturulan bir populasyonda 17 tane lipit metabolizması ile ilişkili gene ait 114 TNP’nin kan trigliserit

HDLK, LDLK ve toplam kolesterol seviyelerini etkileyip etkilemedikleri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre trigliserit seviyesi ile en yüksek derecede ilişkilendirilen polimorfizm APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizmi olarak kaydedilmiştir ( $p<0.00009$ ) (Liao ve ark., 2008).

- 17) Tayvan'da yapılan bir çalışmada bir hastaneden 308 hipertrigliseridemi hastası ve 281 normal trigliserit seviyesine sahip kontrol bireyinin oluşturduğu populasyonda APOA1/C3/A5 gen ailesindeki 12 TNP'nin oluşturduğu 2 haplotipin hipertrigliseridemi ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Hipertrigliseridemi kümesine dahil olma ölçütü olarak bireyin kan trigliserit seviyesinin 400 mg/dl'nin üzerinde olması aranmıştır. Bildirilen sonuçlara göre APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizminin 1131C ve c.553G>T polimorfizminin c.553T alelini ve APOA1 genindeki -3013C>T ve -75G>A polimorfizmlerindeki polimorfik alelleri taşıyan haplotipin sıklığı hipertrigliseridemi kümesinde %11.3 iken kontrol kümesinde %1.1 olarak hesaplanmıştır (OO 12.83, %95 GA 1.37-3.29  $p<0.001$ ). Kontrol kümesinde APOA5 geninde -1131CC ve c.553TT genotipli bireylerde diğer genotipli bireylere göre kan trigliserit seviyesinin %116 daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Chien ve ark., 2007).
- 18) İspanyada yapılan bir çalışmada 96 hipertrigliseridemi hastası (kan trigliserit seviyesi herhangi bir zamanda 880 mg/dl'yi aşan bireyler) ve 225 kontrol bireyinden (kan trigliserit seviyesi herhangi bir zamanda 880 mg/dl'yi aşmamış bireyler) oluşan bir populasyonda APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizmi ile iki APOE polimorfizminin hasta ve kontrol kümelerindeki dağılımları ile bu iki polimorfizmin hipertrigliseridemiye olabilecek olası katkıları araştırılmıştır. Sonuçlara göre APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizminin C alelinin sıklığı hipertrigliseridemi kümesinde kontrol kümesine göre 2-3 kat daha fazla olarak kaydedilmiştir ( $p<0.001$ ). Hipertrigliseridemi için risk APOA5 -1131T>C polimorfizminde OO=4.1, %95 GA 2.02-8.24 olarak hesaplanmıştır. APOA5 ve APOE ortak riskleri ise APOA5-1131C/APOE2, OO=4.2 (%95GA:4.92-415.5); APOA5-1131C/APOE4, OO=6.4 (%95GA 2.28-18.1). Çalışmanın sonuçlarına göre APOA5 -1131T>C polimorfizmi hipertrigliseridemi için bir risk etkeni olmakla beraber bu etki APOE polimorfizmlerinin eşlik ettiği durumlarda daha da büyük olmaktadır (Sousa ve ark., 2008).
- 19) İngiltere'de yapılan ve 259 sağlıklı bireyin katıldığı bir çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C ve S19W polimorfizmlerinin ve bu polimorfizmlerin oluşturduğu haplotiplerin öğün sonrası ve öğün arası kan trigliserit seviyesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre, -1131TC heterozigot bireylerdeki kan trigliserit seviyesi vahşi tip

homozigot bireylerin ölçümleri ile karşılaştırıldığında öğün arası ölçümlerde %15 daha yüksek ( $p=0.057$ ), ve öğün sonrası ölçümlerde de %21 ( $p=0.038$ ) olarak kaydedilmiştir (Olano-Martin ve ark., 2008).

- 20) Tayvanda yapılan ve Çinli ailelerin dahil edildiği popülasyonla yapılan çalışmada 165 hipertrigliseridemili ve 163 kontrol kümesi bireyinde APOA5 c.553G>T polimorfik alellerinin ve haplotiplerin kan trigliserit seviyesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. APOA5 genindeki c.553T polimorfik aleli taşıyan bireylerin oranı hasta kümesinde %23.8, kontrol kümesinde ise %6.7 olarak kaydedilmiştir ( $p<0.0004$ ) (Chien ve ark., 2007).
- 21) ABD’de popülasyon temelli yapılan bir çalışmada 1266 kadın ve 1219 erkek katılımcının dahil edildiği popülasyonda kan lipid seviyeleri ile APOC3 genindeki *SstI* polimorfizminin olası ilişkisi incelenmiştir. Popülasyondaki S2 alel (*SstI* polimorfizminin polimorfik aleli) sıklığı önceki beyaz insanlardan oluşturulan popülasyonlar ile benzer olarak 0.086 olarak kaydedilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre S2 aleli taşıyan erkek bireylerde istatistiksel (sayıtım) olarak anlamlı derecede olmasa da ( $p=0.3$ ) trigliserit seviyesinde yükselme eğilimi olduğu kaydedilmiştir. Erkek bireylerde S2 alel düşük HDL-kolesterol seviyesi ile anlamlı derecede ilişkili olarak kaydedilmiştir ( $p<0.04$ ). Bu çalışmada *SstI* polimorfizmi ile kan lipid değerleri arasındaki anlamlı bulunan ilişkilere rağmen bu polimorfizm ile koroner kalp hastalığı arasında herhangi bir ilişkiye rastlanmamıştır (Russo ve ark., 2000).
- 22) ABD’de yapılan ve Cordoba üniversitesindeki öğrencilerden oluşturulan 88 erkek bireyin katıldığı bir çalışmada öğün sonrası yanıt ile APOA5 genindeki -1131T>C ve S19W’nin de dahil olduğu polimorfizmlerin oluşturduğu haplotipler arasındaki olası ilişki araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre bireylere aşırı yağ ve VitA içerikli diyet tüketimi verildikten sonra, belirli aralıklarla kan örnekleri alınarak kanda total kolesterol, trigliserit, apolipoprotein B-100 ve apolipoprotein B-48 seviyeleri ölçülmüştür. APOA\*2 (-1131C ve 19S) ve APOA\*3 (-1131T ve 19W) haplotipine sahip bireylerde APOA\*1 haplotipine sahip bireylere göre trigliserit seviyesinde ( $p=0.03$ ) ve APOB-100 seviyesinde ( $p=0.04$ ) anlamlı artış kaydedilmiştir (Moreno-Luna ve ark., 2007).
- 23) İngiltere’de yapılan bir çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C ve S19W polimorfizmlerinin Hindistan’dan seçilen 557 birey ve İngiltere’den seçilen 237 bireyden oluşturulan popülasyonlardaki bireylerde kan lipid seviyelerine olası etkisi araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre APOA5 -1131C alel sıklığı Hintli bireylerde %20 iken, İngiliz bireylerde %4’dür ( $p=0.00001$ ) ve APOA5 19W alel sıklığı da Hintli bireylerde %3 iken İngiliz

bireylerde %6'dır ( $p=0.0015$ ). Hindistanlı bireylerden oluşan populasyonda -1131C aleli trigliserit seviyesinde %19'luk, 19W aleli ise trigliserit seviyesinde %15'lik bir artış göstermiş ancak sadece -1131C aleli trigliserit seviyesinin yüksekliği ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur ( $p=0.0003$ ). 175 kişilik Hindistanlı bireyden oluşturulan populasyonda ise -1131T>C polimorfizminin SstI polimorfizmi ile bağlantı eşitsizliği içinde olmadığı kaydedilmiştir (Chandak ve ark., 2006).

24) İtalya'da yapılan bir çalışmada 930 anjiyo uygulanan bireyde (669 koroner arter hastası ve 244 koroner arter hastası olmayan birey) APOA5 genindeki -1131T>C ve S19W polimorfizmlerinin kan trigliserit yüksekliği ve koroner arter hastalık ile olası ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, -1131T>C polimorfizmi kan trigliserit seviyesi yüksekliği ile anlamlı derecede ilişkili olarak ( $p=0.01$ ), S19W polimorfizmide kan trigliserit seviyesi ile anlamlı derecede ilişkili ( $p=0.007$ ) olarak kaydedilmiştir. Ancak APOA5 genindeki bu polimorfizmlerin hiçbiri koroner arter hastalık ile anlamlı derecede ilişkilendirilmemiştir (Martinella ve ark., 2006).

25) Japonya'da yapılan 95 hipertrigliseridemili ve 119 normolipidemik bireyin katıldığı bir çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C, S19W, IVS3+476G>A, c.553G>T ve c.1259T>C polimorfizmleri ile hipertrigliseridemi arasındaki olası ilişkiler araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, -1131C alel sıklığı hipertrigliseridemik bireylerde 0.511 iken normolipidemiklerde 0.315 ( $p<0.01$ ), c.553T alel sıklığı ise hipertrigliseridemiklerde 0.205 iken normolipidemiklerde 0.105 ( $p<0.02$ ) olarak kaydedilmiştir. S19W polimorfizmi hiç gözlenmemiş, diğer 4 polimorfizmin ise bağlantı eşitsizliği içinde olduğu kaydedilmiştir. Bu çalışmada -1131C aleli ve c.553T aleli kan trigliserit seviyeleri yüksekliği ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuş ancak kan APOA5 seviyeleri ile ilişkili olarak kaydedilmemiştir (Matsunaga ve ark., 2007).

26) ABD'de yapılan ve 360 Afrika kökenli Amerikalı birey ile 823 beyazdan oluşan populasyonda boylamsal çözümleme ile APOA5 ve APOC3 genlerindeki polimorfizm ile kan trigliserit seviyesi arasındaki olası ilişkiler incelenmiştir. Kan örnekler 1973 ile 1996 yılları arasında her bireyden 2-8 kez alınarak lipit ölçümleri yapılmıştır. Bireyler kan örnekleri toplanmaya başladığında 4-28 yaş aralığındaydılar, örnek toplama işlemi sonlandırıldığında ise 14-38 yaş aralığındaydılar. SstI polimorfizmindeki S2 polimorfik alel sıklığı Afrika-Amerikalılarda 0.168, beyazlarda 0.095 olarak kaydedilmiştir ( $p<0.05$ ). 19W alel sıklığı ise Afrika kökenli Amerikalılarda 0.036, beyazlarda 0.052 olarak kaydedilmiştir ( $p>0.05$ ). -



1131C alel sıklığı ise Afrika kökenli Amerikalılarda 0.103, beyazlarda 0.073 olarak kaydedilmiştir. -1131T>C polimorfizmi ile *SstI* polimorfizmi arasında bağlantı eşitsizliği tespit edilmekle birlikte bağlantı eşitsizliği şiddeti beyazlarda daha güçlü olarak kaydedilmiştir. Tüm yaş aralıklarında kan trigliserit seviyesi beyazlarda daha yüksek seyretme eğiliminde olarak kaydedilmiştir. APOA5 genindeki hem -1131T>C hemde S19W polimorfizmleri kan trigliserit seviyesi yüksekliği ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur ( $p<0.02$ ) (Hallmana ve ark., 2006).

27) Çek Cumhuriyeti'nde yapılan ve 285 bireyin (33-72 yaş arası) katıldığı bir çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C ve S19W polimorfizmleri ile kandaki kalıntı lipoprotein-kolesterol ve kalıntı lipoprotein-trigliserit seviyeleri arasında olası ilişkiler incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, APOA5 genindeki bu iki polimorfizm ile kalıntı lipoprotein-kolesterol ve kalıntı lipoprotein-trigliserit seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Hubacek ve ark., 2004).

28) Kore'de yapılan, 49 sağlıklı erkek bireyin katıldığı bir çalışmada bireylere çok düşük yağ içerikli ve çok yüksek yağ içerikli öğünler verilerek öğün sonrası kan yağları seviyesi yanıtları ölçülmüştür. Populasyon -1131T>C polimorfizm taşıyıcılığı yüksek olan ve günlük diyet alışkanlıkları düşük yağlı gıdalardan oluşan bireylerden seçilmiştir. Populasyondaki bireylere tesadüfi olarak 7 gün boyunca yüksek ya da düşük yağ içerikli öğünler verilmiştir. Öğün sonrası 0, 2, 4 ve altıncı saatlerde kan örnekleri alınarak total trigliserit, şilomikron trigliserit ve yağ asiti ölçümleri yapılmıştır. Populasyonda 23 birey TT, 18 birey TC ve 8 bireyde CC genotipe sahiptir. Yapılan ölçümlerde C alelini taşıyan bireylerdeki öğün arası kan trigliserit seviyesinin homozigot vahşi tip genotipli bireylere göre anlamlı derecede yükselme gösterdiği kaydedilmiştir ( $p<0.05$ ). Ancak TC genotipli bireyler ile CC genotipli bireyler arasında öğün arası kan trigliserit seviyesi bakımından anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ). APOA5 geni -1131T>C polimorfizminin çalışılan populasyonda kan total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol seviyelerine etkisine rastlanmamıştır. Öğün sonrası ölçümlerde ise TT'li bireyler ile C alel taşıyıcıları arasında trigliserit bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Kim ve ark., 2006).

29) ABD'nde yapılan ve 3020 kişinin katıldığı bir çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizmi ve S19W polimorfizmi ile kan trigliserit seviyesi arasındaki olası ilişki araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre APOA5 -1131T>C polimorfizmi ve S19W polimorfizminin polimorfik alelleri kan trigliserit seviyesi yüksekliği ile anlamlı derecede

ilişki olarak kaydedilmiştir ( $p < 0.05$ ). Çalışmada ayrıca APOA5 genindeki başka bir polimorfizmin, -1464T>C polimorfizminin tek başına etkili olmadığı ancak -1131T>C polimorfizmi için bir belirteç olduğu kaydedilmiştir (Hodoğlugil ve ark., 2005).

30) Hindistan'da yapılan ve 1185 Hint asıllı ve 175 İngiliz asıllı kişinin dahil edildiği çalışmada APOA5 geni -1131T>C bölgesi için kullanılan Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemindeki öncül bağlanma bölgesinde "alelik aykırılık"ın etkisi araştırılmıştır. Örneklerdeki -1131T>C polimorfizmi alelleri ve genotiplerinin belirlenmesi için dört öncüllü Amplification Refractory mutation System (ARMS-PCR) yöntemi kullanılmıştır. Genotip belirleme işlemleri tamamlandıktan sonra birey sayısının %10'u için tesadüfi örnekleme ile RFLP yöntemi kullanılarak tekrar genotipleme yapılmıştır. Sonuçlara göre iki yöntem arasında %2.9 oranında tutarsızlık gözlenmiştir. -1131T>C polimorfizmi bölgesini daha yakından incelemek amacıyla 25 Hint asıllı ve 15 İngiliz asıllı birey için -1131T>C bölgesi yakınında 900 baz çiftlik bir bölge için dizileme çalışması yapılmıştır. Dizileme sonucunda -987C>T polimorfizminin de içinde olduğu bir dizi polimorfizm gözlenmiştir. -987C>T polimorfizmi RFLP için kullanılan ileri öncülün 4 baz çifti yukarısında (3' ucunda) bulunmaktadır ve -1131T>C polimorfizmi ile zayıf bağlantı eşitsizliği içindedir. Eksi 984C>T polimorfizmi bakımından heterozigot olan 7 bireyin RFLP ile -1131T>C polimorfizmi için yedi kere genotiplemesi yapıldıktan sonra üçte bir oranında (49/7) tutarsız sonuçların olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizminin *MseI* özgeni kullanılarak RFLP ile yapılan genotiplemesinde alelik genotipleme hatası sonuçları etkileyebilir (Ward ve ark., 2006).

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde APOA5 ve APOC3 genindeki polimorfizmlerin birçok farklı etnik kökenli popülasyonda incelendiği görülmektedir. Çalışmaların sonuçlarına göre ise farklı etnik kümelerde polimorfik alel sıklıklarının oldukça farklı olabileceği anlaşılmaktadır. Farklı etnik kökenli popülasyonlarda kan yağlarının seviyelerinde anlamlı farklar olabilmektedir. Örneğin Türk kökenli insanlarda kanda HDLK seviyesi diğer etnik kökenli insanlara göre düşük seyretmektedir (Mahley ve ark., 1995; Mahley ve ark., 2000). Etnik kökeni farklı olan popülasyonlarda gerek polimorfik alel sıklığı, gerek polimorfizmlerin fenotipe yansıma derecesinin farklı olabileceği yukarıda özetlenen çalışmalarda görüldükten sonra APOA5 ve APOC3 genindeki polimorfizmlerin başta trigliserit seviyesi olmak üzere kan yağlarına olan etkilerini, Orta Karadeniz Bölgesi popülasyonunda incelemek üzere bu çalışma yapılmıştır.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. ÇALIŞMA VE KONTROL KÜMELERİNİN OLUŞTURULMASI, KAN ÖRNEKLERİNİN VE DEMOGRAFİK VERİLERİN TOPLANMASI

Bu çalışmaya katılan bireyler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dahiliye A.D., Tıbbi Biyoloji A.D. ve Ünye 1 no.'lu Sağlık Ocağı tarafından Ocak 2006 – Eylül 2009 tarihleri arasında başvuran bireylerdir. Bu çalışmaya hasta kümesinde 140 birey kontrol kümesinde ise 182 birey dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol kümelerindeki tüm bireyler Karadeniz bölgesinde yaşamaktaydılar. Kontrol kümesi ile çalışma kümesi birbirine benzer demografik özellikleri olan bireylerden oluşturulmuştur. Hasta ve kontrol kümelerindeki bireylerin biyokimya sonuçları için kan alınmadan bir gün önce bireylere aç karnına kan vermeleri yönünde bilgi verildi. Ve bireylere kan yağı düşürücü ilaç kullanıp kullanmadıkları soruldu. Kan yağı düşürücü ilaç kullananlar çalışma dışında bırakıldı. Kan örnekleri alınmadan önce bireylere var olan hastalıkları soruldu, diabetes mellitus ve herhangi bir endokrin hastalığı olan bireyler çalışma dışında bırakıldı.

Çalışmaya katılan bireylerde hasta kümesine dahil olma şartı olarak trigliserit seviyesinin 200 mg/dl ve üzerinde olma durumu arandı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi hastanesinde kan trigliserit seviyesi 200 mg/dl ve üzerindeki olan hastalar hipertrigliseridemik olarak tanımlanmaktadır. Diyabet, böbrek hastalığı yada herhangi bir endokrin hastalık olması durumunda bireyler çalışma dışında bırakıldılar. Çünkü diyabet, böbrek hastalığı yada endokrin sistem rahatsızlığı olan bireyler trigliserit ve diğer kan yağları ölçümleri bu hastalıklar nedeniyle normal sınırlar dışında sonuç verebilmektedir. Çalışmada hem hasta kümesine hemde kontrol kümesine dahil edilen bireylerde akraba olmama şartı arandı.

Tez ile ilgili yapılan planlamanın ardından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan yazılı onay alındı ve çalışmalara başlandı. Çalışmayı oluşturulan hasta ve kontrol kümelerine katılan tüm bireyler tarafından, çalışmanın içeriği ve yöntemi bakımından hem sözlü hemde yazılı olarak bilgilendirildikten sonra, kendileri yada yasal vasileri tarafından Ek-A'da yer alan "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" imzalandı. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu imzalanması ile birlikte, bireylerle ilgili çalışmada veri olarak kullanılacak Ek-B'de yer alan "Hasta Bilgi Formu" içinde yazılı olan bilgiler alındı.

Eksik olan bilgiler bireyler telefonla aranarak tamamlanmaya çalışıldı. Hasta Bilgi Formu ile birlikte bireylerden 5'er ml venöz kan alındı.

Toplanan kanlardan DNA'lar elde edildi. Kandan DNA elde edilmesinde yeterli miktarda kan olduğu durumlarda 'tuzla çöktürme' yöntemi (Miller ve ark., 1988), bu yöntem için yeterli miktarda kan alınamayan durumlarda ise kit yöntemi kullanıldı. Bu yöntemler ileriki bölümlerde açıklanacaktır.

### **3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN CİHAZLAR VE KİMYASAL MADDELER**

#### **Cihazlar;**

- Isı döngüleyici cihaz (Techne, İngiltere)
- Yatay elektroforez cihazı (Scie-Plas, İngiltere)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Waaltec, Tayvan)
- UV görüntüleyici (Vilber Laurmat, Fransa)
- Bilgisayarlı UV görüntü çözümlene düzeni (Biolab, İngiltere)
- Su Banyosu (Nüve, Türkiye)
- Hassas Terazî (Mettler AJ 100, Almanya)
- Etüv (Dedeoğlu, Türkiye)
- Otomatik pipet takımı (Eppendorf, Almanya; Socorex, İsviçre; Capp, Danimarka)
- Soğutmalı Santrifüj (Jouan, Fransa)
- pH Metre (Hanna, Almanya)
- Burgaç Karıştırıcı (Biosan, Litvanya)
- Otoklav cihazı (Nüve, Türkiye)
- Distile Su Cihazı (Nüve, Türkiye)

#### **Kimyasal Maddeler;**

- Çoğuz Zincir Tepkimesi (ÇZT, PCR) öncülleri (primer) (Iontek, Türkiye)
- *Taq* DNA Çoğuz Özgeni (Bioron ve Fermentas)
- Proteniaz-K (Sigma)
- Triton X-100 (Sigma)
- NaCl (Merck)

- Borik Asit (Sigma)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Sodyum hidroksit (Merck)
- Mağnezyum klorür (Merck)
- SDS, Sodyumdodesilsülfat (Sigma)
- Etil alkol (Sigma)
- 10X ÇZT tamponu (Bioron ve Fermentas)
- Tris (Merck)
- Sükroz (Merck)
- Agaroz (Amresco ve Prona)
- EDTA, sodyum tuzu (Merck)
- Kesim Özgenleri (Bioron, Sib Enzyme, Fermentas, Promega)
- Deoksiribonükleozit trifosfatlar (Larova)
- Öncüller (Iontek ve varsa başka marka)

### **3.3. DNA ELDESİ**

DNA eldesinde kullanılan çözeltiler aşağıdaki gibidir.

#### **TEN çözeltisi (tampon) :**

- 2 mM EDTA (Merck)
- 10 mM tris (Merck) pH 8
- 400 mM NaCl (Merck)

#### **%10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Sigma):**

100 ml distile su içinde 10 gr SDS çözülerek elde edilmiştir.

#### **Proteinaz K (Sigma) Solüsyonu :**

Firmadan hazır olarak gelen proteinaz K şişesi içinde toz halinde 100 mg proteinaz K bulunur. Bu şişeye, 10 ml 500 mM yoğunlukta pH 8 olan Tris ve 100 mM'lık CaCl<sub>2</sub>'den 100 µl doğrudan eklendi. Böylece 10 mg/ml yoğunlukta proteinaz K çözeltisi hazırlandı.

**Lizis Tamponu :**

- 10 mM Tris (Merck)
- 4 mM MgCl<sub>2</sub> (Merck)
- 320 mM Sükroz (Merck)
- %1 Triton X 100 (Merck)
- Bu kimyasallar 1000 ml distile su ile tamamlanarak otoklavlanarak kullanıldı.

**%99.9 Etil Alkol :**

Firmadan gelen %99'luk etil alkol doğrudan kullanılmıştır.

**%70 Etil Alkol :**

Firmadan gelen %99.9'luk etil alkol distile su ile seyreltilerek -20 °C'de muhafaza edilerek kullanılmıştır.

**Doymuş 6M'lık NaCl çözeltisi :**

35 gr. Toz NaCl tartılarak distile su ile 100 ml hacme tamamlanarak otoklavlandıktan sonra kullanılmıştır.

**TE çözeltisi :**

- 1 mM EDTA
- 10 mM pH 7.5 Tris
- pH 7.5 ve 500 mM Tris çözeltisinden 1 ml, 100 mM EDTA çözeltisinden 0.5 ml alınarak distile su ile 50 ml'ye tamamlanarak kullanıldı.

**DNA eldesinde kullanılan yöntem aşağıdaki gibidir (Miller ve ark, 1988)**

- 50 ml.'lik polipropilen tüpler üzerlerine birey isim ya da numaraları yazılarak hazırlandı.
- EDTA'lı olarak laboratuvara gelen kanlardan 5'er ml'lik hacim 50 ml'lik polipropilen tüplere boşaltıldı.
- Kan örneklerinin üzerine kanların 3 katı hacimde 15 ml lizis çözeltisinden eklenerek tüpler alt üst edilerek karışması sağlandı.
- Tüpler dakikada 2200 devirde 15 dk. 4°C'lik soğutmalı cihazda döndürüldü.
- Yüzen kısım atıldı.

- Bir kez daha lizis çözeltisi eklenerek döndürüldü ve yüzen kısım atıldı.
- Lizis çözeltisi eklenerek döndürme işlemi bir kez daha yapılarak tüpün dibinde temiz pelet elde edildi. Temiz pelet elde edilemediği durumlarda lizisi ile muamele işlemi bir kez daha yapıldı.
- Temiz pelet üzerine 3 ml TEN, 200 µl SDS ve 50 µl önceden hazırlanan proteinaz K eklenerek vortex ile karıştırıldı.
- Tüpler bir gece bekletilmek üzere 37°C'de çalkalamalı etüve kaldırıldı.
- Ertesi gün etüvden çıkarılan tüplere 1'er ml doymuş 6 M tuz çözeltisinden eklenerek vortex ile karıştırıldı.
- Tüpler 2700 devirde 4°C'lik soğutmalı cihazda 15 dk döndürüldü.
- Üstteki yüzen kısım 15 ml'lik tüplere aktarıldı.
- 15 ml'lik tüpler 30 dk 3300 devirde döndürülerek kalan tuzun da çökmesi sağlandı.
- Yüzen kısım yeni 15 ml'lik tüplere aktarıldı.
- Her bir tüpe içindeki hacmin 2 katı kadar saf etil alkol ilave edilerek DNA çözüldü.
- Her bir örnek için içinde 1 ml % 70'lik etil alkol bulunan ependorf tüpleri hazırlandı.
- 15 ml'lik tüplerdeki örnekler ependorf tüplerine aktarıldı.
- İçinde DNA bulunan tüpler 13000 devirde 10 dk döndürülerek DNA'nın çökmesi sağlandı.
- Döndürmenin ardından tüplerin içindeki alkol pipet ile alınarak atıldı.
- Daha sonra tüpler kapakları açık şekilde 37°C'lik etüve konarak 20 dakika bekletildi ve alkolleri uçuruldu.
- Alkolleri uçurulan tüplerin içine 150 ml TE çözeltisi eklenerek 2-3 saat 37°C'lik etüvde çözümleri sağlandı.

### **3.4. DNA KONSANTRASYONUN HESAPLANMASI**

Örnekler için ependorf tüpleri hazırlanarak üzerlerine ilgili numaralar yazıldı. Ependorf tüplerine 990'ar µl distile su kondu. İlgili tüplere 10'ar µl DNA eklenerek karıştırıldı. Öncelikle spektrofotometrenin kalibrasyonu için, kalibrasyonda kullanılan kuartz küvete 1 ml saf su konarak cihaz kalibre edildi. Ölçüm için her bir DNA tüpünün içeriği 1 ml hacimlik ölçüm için kullanılan kuartz küvetlere aktarıldı ve 260 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı. Elde edilen bu ölçüm değeri aşağıdaki formülde yerine konarak DNA yoğunluk değerine ulaşıldı.

$$\text{DNA konsantrasyonu} = (\text{OD})_{260} \times 50 \text{ (çift zincirli DNA için standart)} \times 100$$

(Sulandırma katsayısı).

Elde edilen ışımsal yoğunluk değeri 1.8 – 2.0 arasında ise bu DNA'nın ÇZT yöntemine uygun olduğuna karar verilerek gerekli seyreltme işlemi yapıldı.

### 3.5. KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

#### 10X TBE Çözeltisi :

- 0.9 M 108 g Tris.
- 0.9 M 55 g borik asit.
- pH 8.0 olan EDTA'dan 40 ml (0.5 M).
- Tris ve borik asit 700 ml distile su içinde çözüldü.
- EDTA eklendi.
- Distile su ile toplam hacim 1000 ml olacak şekilde tamamlandı.

#### Doymuş NaCl çözeltisi :

- 7 g NaCl tartıldı.
- 20 ml distile su içinde çözüldü.
- Otoklavlanarak kullanıldı.

#### 1M Tris pH 7.5 :

12.11 g Tris tartıldı.

80 ml su içinde çözeltisi hazırlandı.

- Hidroklorik asit (HCL) ile pH 7.5'e ayarlandı.
- Toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

#### 0.5 M, pH 8.0 EDTA:

- 18.61 g disodyum EDTA tartıldı.
- 80 ml distile suda çözüldü.



- Çözelti içine 2 g NaOH tableti atılarak eritildi.
- pH 8'e ayarlanarak distile su ile toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.
- Otoklavda steril edildi.

### 3.6. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİNİN HAZIRLANMASI

Standart %2'lik jel hazırlamak için 2 g standart agaroz tartıldı. Tampon sıvı olarak 1X TBE kullanıldı. 100 ml. TBE hazırlanarak tartılan 2 g. agaroz erlen mayer'e kondu ve üzerine hazırlanan 100 ml. TBE konarak karıştırıldı. Erlen mayer mikrodalga fırına konarak 2 dakika kaynatıldı ve tamamen çözülmesi sağlandı. İlgili cihaza ait jel setinin küveti ve tarakları hazırlanarak, önceden su terazisi ile dengesi sağlanmış yüzeye kondu. Mikrodalga fırında kaynatılan jel, 75°C'ye kadar soğuması için beklemeye alındı. Bu sıcaklığa gelen jelin içerisine önceden hazırlanan etidyum bromit'den 100 µl eklenerek erlen mayerin sallanarak tamamen karışması sağlandı. Etidyum bromiti jel küvete dökülerek içinde oluşan hava balonlarının giderilmesi sağlandı. Oda sıcaklığında 1-2 saat bekletildikten sonra donan jelin içinden taraklar dikkatlice çıkartılarak kuyuların sağlam olup olmadığı kontrol edildi. Sağlam olan jel kullanılmaya kadar +4°C'ye kaldırıldı.

Tüm yürütme işlemlerinde tampon çözelti olarak 1x TBE kullanıldı. Yürütülecek örnek sayısı kadar 6x yükleme boyası parafilm üzerinde hazırlandı. Boya ile ÇZT ürünü karışımında 5 kısım boya 1 kısım ÇZT ürünü kullanıldı. Örnek DNA'ları yürütülmeden önce +4°C'den alınarak jel setine konan jel kuyularının içine, belirlenen miktar kadar DNA 6x boya ile karıştırılarak pipet ile konuldu. Örnekler 120 Volt'da 30-40 dakika süre ile yürütüldü.

### 3.7. HASTA VE KONTROL KÜMELERİNDEKİ BİREYLERİN GENOTİPLERİNİN BELİRLENMESİ

#### **APOA5 genindeki S19W polimorfizminde bireylerin genotiplerinin belirlenmesi:**

11q23 bölgesinde bulunan APOA5 genindeki c.56C>G (S19W) polimorfizminin (dbTNP numarası = rs3135506) varlığının ya da yokluğunun tespit edilmesi için Çoğuz Zincir Tepkimesi – Kesim Parçası Uzunluk Polimorfizmi (ÇZT-KPUP) yöntemi kullanıldı (Hubacek

ve ark., 2003). İleri öncül dizisi “5'-TGC TCA CCT GGG CTC TGG CTC TTC-3'”, geri öncül dizisi ise “5'-CCA GAA GCC TTT CCG TGC CTG GGC GGC-3'”olarak seçildi. APOA5 geninin 19. kodonunun ilk nükleotiti olan c.56 pozisyonunda bulunan S19W polimorfizmi bölgesinden 178 bç'lik bir parça ÇZT yöntemi ile çoğaltıldı. Tepkime karışımı ÇZT tüpü başına 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve dağıtıldı. 25 µl'lik bu hacim içerisinde 1x tepkime 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP, ileri ve geri öncüllerden 0.8'er µM, 200 ng genomik DNA ve 1.5 birim *Taq çoğuz özgeni* (Fermentas UAB, Vilnius – Litvanya) kullanıldı.

ÇZT'de kullanılan geri öncüldeki 24. nükleotit yanlış eşleşmeli nükleotit olarak kullanıldı. Bu sayede *Eco 52I* özgeni için kesim bölgesinin oluşması sağlandı.

Isı döngüleme cihazı koşulları ise, başlangıç eritmesi 96°C'de 3 dakika, eritme 94°C'de 15 saniye, bağlanma 62.5°C'de 30 saniye ve uzama 72°C'de 30 saniye olarak belirlendi. ÇZT toplam döngü sayısı ise 32 döngü olarak belirlendi.

ÇZT sonucunda çoğalan ve KPUP'ye alınacak olan örneklerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme ve UV ışıkta bilgisayarlı (Biolab, İngiltere ) görüntüleme yapıldı. Jel olarak standart %2'lik agaroz kullanıldı.

Kesim işlemi için 12.5 µl ÇZT ürünü üzerine 10U *Eco 52I* (Fermentas UAB, Vilnius – Litvanya) şirketin belirttiği şartlarda ilave edilerek 37°C'lik etüvde 1 gece sallamalı olarak bekletildi.

Kesim sonucunda oluşan bantların görüntülenmesi ve genotiplerin belirlenmesi amacıyla EtBr'lü agaroz jelde yürütme yapıldı. %2'lik nu mikropor veya %3'lük standart agaroz jel kullanıldı. Tüm yürütme işlemlerinin sonuçları UV ışık altında görüntülendi ve fotoğrafları (ışıkçizgi) görüntü analiz sistemine kaydedildi.

Kesim işlemi sonucunda homozigot yabani tip (CC) örneklerde 178 bç'lik tek bant, heterozigot (CG) örneklerde 178 ve 151 bç'lik iki bant, homozigot polimorfik (GG) bireylerde ise 151 bç'lik tek bant gözlemlendi.

### **APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizminde bireylerin genotiplerinin belirlenmesi:**

APOA5 -1131T>C polimorfizmi (rs662799) 11q23 bölgesinde, genin promotor dizisinin içinde bulunmaktadır (Hsu ve ark., 2006). Bu bölgede yer alan 154 bç'lik polimorfik nükleotiti içeren parça ÇZT yöntemi ile çoğaltıldı (Talmud ve ark., 2002). İleri öncül dizisi “5'-GGAGCTTGTGAACGTGTGTATGAGT-3'”, geri öncül dizisi ise “5'-

CCCCAGGAACTGGAGCGAAATT-3' olarak seçildi. Tepkime karışımı ÇZT tüpü başına 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve dağıtıldı. 25 µl'lik bu hacim içerisinde 1x tepkime tamponu, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP, ileri ve geri öncüllerden 0.8'er µM, 200 ng genomik DNA ve 1.5 birim *Taq çoğuz özgeni* (Fermentas UAB, Vilnius – Litvanya) kullanıldı.

ÇZT'de kullanılan geri öncüldeki 21. sırada bulunan nükleotit yanlış eşleşmeli olarak DNA'da C>A (öncülde T) dönüşümü oluşturacak şekilde seçildi. Bu sayede *Tru9I* özgeni için kesim bölgesi oluşması sağlandı.

Isı döngüleme cihazı koşulları ise, başlangıç eritmesi 96°C'de 5 dakika, eritme 96°C'de 30 saniye, bağlanma 60°C'de 30 saniye ve uzama 72°C'de 30 saniye olarak belirlendi. ÇZT toplam döngü sayısı ise 30 döngü olarak belirlendi.

ÇZT sonucunda çoğalan ve KPUP'ye alınacak olan örneklerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme ve UV ışıkta görüntüleme yapıldı. Jel olarak standart %2'lik agaroz kullanıldı.

Kesim işlemi için 12.5 µl veya 20 µl ÇZT ürünü üzerine 10U *Tru9I* (Bioron, Ludwigshafen, Almanya ve SibEnzyme, Novosibirsk, Rusya) şirketin belirttiği şartlarda ilave edilerek 65°C'lik etüvde 7 saat bekletildi.

Kesim sonucunda oluşan bantların görüntülenmesi ve genotiplerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme yapıldı. %2'lik nu mikropor veya %3'lük standart agaroz jel kullanıldı. Tüm yürütme işlemlerinin sonuçları UV ışık altında görüntülendi ve ışıkçizgileri görüntü analiz sistemine kaydedildi.

Kesim işlemi sonucunda homozigot vahşi tip (TT) örneklerde 154 bç'lik tek bant, heterozigot (CG) örneklerde 154 ve 133 bç'lik iki bant, homozigot polimorfik (GG) bireylerde ise 133 bç'lik tek bant gözlemlendi.

### **APOA5 genindeki c.553G>T polimorfizminde bireylerin genotiplerinin belirlenmesi:**

APOA5 c.553G>T polimorfizmi (rs2075291) 11q23 bölgesinde, genin 553. nükleotiti noktasında bulunmaktadır (Tang ve ark., 2006). Bu bölgede yer alan 138 bç'lik polimorfik nükleotiti içeren parça ÇZT yöntemi ile çoğaltıldı (Tang ve ark., 2006). İleri öncül dizisi "5'-AGACACCAAGGCCAGTTGCTGGG-3'", geri öncül dizisi ise "5'-ATGCCGCTCACCAGGCTCTCGGCG-5'" olarak seçildi. Tepkime karışımı ÇZT tüpü başına 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve dağıtıldı. 25 µl'lik bu hacim içerisinde 1x tepkime

tamponu, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP, ileri ve geri öncüllerden 0.8'er µM, 200 ng genomik DNA ve 1.5 birim *Taq çoğuz özgeni* (Fermentas UAB, Vilnius, Litvanya) kullanıldı.

Isı döngüleme cihazı koşulları ise, başlangıç eritmesi 96°C'de 5 dakika, eritme 96°C'de 30 saniye, bağlanma 58°C'de 30 saniye ve uzama 72°C'de 30 saniye olarak belirlendi. ÇZT toplam döngü sayısı ise 35 döngü olarak belirlendi.

ÇZT sonucunda çoğalan ve KPUP'ye alınacak olan örneklerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme ve UV ışıkta görüntüleme yapıldı. %2'lik agaroz jel kullanıldı.

Kesim işlemi için 12.5 µl ÇZT ürünü üzerine 10U *Tru9I* (Promega, Madison, WI) şirketin belirttiği şartlarda ilave edilerek 37°C'lik etüvde 16 saat sallamalı olarak bekletildi.

Kesim sonucunda oluşan bantların görüntülenmesi ve genotiplerin belirlenmesi amacıyla EtBr'lü agaroz jelde yürütme yapıldı. Jel olarak %2'lik nu mikropor veya %3'lük standart agaroz kullanıldı. Tüm yürütme işlemlerinin sonuçları UV ışık altında görüntülendi ve ışıkçizgileri görüntü analiz sistemine kaydedildi.

Kesim işlemi sonucunda homozigot vahşi tip (GG) örneklerde 51 ve 76 bç'lik iki bant, heterozigot (GT) örneklerde 51, 76 ve 127 bç'lik üç bant, homozigot polimorfik (TT) bireylerde ise 127 bç'lik tek bant gözlemlendi.

### **APOC3 genindeki -482C>T polimorfizminde bireylerin genotiplerinin belirlenmesi:**

APOC3 -482C>T polimorfizmi (rs2854117) 11q23 bölgesinde, genin promotor dizisinde bulunmaktadır (Li ve ark., 2006). Bu bölgede yer alan 227 bç'lik polimorfik nükleotiti içeren parça ÇZT yöntemi ile çoğaltıldı (Li ve ark., 2006). İleri öncül dizisi olarak 5'-GGATTGAAACCCAGAGATGGAGGTG-3' geri öncül dizisi ise "5'-TCACACTGGAATTCAGGCC-3' olarak seçildi. Tepkime karışımı ÇZT tüpü başına 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve dağıtıldı. 25 µl'lik bu hacim içerisinde 1x tepkime tamponu, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP, ileri ve geri öncüllerden 0.8'er µM, 200 ng genomik DNA ve 1.5 birim *Taq çoğuz özgeni* (Fermentas UAB, Vilnius, Litvanya) kullanıldı.

Isı döngüleme cihazı koşulları ise, başlangıç eritmesi 94°C'de 3 dakika, eritme 94°C'de 15 saniye, bağlanma 62°C'de 20 saniye ve uzama 72°C'de 20 saniye olarak belirlendi. ÇZT toplam döngü sayısı ise 30 döngü olarak belirlendi.

ÇZT sonucunda çoğalan ve RFLP'ye alınacak olan örneklerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme ve UV ışıkta görüntüleme yapıldı. %2'lik agaroz jel kullanıldı.

Kesim işlemi için 12.5 µl ÇZT ürünü üzerine 10U *MspI* (Bioron, Ludwigshafen, Almanya) şirketin belirttiği şartlarda ilave edilerek 37°C'lik etüvde 16 saat sallamalı olarak bekletildi.

Kesim sonucunda oluşan bantların görüntülenmesi ve genotiplerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme yapıldı. Jel olarak %2'lik nu mikropor veya %3'lük standart agaroz kullanıldı. Tüm yürütme işlemlerinin sonuçları UV ışık altında görüntülendi ve ışıkçizgileri bilgisayara kaydedildi.

Kesim işlemi sonucunda homozigot vahşi tip (CC) örneklerde 145 bç'lik tek bant, heterozigot (CT) örneklerde 145 ve 166 bç'lik iki bant, homozigot polimorfik (TT) bireylerde ise 166 bç'lik tek bant gözlemlendi.

### **APOC3 genindeki *SstI* polimorfizminde bireylerin genotiplerinin belirlenmesi:**

APOC3 *SstI* polimorfizmi (rs5128) 11q23 bölgesinde, genin dördüncü ekzonunun 3' transle edilmeyen dizisinde bulunmaktadır (Chhabra ve ark., 2002). Bu bölgede yer alan 428 bç'lik polimorfik nükleotiti içeren parça ÇZT yöntemi ile çoğaltıldı. İleri öncül dizisi olarak "5'-CATGGTTGCCTACAGGAGTTC-3'" ve geri öncül dizisi olarak da "5'-TGTCGAAACACGCCTTCCAGT-3'" olarak seçildi. Tepkime karışımı ÇZT tüpü başına 25 µl olacak şekilde hazırlandı ve dağıtıldı. 25 µl'lik bu hacim içerisinde 1x tepkime tamponu 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP, ileri ve geri öncüllerden 0.8'er µM, 200 ng genomik DNA ve 1.5 birim *Taq çoğuz özgeni* (Fermentas UAB, Vilnius, Litvanya) kullanıldı.

Isı döngüleme cihazı koşulları ise, başlangıç eritmesi 95°C'de 5 dakika, eritme 95°C'de 50 saniye, bağlanma 58°C'de 45 saniye ve uzama 72°C'de 60 saniye olarak belirlendi. ÇZT toplam döngü sayısı ise 30 döngü olarak belirlendi.

ÇZT sonucunda çoğalan ve RFLP'ye alınacak olan örneklerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme ve UV ışıkta görüntüleme yapıldı. %2'lik agaroz jel kullanıldı.

Kesim işlemi için 12.5 µl ÇZT ürünü üzerine 10U *SstI* (Fermentas UAB, Vilnius, Litvanya) şirketin belirttiği şartlarda ilave edilerek 37°C'lik etüvde 16 saat sallamalı olarak bekletildi.

Kesim sonucunda oluşan bantların görüntülenmesi ve genotiplerin belirlenmesi amacıyla EtBr'li agaroz jelde yürütme yapıldı. Jel olarak %2'lik nu mikropor veya %3'lük standart agaroz kullanıldı. Tüm yürütme işlemlerinin sonuçları UV ışık altında görüntülendi ve ışıkçizgileri bilgisayara kaydedildi.

Kesim işlemi sonucunda homozigot yabancı tip (CC) örneklerde 428 tek bant, heterozigot (CG) örneklerde 428, 159 ve 269 bç'lik üç bant, homozigot polimorfik (GG) bireylerde ise 159 ve 269 bç'lik iki bant gözlemlendi.

### **3.8. SAYITIMSAL DEĞERLENDİRME**

Sayıtımsal değerlendirilmede SPSS 16 yazılımı kullanıldı. Hasta ve kontrol kümelerinde cinsiyet, yaş, TK, HDLK, LDLK ve VKI ortalamalarının eklemeli etkisinin araştırılması amacıyla çoklu lojistik regresyon çözümlemesi kullanıldı. Lojistik regresyon çözümlemesinde bağımlı değişken olarak populasyon (hasta populasyonu yada kontrol populasyonu) değişkeni seçildi. Bağımsız değişkenler olarak ise cinsiyet, yaş, toplam kolesterol, HDLK, LDLK ve VKI seçildi, böylece belirtilen değişkenlerin bireyin hasta veya kontrol kümesine girmesini hangi oranda etkileyebileceği araştırıldı. Hasta ve kontrol kümeleri arasında HDLK seviyeleri karşılaştırması için Ki-kare testi kullanıldı. Genotipler arasındaki VKI ortalaması farkını karşılaştırmak için Ki-kare testi kullanıldı. APOA5 ve APOC3 polimorfik alel taşıyıcılarında TK, HDLK ve LDLK ortalamalarının karşılaştırılması risk hesaplamalı Ki-kare testi ile yapıldı. Hasta ve kontrol kümelerindeki APOA5 ve APOC3 polimorfizmlerine ait genotipler karşılaştırılırken Ki-kare testi, polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireyler karşılaştırılırken ise risk hesaplamalı (olasılık oranı) Ki-kare testi kullanıldı. P değerlerine ait olasılık oranları ve %95 güven aralığı değerleri hesaplamaya dahil edilerek ilgili yerlerde verildi. P değerinin anlamlılık sınırı 0.05 olarak belirlendi. Verilen tüm olasılık oranları %95 güven aralığına göre hesaplandı.

#### **3.8.1 Kullanılan yöntemin kontrolü**

Polimorfizmlerin ÇZT-KPUP yöntemi ile hasta ve kontrol kümesinde tanımlanması sürecinde önceden çalışılan hastalar körlemesine seçilerek tekrar çalışılmıştır. Bu sayede laboratuvar çalışmasının doğru yapıp yapılmadığı kontrol edilmeye çalışılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. ÇALIŞMA VE KONTROL KÜMELERİNDEKİ BİREYLERE AİT DEMOGRAFİK VERİLERİN DEĞERLENDİRMESİ

Çalışmaya dahil edilen hasta kümesindeki bireylerin %50'si kadın, %50'si ise erkek bireylerden oluşmaktaydı. Kontrol kümesindeki bireyler ise %60 kadınlardan %40 erkeklerden oluşmaktaydı. Hasta kümesindeki bireylerin yaş ortalaması 46 olmakla birlikte en küçük yaştaki birey 23, en büyük yaştaki birey ise 78 yaşındaydı. Kontrol kümesinde ise yaş ortalaması 40 olmakla birlikte en küçük bireyin yaşı 19, en büyük bireyin yaşı ise 77'ydi (Tablo 4).

Çalışmaya dahil edilen polimorfizmlerde hasta ve kontrol kümelerinde genotiplerin Hardy-Weinberg dengesinin sağlanıp sağlanmadığı kontrol edilmiştir. Hardy-Weinberg dengesi -482C>T polimorfizminin kontrol kümesinde, c.56C>G polimorfizminin ise hem kontrol hem de hasta kümesinde sağlandığı gözlenmiştir.

**Tablo 4.** Çalışmaya katılan hasta ve kontrol kümelerindeki bireylerin özellikleri.

Populasyon	Veri	Yaş	TG mg/dl	TK mg/dl	HDLK mg/dl	LDLK mg/dl	VKI mg/dl
<b>Hasta</b>	Sayı	140	140	140	129	125	140
	Ortalama	46,46	330,48	214,83	39,46	112,06	29,15
	En küçük	23	202	142	16	38	19
	En büyük	78	1135	338	76	231	42
	Standart sapma	±11,741	±122,479	±43,675	±10,177	±41,077	±4,498
	Toplamda yüzde (kaydı bulunan)	43,5%	43,5%	43,6%	41,9%	42,1%	43,8%
<b>Kontrol</b>	Sayı	182	182	181	179	172	180
	Ortalama	39,88	111,83	173,53	46,92	101,97	25,88
	En küçük	19	33	54	21	35	17
	En büyük	77	202	752	99	251	44
	Standart sapma	±12,809	±44,714	±59,867	±14,334	±33,897	±4,565
	Toplamda yüzde (kaydı bulunan)	56,5%	56,5%	56,4%	58,1%	57,9%	56,2%

Tablo 5’de genotipler dikkate alınmadan çalışılan hasta ve kontrol kümelerinde cinsiyet, yaş, TK, HDLK, LDLK ve VKI değişkenlerine göre yapılan lojistik regresyon sonuçları verilmektedir. Bu sonuçlara göre tüm değişkenler birlikte dikkate alındığında bireyin hasta veya kontrol kümesine girmesini TK, HDLK ve VKI değerleri sayımsal olarak anlamlı derecede etkileyebilmektedir (sırasıyla  $OO=9.026$  %95GA= 4.508-18.069  $p<0.001$ ,  $OO=3.509$  %95GA=1.801-6.840  $p<0.001$ ,  $OO=3.745$  %95GA=2.024-6.929  $p<0.001$ ). Ancak bireyin cinsiyeti, yaşı ve LDLK değeri lojistik regresyon çözümlemesi sonucuna göre bireyin hasta veya kontrol kümesine girmesini sayımsal olarak anlamlı derecede etkilememektedir.



**Tablo 5.** Hasta ve kontrol kümelerinde cinsiyet, yaş, TK, HDLK, LDLK ve VKI değerlerine göre lojistik regresyon çözümlemesi ve risk hesaplaması sonuçları.

	Kontrol kümesi sayı ve ortalamaları (%)	Hasta kümesi sayı ve ortalamaları (%)	P	OO	(%95 GA)
Cinsiyet	Erkek = 72 Kadın = 110	Erkek = 70 Kadın = 70	0.114	0.630	0.355–1.118
Yaş	39.88	46.46	0.493	1.008	0.985–1.032
TK	173.53	214.83	< <b>0.001</b>	<b>9.026</b>	<b>4.508–18.069</b>
HDLK	46.92	39.46	< <b>0.001</b>	<b>3.509</b>	<b>1.801–6.840</b>
LDLK	101.97	112.06	0.659	1.270	0.438–3.681
VKI	25.88	29.15	< <b>0.001</b>	<b>3.745</b>	<b>2.024–6.929</b>

Tablo 6’da hasta ve kontrol kümelerinde HDLK ortalamaları verilerek bu ortalama değerleri Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda hasta ve kontrol kümelerindeki HDLK seviyesi ortalamalarının anlamlı derece farklı olduğu görüldü (OO=1.753 %95GA=1.066-2.882  $p=0.036$ ). Ancak TK ve LDLK değerlerinin aksine HDLK seviyesi hasta kümesinde kontrol kümesine göre daha düşük bulundu. HDLK seviyesi ortalamasının hasta ve kontrol kümelerinde anlamlı derecede farklı olup olmadığı Ki-kare ile ayrıca desteklenmek istendi çünkü diğer trigliserit ve kolesterol seviyelerinin tersine HDLK kolesterol seviyesinin kanda yüksek olması (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı sınır değerleri 35-75 mg/dl’dir.) istenmektedir.

**Tablo 6.** Hasta ve kontrol kümelerinde HDLK seviyeleri ortalamalarının karşılaştırılması ve risk hesaplaması.

Küme	HDLK ortalaması mg/dl	Standart sapma	P	OO	% 95 GA
Hasta	39.46	10.2	<b>0.036</b>	<b>1.753</b>	<b>1.066-2.882</b>
Kontrol	46.92	14			

APOA5 ve APOC3 genlerindeki çalışılan polimorfizmleri VKI katmanlarına göre değerlendirmek amacıyla Tablo 7’de verilen Ki-kare çözümlenmesi yapıldı. Yapılan Ki-kare çözümlenmesinde tüm polimorfizmler için homozigot normal bireylerin ortalaması ile polimorfik alel taşıyan bireylerdeki ortalama karşılaştırılmıştır. VKI sınırı olarak  $25 \text{ kg/m}^2$  alınmıştır. Literatürde farklı VKI sınır değerlerine göre 5 ve daha fazla kümeye ayrılabilir, ancak normal VKI sınırı  $25 \text{ kg/m}^2$  olarak kabul edilir.  $25 \text{ kg/m}^2$ ’nin üstündeki değerler ise fazla kilolu olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda  $25 \text{ kg/m}^2$ ’nin üstü ve altı olmak üzere iki küme belirlenmesinin amacı sayıtsal olarak daha güvenilir sonuç elde edebilmektir. Elde edilen sonuçlara göre VKI ile polimorfik alel taşıyıcılığı arasında hiçbir polimorfizmde ilişki bulunmadı.

**Tablo 7.** APOA5 ve APOC3 genotiplerinde polimorfik alel taşıyıcılarının VKI katmanlarına göre dağılımının sayıtım sonuçları.

Polimorfizm	Genotip	VKI $\leq$ 25 kg/m <sup>2</sup> sayı	VKI $>$ 25 kg/m <sup>2</sup> sayı	P	OO	%95 GA
APOA5 c.56C>G	CC	100	161	0.256	1.532	0.800 – 2.934
	CG+GG	15	37			
APOA5 - 1131T>C	TT	73	144	0.553	0.824	0.488 – 1.389
	TC+CC	32	52			
APOA5 c.553G>T	GG	113	199	1.000	1.005	0.995 – 1.015
	GT+TT	0	1			
APOC3 -482 C>T	CC	53	88	0.862	1.071	0.676 – 1.696
	CT+TT	63	112			
APOC3 SstI	CC	70	114	0.452	1.244	0.763 – 2.030
	CG+GG	38	77			

Tablo 8’de APOA5 ve APOC3 geni polimorfik alel taşıyıcılarında total kolesterol, HDL kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinin ortalamalarının Ki-kare testi ile karşılaştırma sonuçları yer almaktadır. Sonuçlara göre APOA5 geni -1131T>C polimorfizminde C aleli ile kan total kolesterol seviyesi sayıtımsal olarak anlamlı derecede ilişkilidir ve C alel taşıyıcılarında kan total kolesterol seviyesi homozigot normal bireylere göre daha yüksektir (OO=1.675 %95GA=1.003-2.796  $p=0.048$ ). APOC3 geninde çalışmaya dahil edilen iki polimorfizm olan APOC3 -482C>T ve APOC3 SstI polimorfizmlerinin T ve G alel taşıyıcıları ile kan total kolesterol seviyesi arasında da sayıtımsal olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (sırasıyla OO=1.984 %95GA=1.237-3.182  $p=0.004$  ve OO=2.169

%95GA=1.340-3.513  $p=0.002$ ). Her iki polimorfik alel taşıyıcılarında da kan total kolesterol seviyesi homozigot normal bireylere göre daha yüksektir. Çalışılan beş polimorfizmde polimorfik alel taşıyıcıları ile kan HDL kolesterol ve LDL kolesterol seviyeleri arasında sayımsal olarak anlamlı derecede ilişki bulunmamıştır. Ancak APOC3 geni SstI polimorfizminde polimorfik alel taşıyıcıları ile LDL kolesterol seviyesi arasındaki ilişki sayımsal olarak anlamlı olmasada, 0.05 olan sınır değere yakındır ( $p=0.074$ ).

**Tablo 8.** APOA5 ve APOC3 polimorfik alel taşıyıcılarında TK, HDLK ve LDLK ortalamalarının karşılaştırılması ve risk hesaplamaları.

	Genotip (sayı)	TK	HDLK	LDLK
APOA5 c.56C>G	CC (263)	P =0.81 OO=0.523	P =0.832 OO=0.873	P =0.939 OO=0.786
	CG+GG (52)	%95 GA=0.266 – 1.027	%95 GA=0.438– 1.741	%95 GA=0.223– 2.768
APOA5 -1131T>C	TT (218)	<b>P =0.048</b> <b>OO=1.675</b>	P =0.093 OO=0.628	P =0.2 OO=1.790
	TC+CC (84)	<b>%95 GA=1.003 – 2.796</b>	%95 GA=0.364 – 1.082	%95 GA=0.702 – 4.564
APOA5 c.553G>T	GG (314)	P =0.45 OO=0.636	P =0.116 OO=0.287	P =0.785 OO=0.931
	GT+TT (1)	%95 GA=0.585 – 0.691	%95 GA=0.240 – 0.343	%95 GA=0.902 – 0.961
APOC3	CC (142)	<b>P =0.004</b>	P =0.779	P =0.1

-482C>T	CT+TT (175)	<b>OO=1.984</b> <b>%95 GA=1.237 – 3.182</b>	OO=0.931 %95 GA=0.566 – 1.531	OO=2.216 %95 GA=0.842 – 5.836
APOC3 SstI	CC (185)	<b>P =0.002</b> <b>OO=2.169</b>	P =0.976 OO=0.992	P =0.074 OO=2.236
	CG+GG (115)	<b>%95 GA=1.340 – 3.513</b>	%95 GA=0.587 – 1.677	%95 GA=0.909 – 5.502

Hasta ve kontrol kümelerindeki VKI ortalamaları Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Tablo 9'daki sonuçlara göre hasta ve kontrol kümelerindeki VKI ortalamaları arasındaki fark sayımsal olarak anlamlıdır (OO=4.48 %95 GA=2.675-7.515  $p<0.001$ ).

**Tablo 9.** Hasta ve kontrol kümelerinde VKI ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

Küme	VKI $\leq$ 25 kg/m <sup>2</sup> sayı (%)	VKI $>$ 25 kg/m <sup>2</sup> sayı (%)	P	OO	%95 GA
Hasta	26 (22.7)	114 (56.2)	<b>&lt; 0.001</b>	<b>4.483</b>	<b>2.675–7.515</b>
Kontrol	91 (77.8)	89 (43.8)			
Toplam	117 (100)	203 (100)			

Hem APOA5 genindeki üç adet polimorfizmde hem de APOC3 genindeki iki adet polimorfizmde kan trigliserit seviyesi ile olan ilişki hem tüm genotiplerde hemde polimorfik alel taşıyıcılarında sayımsal olarak araştırılmıştır. Tablo 10'da değerleri verilen APOA5 geni -1131T>C polimorfizminde genotipler arasındaki kan trigliserit seviyesi farkı sayımsal olarak anlamlıdır ve TC bireyler ile CC bireyler TT bireylerden ayrı ayrı olmak üzere daha yüksek kan trigliserit seviyesine sahiptirler ( $p=0.005$ ).

**Tablo 10.** APOA5 geni -1131T>C polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesi genotiplerinin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P
TT	85 (63.4)	133 (79.2)	<b>0.005</b>
TC	15 (11.2)	15 (8.9)	
CC	34 (25.4)	20 (11.9)	
Toplam	134 (100)	168 (100)	

Tablo 11’de ise yine aynı polimorfizmde heterozigot bireyler ile homozigot polimorfik bireyler birleştirilerek yapılan çözümlemede polimorfik alel taşıyıcıları ile yüksek kan trigliserit seviyesi arasındaki ilişki daha da güçlü bulunmuştur (OO=2.191 %95 GA 1.313–3.656  $p=0.004$ ).

**Tablo 11.** APOA5 geni -1131T>C polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesinde polimorfik C alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
TT	85 (63.4)	133 (79.2)	<b>0.004</b>	<b>2.191</b>	<b>1.313– 3.656</b>
TC+CC	49 (36.6)	35 (20.8)			
Toplam	134 (100)	168 (100)			

Tablo 12’de sonuçları verilen APOC3 geni -482C>T polimorfizminde CT ve TT genotipleri ayrı ayrı olarak homozigot normal bireylerden kan trigliserit seviyesi olarak anlamlı derece yüksek sonuçlar gösterdiler ( $p=0.003$ ). Tablo 13’de değerleri verilen ve aynı polimorfizmdeki polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireylerin değerleri ise homozigot normal bireylerden sayımsal olarak daha yüksek derecede anlamlı kan trigliserit seviyesi gösterdiler (OO=2.190 %95GA=1.385–3.463  $p=0.001$ ).

**Tablo 12.** APOC3 geni -482C>T polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesi genotiplerinin karşılaştırılması

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P
CC	47 (34.1)	95 (53.1)	<b>0.003</b>
CT	77 (55.8)	71 (39.7)	
TT	14 (10.1)	13 (7.3)	
Toplam	138	179	

**Tablo 13.** APOC3 geni -482C>T polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesinde polimorfik T alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
CC	47 (34.1)	95 (53.1)	<b>0.001</b>	<b>2.190</b>	<b>1.385–3.463</b>
CT+TT	91 (65.9)	84 (46.9)			
Toplam	138 (100)	179 (100)			

Tablo 14’de gösterilen sayımsal sonuçlarında ise APOC3 geni SstI polimorfizminde genotipler arasında kan trigliserit seviyesi bakımından anlamlı derecede ilişki vardır

( $p=0.006$ ). CG ve GG genotipleri ayrı ayrı olarak homozigot normal bireylerden sayımsal olarak anlamlı derecede yüksek kan trigliserit seviyesi göstermektedirler.

**Tablo 14.** APOC3 geni *SstI* polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesi genotiplerinin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P
CC	71 (52.6)	114 (69.1)	<b>0.006</b>
CG	62 (45.9)	51 (30.9)	
GG	2 (1.5)	-	
Toplam	135 (100)	165 (100)	

Yine aynı polimorfizmde Tablo 15’de verilen sonuçlara göre polimorfik G alelini taşıyan bireyler homozigot normal bireylere göre sayımsal olarak anlamlı derecede yüksek kan trigliserit seviyesi gösterdiler ( $OO=2.015$  %95GA=1.256–3.232  $p=0.005$ ).

**Tablo 15.** APOC3 geni *SstI* polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesinde polimorfik G alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
CC	71 (52.6)	114 (69.1)	<b>0.005</b>	<b>2.015</b>	<b>1.256– 3.232</b>
CG+GG	64 (47.4)	51 (30.9)			
Toplam	135 (100)	165 (100)			



Tablo 16 ve 17’de verilen sonuçlara göre APOA5 geni c.56C>G polimorfizmi ile kan trigliserit seviyesi arasında sayımsal yönden anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

**Tablo 16.** APOA5 geni c.56C>G polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesi genotiplerinin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P
CC	107 (79.3)	156 (86.7)	0.194
CG	26 (19.3)	23 (12.8)	
GG	2 (1.4)	1 (0.5)	
Toplam	135 (100)	180 (100)	

**Tablo 17.** APOA5 geni c.56C>G polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesinde polimorfik G alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
CC	107 (79.3)	156 (86.7)	> 0.05	1.701	0.935 – 3.094
CG+GG	28 (20.7)	24 (13.4)			
Toplam	135 (100)	180 (100)			

Tablo 18 ve 19’da verilen sonuçlara göre APOA5 geni c.553G>T polimorfizminde hasta kümesinde heterozigot bir adet birey bulunması ve homozigot polimorfik birey bulunmaması nedeniyle sayımsal olarak hesaplama yapılamamıştır.

**Tablo 18.** APOA5 geni c.553G>T polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesi genotiplerinin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P
GG	136 (99.3)	178 (100)	-
GT	1 (0.7)	-	
TT	-	-	
Toplam	137 (100)	178 (100)	

**Tablo 19.** APOA5 geni c.553G>T polimorfizminde çalışılan hasta ve kontrol kümesinde polimorfik T alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
GG	136 (99.3)	178 (100)	-	-	-
GT+TT	1 (0.7)	-			
Toplam	137 (100)	178 (100)			

**Tablo 20.** APOA5 geni c.56C>G polimorfizminde hasta ve kontrol kümelerinde homozigot polimorfik bireyler ile homozigot normal ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
---------	------------------------------------	--------------------------------------	---	----	--------

CC+CG	107 (80)	156 (87)	> 0.05	0.607	0.329 – 1.120
GG	26 (20)	23 (13)			
Toplam	133 (100)	179 (100)			

**Tablo 21.** APOA5 geni -1131T>C polimorfizminde hasta ve kontrol kümelerinde homozigot polimorfik bireyler ile homozigot normal ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
TT+TC	100 (75)	148 (88)	<b>0.02</b>	<b>1.6</b>	<b>1.121 – 2.315</b>
CC	34 (25)	20 (12)			
Toplam	134 (100)	168 (100)			

**Tablo 22.** APOA5 geni c.553G>T polimorfizminde hasta ve kontrol kümelerinde homozigot polimorfik bireyler ile homozigot normal ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
GG+GT	136 (99)	178 (100)	>0.05	0.433	0.382 – 0.492
TT	1 (1)	- (-)			
Toplam	137 (100)	178 (100)			

**Tablo 23.** APOC3 geni -482C>T polimorfizminde hasta ve kontrol kümelerinde homozigot polimorfik bireyler ile homozigot normal ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey	Kontrol kümesindeki birey	P	OO	%95 GA
---------	-------------------------	---------------------------	---	----	--------

	sayısı (%)	sayısı (%)			
CC+CT	124 (90)	166 (93)	>0.05	1.189	0.894 – 1.780
TT	14 (10)	13 (7)			
Toplam	138 (100)	179 (100)			

**Tablo 24.** APOC3 geni *SstI* polimorfizminde hasta ve kontrol kümelerinde homozigot polimorfik bireyler ile homozigot normal ve heterozigot bireylerin karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki birey sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
CC+CG	133 (99)	165 (100)	>0.05	0.446	0.393 – 0.506
GG	2 (1)	- (-)			
Toplam	135 (100)	165 (100)			

**Tablo 25.** APOA5 geni c.56C>G polimorfizmi hasta ve kontrol kümelerinde alel sıklıklarının karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki alel sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
C	240 (90)	335 (93)	>0.05	-	-
G	28 (10)	24 (7)			
Toplam	268 (100)	359 (100)			

**Tablo 26.** APOA5 geni -1131T>C polimorfizmi hasta ve kontrol kümelerinde alel sıklıklarının karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki alel sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
T	185 (69)	281 (84)	<0.001	2.29	1.555-3.378
C	83 (31)	55 (16)			
Toplam	268 (100)	336 (100)			

**Tablo 27.** APOA5 geni c.553G>T polimorfizmi hasta ve kontrol kümelerinde alel sıklıklarının karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki alel sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
G	273 (99.6)	356 (100)	-	-	-
T	1 (0.4)	0 (0)			
Toplam	274 (100)	356 (100)			

**Tablo 28.** APOC3 geni -482C>T polimorfizmi hasta ve kontrol kümelerinde alel sıklıklarının karşılaştırılması.

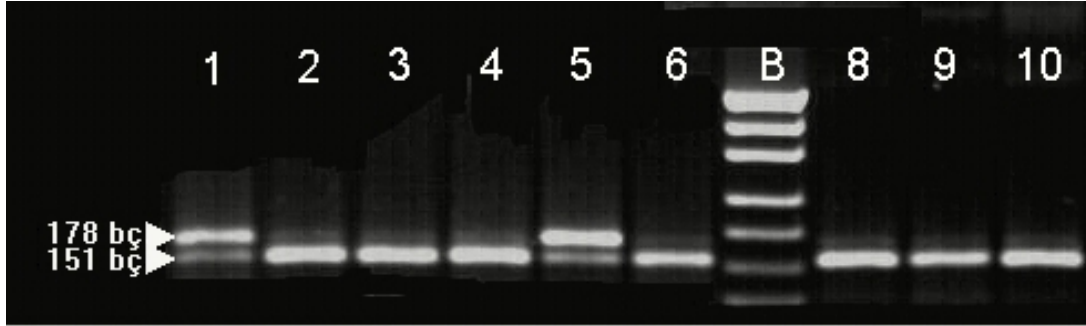
Genotip	Hasta kümesindeki alel sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
C	171 (83)	261 (73)	<0.05	0.55	0.357-0.848
T	35 (17)	97 (27)			
Toplam	206 (100)	358 (100)			

**Tablo 29.** APOC3 geni *SstI* polimorfizmi hasta ve kontrol kümelerinde alel sıklıklarının karşılaştırılması.

Genotip	Hasta kümesindeki alel sayısı (%)	Kontrol kümesindeki birey sayısı (%)	P	OO	%95 GA
C	202 (75)	279 (85)	<0.05	1.88	2.68
G	66 (25)	51 (15)			
Toplam	268 (100)	330 (100)			

**APOA5 geni c.56C>G polimorfizmi ile ilgili bulgular**

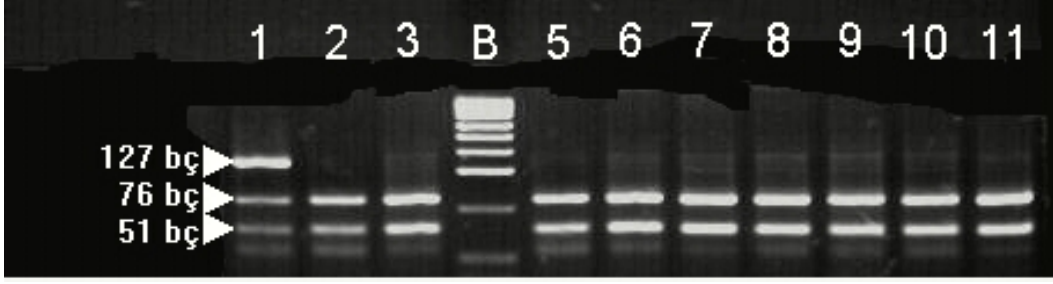
APO5 geni c.56C>G polimorfizmini tanımlayabilmek amacıyla ilgili bölge çoğaltıldıktan sonra *Eco52I* özgeni ile kesildi. Kesim sonrası oluşan bantlar ve polimorfizmi tanımlamak için bakılan bant uzunlukları Şekil 5’de gösterilmiştir.



**Şekil 5.** APOA5 geni c.56C>G polimorfizmi jel görüntüsü.

Fotoğraftaki (ışıkçizgi) yürütme görüntüsünde 9 adet örneğin c.56C>G polimorfizmi yanımlamasına ilişkin bant görüntüleri yer almaktadır. c.56C>G polimorfizminde normal alellerde kesim oluşmakta ve 151 bç’lik bant görülmektedir. Polimorfik alellerde ise kesim oluşmamakta ve 178 bç’lik bant görülmektedir. 1 ve 5. kuyulardaki örnekler heterozigot bireyleri, 2, 3, 4, 6, 8, ve 10. kuyulardaki örnek ise homozigot normal bireyleri göstermektedir. B kuyusunda kullanılan belirteç pUC19/MspI belirtecidir. Bu belirteçde



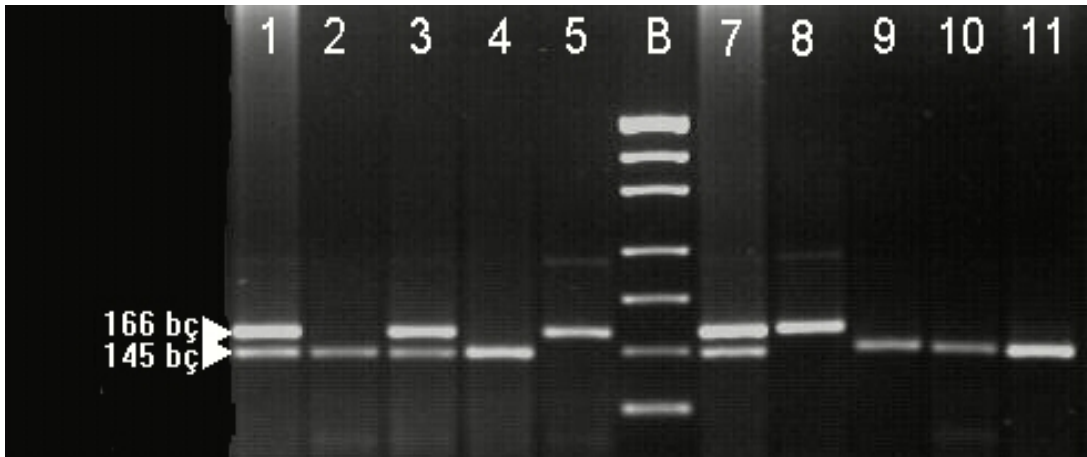


**Şekil 7.** APOA5 geni c.553G>T polimorfizmi jel görüntüsü

Işıkçizgideki yürütme görüntüsünde 11 adet örneğin c.553G>T polimorfizmi tanımlamasına ilişkin bant görüntüleri yer almaktadır. c.553G>T polimorfizminde normal alellerde kesim oluşmakta, 51 ve 76 bç'lik iki bant görülmektedir. Polimorfik alellerde ise kesim oluşmamakta ve 127 bç'lik bant görülmektedir. 1. kuyudaki örnek heterozigot bir bireyi, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ve 11. kuyulardaki örnekler ise homozigot normal bireyleri göstermektedir. B kuyusunda kullanılan belirteç pUC19/MspI belirteçidir. Bu belirteçde kuyuda görünen parçalar yukarıdan aşağıya doğru 501+489 bç, 404 bç ve 331 bç'lik bantlar ayrılmamış halde, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111+110, 67 ve 34 bç'lik bantlar ayrılmış halde görülmektedir.

#### **APOC3 geni -482C>T polimorfizmi ile ilgili bulgular**

APOC3 geni -482C>T polimorfizmini tanımlayabilmek amacıyla ilgili bölge çoğaltıldıktan sonra *MspI* özgeni ile kesildi. Kesim sonrası oluşan bantlar ve polimorfizmi tanımlamak için bakılan bant uzunlukları Şekil 8'de gösterilmiştir.



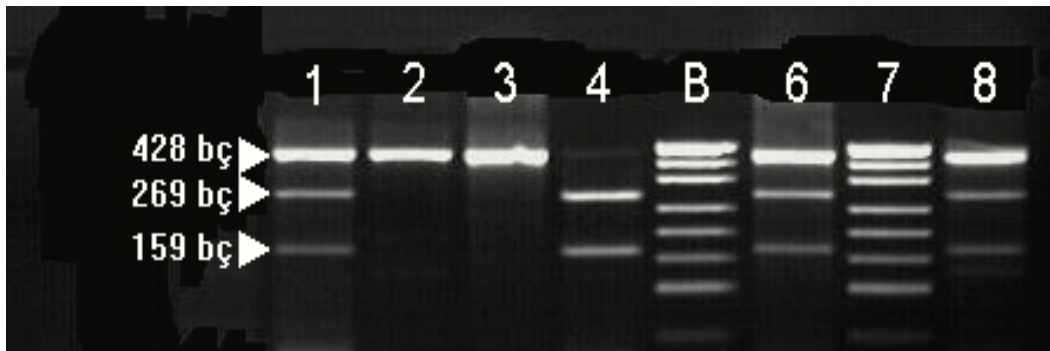


**Şekil 8.** APOC3 geni -482C>T polimorfizmi jel görüntüsü.

Işıkçizgideki yürütme görüntüsünde 11 adet örneğin -482C>T polimorfizmi yanımlamasına ilişkin bant görüntüleri yer almaktadır. -482C>T polimorfizminde normal alellerde kesim oluşmakta, 145 bç'lik bant görülmektedir. Polimorfik alellerde ise kesim oluşmamakta ve 166 bç'lik bant görülmektedir. 1, 3 ve 7. kuyulardaki örnekler heterozigot bireyleri, 2, 4, 9, 10 ve 11. kuyulardaki örnekler ise homozigot normal bireyleri, 5 ve 8. kuyulardaki örnekler ise homozigot polimorfik bireyleri göstermektedir. B kuyusunda kullanılan belirteç pUC19/MspI belirteçidir. Bu belirteçde kuyuda görünen parçalar yukarıdan aşağıya doğru 501+489 bç, 404 bç ve 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111+110 bç'lik DNA'ları göstermektedir.

### APOC3 geni *SstI* polimorfizmi ile ilgili bulgular

APOC3 geni *SstI* polimorfizmini tanımlayabilmek amacıyla ilgili bölge çoğaltıldıktan sonra *SacI* özgeni ile kesildi. Kesim sonrası oluşan bantlar ve polimorfizmi tanımlamak için bakılan bant uzunlukları Şekil 9'da gösterilmiştir.



**Şekil 9.** APOC3 geni *SstI* polimorfizmi jel görüntüsü

Işıkçizgideki yürütme görüntüsünde 8 adet örneğin APOC3 geni *SstI* polimorfizmi yanımlamasına ilişkin bant görüntüleri yer almaktadır. *SstI* polimorfizminde normal alellerde kesim oluşmamakta ve 428 bç'lik tek bant görülmektedir. Polimorfik alellerde ise kesim oluşmakta, 159 ve 269 bç'lik iki bant görülmektedir. 1, 6 ve 8. kuyulardaki örnekler heterozigot bireyleri, 2 ve 3. kuyulardaki örnekler ise homozigot normal bir bireyi, 4. kuyudaki örnek ise homozigot polimorfik bir bireyi göstermektedir. B kuyusunnda kullanılan belirteç pUC19/MspI belirteçidir. Bu belirteçde kuyuda görünen parçalar yukarıdan aşağıya doğru 501+489 bç, 404 bç ve 331 bç, 242 bç, 190 bç, 147 bç, 111+110 bç'lik DNA'ları göstermektedir.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada APOA5 ve APOC3 genlerindeki toplam 5 adet polimorfizmin insanlarda kan trigliserit seviyesi üzerindeki olası etkileri araştırıldı. Hasta ve kontrol kümesini oluşturan bireylere kan yağları ölçümü amacıyla kan vermeye gelmeden önce bir gece aç kalmaları söylendi. Çalışmaya katılan bireyler Orta Karadeniz Bölgesi ile sınırlı tutuldu ve Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi ile Ünye 1 Nolu Sağlık Ocağına başvuran bireylerin katılımı sağlandı. Kan yağları ile ilgili ilaç kullanan, ateroskleroz hastalık geçmişi olan, diyabet geçmişi olan ve herhangi bir endokrin hastalık geçmişi olan bireyler çalışma dışında bırakıldı.

Hasta ve kontrol kümelerinde kan trigliserit seviyesi sınır değeri olarak 200 mg/dl belirlendi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi merkez laboratuvarı sonuç rapor belgesinde kan trigliserit seviyesi üst sınırı olarak 200 mg/dl belirtilmektedir. Kandaki lipid seviyeleri ile genetik polimorfizm arasındaki ilişkileri araştıran çalışmalarda hasta ve kontrol kümesi oluşturma şartları yüksek önem göstermektedir. Çünkü sonucu belirleyecek olan sayıtım hesaplamaları bu sınırlar üzerinden yapılacaktır ve bu sınırlardaki değişiklik sonucu direk olarak etkileyecektir. Bradley ve ark.'nın ABD'de yaptığı çalışmada da hiperlipidemik küme oluşturulurken kan trigliserit seviyesi üst sınırı olarak 200 mg/dl belirlenmiştir (Aouizerat ve ark., 2003). Henneman ve ark. yaptıkları çalışmada hipertrigliseridemik kümeye dahil ettikleri bireylerde kan trigliserit seviyesinin 330 mg/dl'nin üzerinde olma şartı aranmıştır (Henneman ve ark., 2006). Japonya'da Japon popülasyonunda hipertrigliseridemi ile APOA5 geni -1131T>C ve c.553G>T polimorfizmleri arasındaki olası ilişkiyi araştıran bir çalışmada Matsunaga ve ark. hasta ve kontrol kümeleri oluşturmuş ve hasta kümesinde olma şartı olarak kan trigliserit seviyesinin 200 mg/dl'nin üzerinde olma aranmıştır (Matsunaga ve ark., 2007). Kore'de Choi ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise hasta kümesinde olma şartı olarak kan trigliserit seviyesinin 150 mg/dl'den büyük olması aranmıştır. Vrablik ve ark.'nın Çek Cumhuriyeti'nde yaptıkları çalışmada hasta kümesindeki ortalama kan trigliserit seviyesi 1795 mg/dl olarak hesaplanmıştır ve 83 bireyden oluşturulmuştur (Vrablik ve ark., 2003). ABD'nde Pullinger ve ark.'larının yaptıkları bir çalışmada hasta kümesindeki bireylerin kan trigliserit seviyelerinin 150 mg/dl'nin üzerinde olması sağlanmıştır. Literatürde apolipoprotein genleri ile kan trigliserit seviyesi arasındaki

olası ilişkileri araştıran yaklaşık %30 oranında hasta-kontrol çalışmasının yanında çalışmaların yaklaşık %70'inde tek bir populasyon oluşturularak bireylerin genotipleri belirlendikten sonra genotiplerdeki trigliserit seviyeleri ortalamaları sayıtım yöntemleriyle karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmanın devam ettiği sırada Türkiye populasyonunda bu çalışmada da yer alan APOA5 geni -1131T>C polimorfizmi ve APOA5 S19W polimorfizmi Hodoğlugil ve ark. tarafından çalışılmıştır (Hodoğlugil ve ark., 2006). Ancak gerek Orta Karadeniz bölgesi populasyonunda olmak üzere ve gerek 3 adet APOA geni ve 2 adet APOC geninde olmak üzere kan trigliserit seviyesini etkileyebilecek toplam 5 polimorfizm aynı çalışma içerisinde ilk kez yer almaktadır.

Çalışmada Hardy-Weinberg dengesi -482C>T polimorfizmi kontrol kümesinin ve c.56C>G polimorfizmi hem hasta hem de kontrol kümesinin genotip dağılımlarında sağlanmış, diğer polimorfizmlerin genotip dağılımlarında sağlanmadığı gözlenmiştir. Bunun nedeni gerek hasta gerek kontrol kümelerinde bireylerin seçiminin sadece kan trigliserit seviyesi göz önüne alınarak yapılması olabilir.

Tablo 5 incelendiğinde hasta ve kontrol kümeleri arasında kan total kolesterol seviyesi bakımından sayıtımsal olarak anlamlı bir fark vardır (OO=9.026 %95GA 4.508-18.069  $p<0.001$ ). Hasta kümesi kan trigliserit seviyesi 200 mg/dl'nin üzerinde olan bireylerden oluşturulduğu göz önüne alınınca total kolesterol seviyesi yüksekliğinin kan trigliserit seviyesi yüksekliğine bizim çalışmamızı yaptığımız populasyonda eşlik ettiği söylenebilir. Choi ve ark. yaptıkları çalışmada oluşturdukları hasta kümesine kan trigliserit seviyesi 150 mg/dl'nin üzerinde olan bireyleri dahil etmişlerdir ve hasta (sayı=100) ile kontrol kümeleri (sayı=243) arasındaki total kolesterol seviyesi farkı sayıtımsal olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla 210 mg/dl, 196 mg/dl,  $p= 0.001$ ) (Choi ve ark., 2007). Matsunaga ve arkadaşlarının 119 normal trigliserit seviyesine sahip Japon birey (ortalama 82 mg/dl) ve 95 yüksek trigliseritli Japon (ortalama 343 mg/dl) populasyonu ile yaptıkları çalışmada hasta ve kontrol kümeleri arasındaki total kolesterol seviyesi farkının sayıtımsal olarak anlamlı düzeyde olduğu belirtilmiştir (srasıyla 219 mg/dl, 171 mg/dl,  $p<0.001$ ) (Matsunaga ve ar., 2007). Hindistanda Chhabra ve ark.'nın yaptıkları çalışmada hasta kümesi ile (sayı=34, ortalama trigliserit seviyesi 244 mg/dl) kontrol kümesi (sayı=105, ortalama trigliserit seviyesi 107 mg/dl) arasındaki total kolesterol seviyeleri arasında sayıtımsal olarak anlamlı fark

bulunmuştur (sırasıyla 120 mg/dl, 190 mg/dl,  $p=0.001$ ) (Chhabra ve ar., 2002). Tayvan'da Kao ve ark.'nın (2003) yaptıkları, 290 hipertrigliseridemik hasta (ortalama trigliserit seviyesi 660 mg/dl) ve 303 normolipidemik kontrol bireyinden (ortalama trigliserit seviyesi 94 mg/dl) katıldığı çalışmada hasta ve kontrol kümeleri arasında total kolesterol seviyesi bakımından anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla 253 mg/dl, 174 mg/dl,  $p<0.001$ ). Bizim çalışmamız ve diğer etnik popülasyonlarla yapılan çalışmalar birlikte göz önüne alındığında insanlarda kanda trigliserit seviyesinde artışla kolesterol seviyesindeki artışın birlikte seyrettiği söylenebilir.

Aynı tabloda (Tablo 5) HDLK ve LDLK seviyelerinin de bireyin hasta ve kontrol kümesine girmesinde etkili olduğu görülmektedir (sırasıyla,  $OO=3.509$  %95  $GA=1.801-6.840$   $p<0.001$ , ,  $OO=3.745$  %95  $GA=2.024-6.929$   $p<0.001$ ). Kao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HDLK seviyesinin kümeler arasında sayımsal olarak anlamlı derecede fark gösterdiği ancak LDLK seviyesinin anlamlı derecede fark göstermediği belirtilmiştir (sırasıyla  $p<0.00$ . ve  $p=0.219$ ) (Kao ve ark., 2003). Chhabra ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise hem HDLK hem de LDL kolesterol seviyeleri hasta ve kontrol kümelerinde anlamlı derece fark oluşturmamıştır ( $p>0.05$ ) (Chhabra ve ark., 2002). Aouziret ve ark.'nın yaptıkları çalışmada hasta ve kontrol kümelerinde HDLK ve LDL kolesterol seviyeleri farkı sayımsal olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Aouzirat ve ark., 2003). Matsunaga ve ark.'nın yaptıkları çalışmada HDLK seviyeleri iki küme arasında anlamlı olarak farklı seviyelerde bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Matsunaga ve ark., 2007). Choi ve ark.'nın yaptıkları çalışmada hasta ve kontrol kümelerinde HDLK seviyesi sayımsal olarak anlamlı derecede farklı bulunmuş, ancak LDLK seviyelerinde böyle bir fark bulunmamıştır (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p=0.079$ ) (Choi ve ark., 2007). Bu paragrafta belirtilen tüm çalışmalarda hasta ve kontrol kümeleri kan trigliserit seviyesi farkına göre oluşturulmuştur. Total kolesterolden farklı olarak hasta ve kontrol kümelerindeki HDLK ve LDLK seviyelerindeki farklar değişik etnik kökene sahip popülasyonlarda sayımsal olarak her zaman anlamlı görünmemektedir. Buraya kadar bakılan ve verilen sayıtım sonuçlarının genotiplere bakılmadan verildiği ve çalışmalara dahil edilen birey sayılarının oldukça farklı olduğu göz önüne alınırsa sonuçlardaki farkların çalışmaların materyal metot farklılıklarından kaynaklandığı düşünülebilir.

Aynı tabloda (Tablo 5) VKI'ninde bireyin hasta veya kontrol kümesine girmesini sayımsal olarak anlamlı seviyede etkilediği görülmektedir ( $OO=3.745$  %95  $GA=2.024-6.929$   $p=0.018$ ). Choi ve ark. yaptıkları çalışmada hasta ve kontrol kümelerinde VKI ortalama

değerleri bakımından sayımsal olarak anlamlı derecede farklı bulmuşlardır (sırasıyla 25.4 kg/m<sup>2</sup> 22.9 25.4 kg/m<sup>2</sup>,  $p<0.001$ ). Aouizerat ve ark. yaptıkları çalışmada hasta ve kontrol kümelerinde VKI değerlerinin anlamlı derecede farklı olduklarını bildirmişlerdir (sırasıyla 27 kg/m<sup>2</sup> ve 24 kg/m<sup>2</sup>,  $p<0.05$ ) (Aouizerat ve ark., 2003). Kao ve ark.'nın yaptığı çalışmada hipertrigliseridemili hasta kümesi ile normolipidemik kontrol kümesi arasında VKI değerleri bakımından yine anlamlı bir fark olduğu belirtilmiştir (sırasıyla 26.1 kg/m<sup>2</sup> ve 23.2 kg/m<sup>2</sup>,  $p<0.001$ ) (Kao ve ark., 2003). Farklı etnik popülasyonlarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların benzer nitelikte olması bireylerde VKI yükseliğinin kan trigliserit değerinin yükselmesini desteklediği yönünde fikir oluşturmaktadır.

Tablo 6'da hasta ve kontrol kümelerindeki HDLK seviyesi ortalamasının farkları görülmektedir. Bir önceki tabloda (Tablo 5) lojistik regresyon çözümlemesi sonuçlarına göre bireyin hasta ve kontrol kümesine dahil olması üzerinde HDLK seviyesi anlamlı derece etkili olarak hesaplanmıştı. Burada ise Ki-kare testi ile hasta ve kontrol kümeleri arasındaki HDLK seviyesi farkın tek başına da anlamlı derecede farklı olduğu görünmektedir. Burada Ki-kare testi ile bu farkın teyit edilmesinin nedeni diğer kan yağı tiplerine göre HDLK seviyesinin insanlarda yüksek olmasının istenmesidir. Tablo 6'daki sonuçlara göre hasta ve kontrol kümelerinde HDLK seviyesi anlamlı derecede farklıdır ve hasta kümesinde anlamlı derecede düşük, kontrol kümesinde ise anlamlı derecede yüksektir (OO=1.753 %95GA1.066-2.882  $p<0.001$ ). Türklerde HDLK seviyesi genellikle düşük seyretmektedir (Mahley ve ark., 1995; Mahley ve ark., 2000). Kan trigliserit seviyesi ile HDLK seviyesi arasında ise ters bir ilişki vardır (Assman ve ark., 1992; Burchfiel ve ark., 1993). Bu iki nedenle bu çalışmada hasta ve kontrol kümeleri arasındaki HDLK seviyesi farkının sayımsal olarak anlamlı olması çalışmanın sağlamlasının da doğru yöndeki bir göstergesi olarak değerlendirilmelidir.

Tablo 7'de APOA5 ve APOC3 genlerinde bu çalışmada etkileri araştırılan polimorfizmlerde polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireyler arasındaki VKI değerlerinin karşılaştırılması bulunmaktadır. Bu karşılaştırma hasta ve kontrol kümeleri birleştirilerek yapılmıştır. Sayıtım sonuçlarına göre çalışılan hiçbir polimorfizmde hasta ve kontrol kümeleri birleştirildiğinde VKI bakımından polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireyler arasında sayımsal olarak anlamlı derecede bir fark yoktur ( $p>0.05$ ).

Tablo 8'de ise yine hasta ve kontrol kümeleri birleştirilerek elde edilen, polimorfik alel taşıyıcılarında TK, HDLK ve LDLK seviyeleri farkları yer almaktadır. APOA5 geni -

1131T>C polimorfizminde polimorfik alel taşıyıcılarındaki kan total kolesterol seviyesi homozigot normal bireylere göre sayımsal olarak anlamlı derece yüksektir (OO=1.675 %95GA=1.003-2.796  $p=0.048$ ). Literatürde APOA5 ve APOC3 genlerindeki polimorfizmlerin kan yağlarına olası etkileri üzerine yapılan çalışmalarda iki ana yöntem kullanılmıştır. Birincisi hasta ve kontrol kümeleri oluşturulmadan genotipler belirlenmiş ve bu genotiplerdeki kan yağları seviyelerinin ortalama farkının sayımsal olarak anlamlı olup olmadığı incelenmiştir, Tablo 8'de bu tip bir sayımsal çözümlemenin sonuçları verilmektedir. İkincisi ise bu çalışmada da izlenen yöntem olan hasta ve kontrol kümeleri arasında kan yağları seviyeleri bakımından sayımsal olarak anlamlı fark olup olmadığının araştırıldığı yöntemdir. Moreno ve ark.'nın yaptıkları çalışmada APOA5 geni -1131TC polimorfizminde polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot polimorfik bireyler arasında kan total kolesterol seviyesi bakımından anlamlı derecede fark bulunmamıştır (Moreno ve ark., 2006) ( $p=0.15$ ). Yine Martinelli ve ark.'nın yaptıkları çalışmada APOA5 geni -1131C alel taşıyıcıları ile polimorfik alel taşımayanlar arasında kan total kolesterol seviyesi bakımından sayımsal olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Martinelli ve ark., 2006  $p=0.451$ ). HDL ve polimorfizm arasındaki ilişki trigliserit ve total kolesterol gibi kan yağlarının ana bileşenleri olan lipidlere göre farklı etnik populasyonlarda daha fazla değişken sonuçlar göstermektedir. Kolesterol gıda ile alınmakla birlikte vücut içinde de farklı organlar tarafından sentezlenebilmektedir. Kan dolaşımında bulunan lipoproteinlerin bileşiminde trigliserit en yüksek miktarda bulunan bileşendir. En yüksek trigliserit içeriği şilomikronlarda %80-95 oranında, en yüksek miktarda kolesterol içeriği ise %51-58 oranında LDL'lerde bulunmaktadır (Tablo 1). HDL'lerdeki kolesterol içeriği %18-25'dir. Farklı etnik populasyonlardaki polimorfizm ile kan kolesterol seviyesinin farklı derecelerde ilişkili bulunması kolesterolün trigliseride göre lipoproteinlerdeki oranının daha düşük olması nedeniyle açıklanabilir. Hodoğlugil ve ark. oluşturdukları bir Türk populasyonunda yaptıkları çalışmada APOA5 geni c.56C>G ve -1131T>C polimorfizmleri ile total kolesterol, HDL ve LDL arasında anlamlı bir ilişki bulmamıştır (Hodoğlugil ve ark., 2005).

APOC3 geninde ise -482C>T polimorfizmi ile *SstI* polimorfizmi polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireyler arasındaki kan total kolesterol seviyeleri farkı sayımsal olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur (sırasıyla OO=1.984 %95 GA=1.237-3.182  $p=0.0004$ , OO=2.169 %95GA=1.340-3.513  $p=0.002$ ). Chhabra ve ark.'nın yaptıkları çalışmada *SstI* polimorfizmi ile kan total kolesterol seviyeleri arasındaki ilişki sayımsal

olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0.572$ ) (Chhabra ve ark., 2002). Corella ve ark.'nın Akdenizli İspanyol bireylerden oluşan popülasyonla yaptıkları çalışmada SstI polimorfizminde polimorfik alel taşıyıcıları ile normal homozigot bireyler arasında kan total kolesterol seviyeleri bakımından anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Corella ve ark. 2002). Bizim çalışmamızda APOC3 genindeki her iki polimorfizm ile kan kolesterol seviyesi arasındaki anlamlı ilişki bölgemizdeki popülasyonun diğer çalışmalardakinden farklı olması ile yorumlanabilir. Daha ayrıntılı sebep sonuç ilişkisi ve lipid metabolizmasına ilişkin ayrıntılar çalışmanın da birincil amacı olan kan trigliserit seviyesi ile APOA5 ve APOC3 genlerindeki polimorfizmlerin olası ilişkilerinin incelendiği bölümde tartışılacaktır.

Tablo 9'da tek değişkenli olarak VKI indeksi ile yüksek trigliserit seviyesi arasındaki olası ilişki araştırılmıştır ve hasta ve kontrol kümeleri arasındaki VKI farkı sayımsal olarak anlamlı bulunmuştur ( $OR=4.483$  %95GA=2.675-7.515  $p<0.001$ ). VKI değeri  $25 \text{ kg/m}^2$ 'nin üzerinde olduğunda kişi fazla kilolu olarak değerlendirilmektedir. Choi ve ark.'nın yaptıkları çalışmada da hasta ve kontrol kümeleri arasındaki VKI farkının sayımsal olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir ( $p=0.001$ ) (Choi ve ark. 2007). Aouizerat ve ark.'nın yaptıkları çalışmada da hasta ve kontrol kümeleri arasındaki VKI ortalaması farkı sayımsal olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Aouizerat ve ark., 2003). Bizim çalışmamızla birlikte hasta ve kontrol kümeleri oluşturularak yapılan diğer çalışmalarda hasta ve kontrol kümelerinde VKI ortalamalarının anlamlı derecede farklı olması beklenebilen bir sonuç olarak değerlendirilmelidir. Çünkü oluşturulan hasta kümesinde trigliserit seviyesi  $200 \text{ mg/dl}$ 'nin üzerindedir.

Onuncudan ondokuzuncuya kadar olan tablolar, çalışmanın birincil amacını oluşturan, çalışılan popülasyonda APOA5 ve APOC3 genleri polimorfizmleri ile hipertrigliseridemi arasındaki olası ilişki yada ilişkileri karşılaştıran sonuçları içeren tablolardan oluşmaktadır.

Bizim çalışmamızla birlikte birçok çalışmada APOA5 genindeki -1131T>C polimorfizmi yüksek kan trigliserit seviyesi ile bağımsız olarak ilişkili bulunmuştur. Hodoğlugil ve ark.'nın çalıştıkları Türkiye popülasyonunda da -1131T>C polimorfizmi ile yüksek kan trigliserit seviyesi ilişkili bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Ancak apolipoprotein gen ailesinin 11q23 bölgesinde APOAA1/C3/A4/A5 gen ailesi olarak oldukça sıkışık bir diziliştedir ve bu nedenle yüksek



trigliserit seviyesinin ilişkili bulunan polimorfizmlerden değil de, gerçekte başka alelik varyasyonlar tarafından oluşturulabileceği göz ardı edilmemelidir.

Tablo 12 ve 13’de verildiği üzere bu çalışmada APOC3 geni -482C>T polimorfizminde ise hem genotipler arasında hemde polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireyler arasında trigliserit seviyesi bakımından sayımsal olarak anlamlı derecede fark olduğu görülmüştür (Tablo 12’de genotipler arası  $p=0.003$ , Tablo 13’de polimorfik alel taşıyıcıları ile homozigot normal bireyler arası  $p=0.001$   $OR=2.190$   $95\%CI=1.385-3.463$ ). -482C>T polimorfizmi APOAC3 geninin promotörü içindeki insüline duyarlı dizi içinde (Insulin Responsive Element, IRE) yer alır. Polimorfik alel insüline yanıt vermez ve insüline yanıt veren normal alele göre APOC3 geni ifadesini %40 ila %50 arasında artırır (Li ve ark., 1995). Bu nedenle polimorfizmde görülen kan trigliserit seviyesi artışından kanda yüksek miktarda bulunan APOC3 seviyesi sorumlu tutulabilir.

Tablo 14 ve 15’de hasta ve kontrol kümelerindeki APOC3 *SstI* polimorfizmine ait genotip sayıları ve sayıtım sonuçları verilmektedir. *SstI* polimorfizminde hem genotipler hemde polimorfik alel taşıyıcıları hasta ve kontrol kümeleri arasında sayımsal olarak anlamlı derecede farklı sıklıktadır (sırasıyla  $p=0.006$ ,  $p=0.005$   $OR=2.015$   $95\%CI=1.256-3.232$ ). Japonyada, İskoçyada, Tayvanda, Arabistanda, Çinde ve Avusturalyada yapılan çalışmalarda APOAC3 *SstI* polimorfizmi ile kan trigliserit seviyesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Bai ve ark., 1994; Rees ve ark., 1985; Price ve ark., 1986; Wu ve ark., 2000; Johansen ve ark., 2009; Buzzza ve ark., 2001). Farklı populasyonlarda yapılan bir çok çalışmada ise APOC3 geni *SstI* polimorfizmi ile kan trigliserit seviyesi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. (Dammerman ve ark., 1993; Hoffer ve ark., 1998; Zeng ve ark., 1994; Seung ve ark., 1997; Tas ve ark., 1989). Apoprotein C3, bulunduğu apolipoprotein molekülü üzerinde güçlü bir eksi yük oluşturmaktadır. Bu sayede hücre yüzeylerine nonspesifik bağlanması önlenmiş olur ve sadece hedef yüzeyler olan lipoprotein lipaz ve spesifik hücre yüzey almaçlarına bağlanır. APOC3 yemek sonrası trigliseritlerin uzaklaştırılmasını düzenler ve VLDL’lerin karaciğere girişini önler. APOC3 transgenik sıçanlarda yapılan bir çalışmada trigliseritten zengin partiküllerin uzaklaştırılmasında azalma olduğu gözlenmiştir (Aalto ve ark., 1992).

Pennacchio ve arkadaşları 2003 yılında sıçan ve insanlarda karşılaştırmalı genom tarama çalışması ile APOA5 geninin varlığını açığa çıkarmışlardır (Pennacchio ve ark., 2003).

Arkasından hemen tek nükleotit pomiorfizmi çalışmalarına başlamış ve -1131T>C polimorfizmini yayınlamışlardır. Pennacchio ve arkadaşları APOA5 transgenik sıçanlarda kan trigliserit seviyesinde %66 azalma, APOA5 knock-out sıçanlarda ise kan trigliserit seviyesinde 4 kat artış gözlemişlerdir. -1131T>C polimorfizmindeki polimorfik alel sıklığı populasyonlar arasında oldukça değişkendir. Asyalılarda %27-37 arasında, İspanyol kökenlilerde %13-16 arasında, Afrika kökenli Amerikalılarda ve Avrupalılarda %6-9 arasında ve Hodoğlugil ve ark.'larının çalıştığı tesadüfi örneklemeden oluşan Türk populasyonunda %12.8 olarak bildirilmiştir (Aouizerat ve ark., 2003; Austin ve ark., 2004; Baum ve ark., 2003; Lai ve ark., 2003; Nabika ve ark., 2002; Pennacchio ve ark., 2002; Talmud ve ark., 2002; Hodoğlugil ve ark., 2005). Bu çalışmalar genel bilgiler kısmında verilmiştir. Bu çalışmadaki Orta Karadeniz populasyonunda ise %22.8'dir. -1131T>C polimorfizmi birçok çalışmada kan trigliserit seviyesi ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada APOA5 -1131T>C polimorfizminde C alel taşıyıcılarının homozigot normal bireylere göre sayımsal olarak anlamlı derecede yüksek trigliserit seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir (OO=2.191 %95GA=1.313-3.656  $p=0.004$ ). -1131T>C polimorfizmi genin promotor bölgesinde bulunduğu için APOA5 geninin ifade edilmesini etkiliyor olabilir. APOA5 geni apoproteini hidrofobik yüzeylere zayıf ilgi gösterir (Weinberg ve ark., 2003). VLDL'ler vücutta karaciğerde sentezlenir Bu nedenle karaciğerde trigliseritten zengin partikül oluşum oranını düşürerek VLDL sentezini azaltıyor olabilir. Yapılan bir çalışmada sıçanlarda hepatik APOA5'in adenovirüs aracılı olarak aşırı ifade edilmesi sonucunda doza da bağlı olarak, VLDL miktarında azalma olmadan VLDL trigliserit sentezi ve dolayısıyla VLDL trigliserit içeriği oranında azalma gözlenmiştir (Schaap ve ark., 2004). Buradan tahminle APOA5'in karaciğerde VLDL sentezi sırasında VLDL'nin lipidasyonunu etkilediği tahmin edilebilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hipertrigliseridemi koroner arter hastalık (KAH) için bağımsız bir etkidir. Kanda trigliserit miktarındaki her bir 88.5 mg/dl'lik artış HDLK ve diğer etkenlerde eklenerek yapılan hesaplamada KAH riskini erkeklerde %14, kadınlarda ise %37 oranında arttırmaktadır (Austin ve ark., 1998).

Sanayileşmiş ülkelerde ve gelişmekte olan ülkelerde ölüm nedenlerinin başında koroner arter hastalık gelmektedir. Koroner arter hastalığının (ateroskleroz) en sık sorumlu tutulduğu etken yüksek kolesterol seviyesidir.

2001 yılında APOA5 geninin keşfedilmesi ile birlikte apoprotein A5 ve kan trigliserit seviyesi üzerine artan bir ilgi vardır. Genetik polimorfizmler ile kan trigliserit seviyesi arasındaki ilişkinin araştırılmasına ek olarak bu polimorfizmler ile ateroskleroz arasındaki ilişkilerde sık sık araştırılmıştır.

Bu çalışmanın ana amacı olan Orta Karadeniz Bölgesi populasyonunda APOA5 ve APOC3 genlerindeki toplam 5 polimorfizm ile kan trigliserit seviyesi arasındaki ilişkinin araştırılmasında APOA5 geninde -1131T>C ve APOC3 geninde -482C>T ile *SstI* polimorfizmleri yüksek kan trigliserit seviyesi ile ilişkili bulunmuştur. Bu ilişki dünya populasyonlarının birçoğunda da tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikincil amacı olan, ilişkili bulunan polimorfizmlerin rutin testlere dönüştürülmesi, bu genlerde yapılan diğer polimorfizm çalışmaları ile birlikte değerlendirildiğinde olası görünmektedir. Çocukluk çağından itibaren bir yada birden fazla polimorfizm taşıyan bireylerde kan trigliserit seviyesinin yüksek seyretmesi, bu yükseklik fark edilene kadar ateroskleroz başlangıcının temellerini oluşturuyor olabilir. Bireyler hissedilir rahatsızlıkları oluşmadan hastaneye başvurmadıkları için kan biyokimyasal ölçümleri yapılmamakta ve polimorfik olan bireylerdeki trigliserit yüksekliği fark edilmemektedir.

Bu çalışmada incelenen toplam beş adet polimorfizmin daha geniş populasyonlarda çalışılması yararlı olabilir. Yüksek trigliserit seviyesi nedeniyle ateroskleroza olan yatkınlık bireyde tarama testleri ile erken dönemde farkedilip uygun diyet önerilirse, ileride oluşacak

olan ateroskleroz geciktirilebilir yada önlenir. Bu şekildeki bir koruyucu tedavi anlayışı günümüzde ön plana çıkan koruyucu hekimlik anlayışına uygundur.

## 7. KAYNAKLAR

Aalto-Setälä K, Fisher EA, Chen X, Chajek-Shaul T, Hayek T, Zechner R, Walsh A, Ramakrishnan R, Ginsberg HN, Breslow JL. (1992). Mechanism of hypertriglyceridemia in human apolipoprotein (apo) CIII transgenic mice: diminished very low density lipoprotein fractional catabolic rate associated with increased apoCIII and reduced apoE on the particles. *Journal of Clinical Investigation*. **90**, 1889–1900.

Aalto-Setälä K., Weinstock PH., Bisgaier CL., Wu L., Smith JD., Breslow JL. (1996). Further characterization of the metabolic properties of triglyceride- rich lipoproteins from human and mouse apoC-III transgenic mice. *Journal of Lipid Research*. **37**, 1802–1811.

Adiels M., Olofsson SO., Taskinen MR., and Borén, J. (2008). Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **28**, 1225–1236.

Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F, ve ark. (1996). Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation* **93**, 1647.  
Andrews HE., Bruckdorfer KR., Dunn RC., ve ark. (1987). Low-density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Nature*, **327**, 237.

Aouizerat BE., Kulkarni M., Heilbron D., Drown D., Raskin S., Pullinger CR., Malloy MJ., Kane JP. (2003). Genetic analysis of a polymorphism in the human apolipoprotein AV gene: effect on plasma lipids. *Journal of Lipid Research*. **44**, 1167-1173.

Assmann G., Schulte H. (1992). Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). Prospective Cardiovascular Münster study. *American Journal of Cardiology*. **70(7)**, 733-737.

Assmann G., Schulte H., Eckardstein AV. (1996). Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein (a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *The American Journal of Cardiology*. **77(14)**, 1179-1184.

Athyros VG., Giouleme OI., Nikolaidis NL. et al. (2002). Long-term follow-up of patients with acute hypertriglyceridemia-induced pancreatitis. *Journal of Clinical Gastroenterology*, **34**, 472-5.

Atzmon G., Gabriely I., Greiner W., Davidson D., Schechter C., Nir Barzilai N. (2002). Plasma HDL Levels Highly Correlate With Cognitive Function in Exceptional Longevity. *Journal of Gerontology*, **57**, 712-715.

Atzmon G., Rincon M., Schechter C. B., Shuldiner A. R., Richard B. Lipton., Bergman A., Barzilai N., (2006). Lipoprotein Genotype and Conserved Pathway for Exceptional Longevity in Humans. *PLOS Biology*, **4(4)**, 0562-0569.

- Aulchenko YS, Ve ark. (2009). Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nature Genetics*. **41(1)**, 47-55.
- Austin MA., Hokanson JE., Edwards KL. (1998). Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *American Journal of Cardiology*. **81**, 7B-12B.
- Austin MA., Talmud PJ., Farin FM., Nickerson DA., Edwards KL., Leonette D., McNeelyf MJ., Viernesc HM., Humphries SE., Fujimoto WY. (2004). Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1688(1)**, 1-9.
- Bai H., Saku K., Liu R., Imamura M., Arakawa K. (1994). Association between coronary heart disease and the apolipoprotein A-I/C-III/A-IV complex in a Japanese population. *Human Genetics*. **95(1)**, 102-104.
- Baroukh N., Bauge E., Akiyama J., Chang J., Afzal V., Fruchart JC., Rubin EM., Fruchart-Najib J., Pennacchio LA. (2004). Analysis of Apolipoprotein A5, C3, and Plasma Triglyceride Concentrations in Genetically Engineered Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. **24**, 1297.
- Barter PJ., Rye KA. (2006). Cardioprotective properties of fibrates: which fibrate, which patients, what mechanism? *Circulation*, **113**, 1553-5.
- Barzilai N., Atzmon G., Derby C. A., Bauman J. M., Lipton R. B., (2006). A genotype of exceptional longevity is associated with preservation of cognitive function. *Neurology*, **67**, 2170-2175.
- Baum L., Tomlinson B., Thomas GN. (2003). APOA5-1131T>C polymorphism is associated with triglyceride levels in Chinese men. *Clinical Genetics*. **63(5)**, 377 – 379.
- Benlian P., de Gennes J-L., Foubert L., et al. (1996). Premature atherosclerosis in patients with familial chylomicronemia caused by mutations in the lipoprotein lipase gene. *New England Journal of Medicine*, **335**, 848-54.
- Benoit P., Emmanuel. F, Caillaud JM., ve ark. (1999). Somatic gene transfer of human Apo A-1 inhibits atherosclerosis progression in mouse models. *Circulation*, **99**, 105.
- Bia N., Yanb S-K., Lia G-P., Yinc Z-N., Chena B-S. (2004). A single nucleotide polymorphism -1131T > C in the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased risk of coronary artery disease and alters triglyceride metabolism in Chinese. *Molecular Genetics and Metabolism*. **83(3)**, 280-286.
- Blanchette-Mackie EJ., Masuno H., Dwyer NK., Olivecrona T., Scow R.O. (1989). Lipoprotein lipase in myocytes and capillary endothelium of heart: immunocytochemical study. *American Journal of Physiology*, **256**, E818–E828.
- Brown MS., Goldstein JL. (1986). A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232-34.

- Bukberg PR., Le N-A., Ginsberg HN., Gibson JC., Rubinstein A., Brown WV. (1985) Evidence for non-equilibrating pools of apolipoprotein C-III in plasma lipoproteins. *Journal of Lipid Research*. **26**, 1047–1057.
- Burchfiel CM., Laws A., Benfante R., Goldberg RJ., Hwang LJ., Chiu D., Rodriguez BL., Curb JD., Sharp DS. (1993). Combined Effects of HDL Cholesterol, Triglyceride, and Total Cholesterol Concentrations on 18-Year Risk of Atherosclerotic Disease. *Circulation*. **92**, 1430-1436.
- Buzza M., Fripp Y., Mitchell RJ. (2001). Apolipoprotein AI and CIII gene polymorphisms and their association with lipid levels in Italian, Greek and Anglo-Irish populations of Australia. **28(5)**, 481-490.
- Carlson LA. (2004). Niaspan, the prolonged release preparation of nicotinic acid (niacin), the broad-spectrum lipid drug. *International Journal of Clinical Practice* **58**, 706-13.
- Carlson LA. (2005) Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *Journal of Internal Medicine* **258**, 94-114.
- Cartwright IJ., Higgins, JA (2001). Direct evidence for a two-step assembly of apoB48-containing lipoproteins in the lumen of the smooth endoplasmic reticulum of rabbit enterocytes. *Journal of Bioogical Chemistry* **276** 48048–48057.
- Chandak GR., Ward KJ., Yajnik CS., Pandit AN., Bavdekar A., Joglekar CV., Fall CHD., Mohankrishna P., Wilkin TV., Metcalf BS., Weedon MN., Frayling TM., Hattersley AT. (2006). Triglyceride associated polymorphisms of the APOA5 gene have very different allele frequencies in Pune, India compared to Europeans. *BMC Medical Genetics*. **7**, 76.
- Chen LY., Mehta P., Mehta JL. (1996). Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets. relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function. *Circulation*, **93**, 1740.
- Chhabra S., Narang R., Krishnan LR., Vasisht S., Agarwa DP., Srivastava LM., Manchanda SC., Das N. (2002). Apolipoprotein C3 SstI polymorphism and triglyceride levels in Asian Indians. *BMC Genetics*. **3(9)**.
- Chien K-L., Fangb W-H., Wenb H-C., Linb H-P., Linb Y-L., Linb S-W., Wuc J-H., Kao J-T. (2007). APOA1/C3/A5 haplotype and risk of hypertriglyceridemia in Taiwanese. *Clinica Chimica Acta*. **390(1-2)**, 56-62.
- Chiena K-L., Chenb M-F, Hsub H-C., Sub T-C., Changc W-T., Leeb C-M., Leeb Y-T. (2007). Genetic association study of APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and haplotypes on triglyceride and HDL cholesterol in a community-based population. *Clinica Chimica Acta*. **388(1-2)**, 78-83.
- Chin JH., Azhar S., Hoffman BB. (1992). Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *Journal of Clinical Investigation* **89**, 10.

Choi JR., Nam CM., Kang DR., Eom SM., Lee HJ., Park CM., Im JW., Jang Y., (2007). DNA Polymorphisms and Haplotypes of Apolipoprotein A5's Attribution to the Plasma Triglyceride Levels in Koreans. *Yonsei Medical Journal*. **48(4)**, 609-618.

Clark JM. (2006). The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *Journal of Clinical Gastroenterology*, **40**, 5-10.

Clavey V., Lestavel-Delattre S., Copin C., Bard JM., Fruchart JC. (1995). Modulation of lipoprotein B binding to the LDL receptor by exogenous lipids and apolipoproteins CI, CII, CIII and E. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. **15**, 963-971.

Corella D., Guilléna M., Sáiza C., Portolésa O., Sabatera A., Folcha J., Ordovasa JM. (2002). Associations of LPL and APOC3 gene polymorphisms on plasma lipids in a Mediterranean population: interaction with tobacco smoking and the APOE locus. *Journal of Lipid Research*. **43**, 416-427.

Criqui MH., Heiss G., Cohn R., et al. (1993). Plasma triglyceride level and mortality from coronary heart disease. *New England Journal of Medicine*, **328**, 1220-5.

Dallongeville J., Cottel D., Montaye M., Codron V., Amouyel P., Helbecque N. (2006). Impact of APOA5/A4/C3 genetic polymorphisms on lipid variables and cardiovascular disease risk in French men. *International Journal of Cardiology*. **106(2)**, 152-156.

Dammerman M., Sandkuijl LA., Halaas JL., Chung W., Breslow JL. (1993). An apolipoprotein CIII haplotype protective against hypertriglyceridemia is specified by promoter and 3' untranslated region polymorphisms. *PNAS*. **90**, 4562-4566.

DeJager S., Bruckert E., Chapman, MJ. (1993). Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominate in combined hyperlipidemia. *Journal of Lipid Research*, **34**, 295.

Delgado-Lista J., Perez-Jimenez F., Ruano J., Perez-Martinez P., Fuentes F., Criado-Garcia J., Parnell LD., Garcia-Rios A., Ordovas JM., Lopez-Miranda J. (2009). Effects Of Variations In The ApoA1/C3/A4/A5 Gene Cluster On Different Parameters Of Postprandial Lipid Metabolism In Healthy Young Men. *Journal of Lipid Research*.

Dimmeler S, Haendeler J, Galle J, et al. (1997). Oxidized low-density lipoprotein induces apoptosis of human endothelial cells by activation of CPP32-like proteases. A mechanistic clue to the "response to injury" hypothesis. *Circulation* **95**, 1760.

Duverger N., Kruth H., Emmanuel F., et al. (1996). Inhibition of atherosclerosis development in cholesterol-fed human apolipoprotein A-I-transgenic rabbits. *Circulation* **94**, 713.

Ebara T., Ramakrishnan R., Steiner G., Shachter NS. (1997). Chylomicronemia due to apolipoprotein CIII overexpression in apolipoprotein E-null mice: apolipoprotein CIII-induced hypertriglyceridemia is not mediated by effects on apolipoprotein E. *Journal of Clinical Investigation*. **99**, 2672-2681.



- Evans D., Buchwald A., Beil FU. (2003). The single nucleotide polymorphism -1131T>C in the apolipoprotein A5 (APOA5) gene is associated with elevated triglycerides in patients with hyperlipidemia. *Journal of Molecular Medicine*. **81(10)**, 645-654.
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (2001). Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III. *JAMA* **285**, 2486-97.
- Farrell GC., Larter CZ. (2006). Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology*, **43**, 99-112.
- Febbraio M., Podrez EA., Smith JD., et al. (2000). Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *Journal of Clinical Investigation* **105**, 1049.
- Fisher EA., Ginsberg, HN. (2002). Complexity in the secretory pathway: the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Journal of Biological Chemistry* (**277**) 17377–17380.
- Forester JS. (2001). Triglycerides: risk factor or fellow traveler? *Current Opinion in Cardiology*. **16**, 261-264.
- Fredrickson D. S., Lees R.S. (1965). A System for Phenotyping Hyperlipoproteinemia. *Circulation*. **31**, 321-327.
- Frick MH., Elo O., Haapa K., et al. (1987). Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *New England Journal of Medicine*, **317**, 1237-45.
- Gami AS., Montori VM., Erwin PJ., et al. (2003). Evidence in Diabetes Enquiry System (EVIDENS) Research Group. Systematic review of lipid lowering for primary prevention of coronary heart disease in diabetes. *British Medical Journal*, **326**, 528-9.
- Garber AM., Avins AL. (1994). Triglyceride concentration and coronary heart disease. Not yet proved of value as a screening test. *British Medical Journal*. **309**, 2.
- Genest JJ., Martin-Munley SS., McNamara JR., et al. (1992). Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* **85**, 2025.
- Gerhard GT., Ahmann A., Meeuws K., et al. (2004). Effects of a low-fat diet compared with those of a high-monounsaturated fat diet on body weight, plasma lipids and lipoproteins, and glycemic control in type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, **80**, 668-73.
- Gianturco SH., Bradley WA. (1990). A cellular basis for the potential atherogenicity of triglyceride-rich lipoproteins. In: Pathobiology of the Human Atherosclerotic Plaque, Slagov, S, Newman, WP III, Schaffer, SA (Eds), *Springer-Verlag*.

Grundy SM., Becker D., Clark LT., Cooper RS., Denke MA., Howard J., Hunninghake DB., Illingworth DR., Luepker RV., McBride P., McKenney JM., Pharm D., Richard C. P., Stone NJ., Horn LV. (2002) Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *National Institutes of Health National Heart, Lung, and blood Institute*.

Gusarova V., Brodsky JL., Fisher EA. (2003). Apolipoprotein B100 exit from the endoplasmic reticulum (ER) is COPII-dependent, and its lipidation to very low density lipoprotein occurs post-ER. *Journal of Biological Chemical* **278**, 48051–48058.

Hallmana DM., Srinivasanb SR., Chenb W., Boerwinklea E., Berensonb GS. (2006). Longitudinal analysis of haplotypes and polymorphisms of the APOA5 and APOC3 genes associated with variation in serum triglyceride levels: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism*. **55(12)**, 1574-1581.

Hamilton MT., Hamilton DG., Zderic TW. (2007). Role of low energy expenditure and sitting in obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes*, **56**, 2655–2667.

Hassall DG., Owens JS., Bruckdorfer KR. (1983). The aggregation of isolated human platelets in presence of lipoproteins and prostacyclin. *Biochemical Journal*, **216**, 43.

Havel RJ., Fielding CJ., Olivecrona T., Shore VG., Fielding PE. (1973). Egelrud T. Cofactor activity of protein components of human very low density lipoproteins in the hydrolysis of triglycerides by lipoprotein lipase from different sources. *Biochemistry*. **12**, 1828–1833.

Hegele RA (2001). Monogenic dyslipidemias: window on determinants of plasma lipoprotein metabolism. *American Journal of Human Genetics* **69**, 1161-77.

Hennemana P., Schaapb FG., Havekesc LM., Rensenc PCN., Frantsa RR., Tolf Aria van, Hattorig H., Smeltc AHM.,Dijka KV van., (2006). Plasma apoAV levels are markedly elevated in severe hypertriglyceridemia and positively correlated with the APOA5 S19W polymorphism. *Atherosclerosis*. **193(1)**, 129-134.

Hiltunen TP., Luoma JS., Nikkari T., ve ark. (1998). Expression of LDL receptor, VLDL receptor, LDL receptor-related protein, and scavenger receptor in rabbit atherosclerotic lesions. Marked induction of scavenger receptor and VLDL receptor expression during lesion development. *Circulation*, **97**, 1079.

Hockey KJ., Anderson RA., Cook VR., Hantgan RR., Weinberg RB. (2001). Effect of the apolipoprotein A-IV Q360H polymorphism on postprandial plasma triglyceride clearance. *Journal of Lipid Research*. **42**, 211-217.

Hodis HN., Mack WJ., Krauss RM., et al. (1999). Pathophysiology of triglyceride-rich lipoproteins in atherothrombosis: clinical aspects. *Clinical Cardiology*. **22(II)**, 15-20.

- Hodoğlugil U., Tanyolaç S., Williamson DW., Huang Y., Mahley RW. (2006). Apolipoprotein A-V: a potential modulator of plasma triglyceride levels in Turks. *Journal of Lipid Research*. **47**, 144-153.
- Hoffer MJV., Sijbrands EJGM., Man FHF., Havekes LM., Smelt AHM., Frants RR. (1998). Increased risk for endogenous hypertriglyceridaemia is associated with an apolipoprotein C3 haplotype specified by the SstI polymorphism. *European Journal of Clinical Investigation*. **28(10)**, 807-812.
- Hokanson JE., Austin MA. (1996). Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *Journal of Cardiovascular Risk*, **3(2)**, 213-9.
- Hooper L., Thompson RL., Harrison RA., et al. (2006). Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *British Medical Journal*, **332**, 752-60.
- Hsu L., Ko Y., Chang C., Hu C., Wu S., Teng M., Wang C., Ho W., Ko Y., Hsu T. (2006). Genetic variations of apolipoprotein A5 gene is associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan. *Atherosclerosis*, **185 (1)**, 143-149.
- Hsua L-A., Ko Y-L., Changa C-J, Hua C-F, Wua S., Tenga M-S., Wanga C-L., Hoa W-J., Koa Y-S., Hsua T-S., Leea Y-S. (2005). Genetic variations of apolipoprotein A5 gene is associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan. *Atherosclerosis*. **185(1)**, 143-149.
- Hubacek JA., Ková J., Kodová Z., Pit'ha J., Lánská V., Polednea R., (2004). Genetic analysis of APOAV polymorphisms (T-1131/C, Ser19/Trp and Val153/Met): no effect on plasma remnant particles concentrations. *Clinica Chimica Acta*. **348(1-2)**, 171-175.
- Hubacek JA., Lanska V., Skodova Z., Adamkova V., Poledne R. (2008). Sex-specific interaction between APOE and APOA5 variants and determination of plasma lipid levels. *European Journal of Human Genetics*. **16**, 135-138.
- Hubacek JA., Škodová Z., Adámková V., Lánská V., Poledne R. (2003). The influence of APOAV polymorphisms (T-1131>C and S19>W) on plasma triglyceride levels and risk of myocardial infarction. *Clinical Genetics*. **65(2)**, 126 – 130.
- Hubacek JA., Skodova Z., Adamkova V., Lanska V., Poledne R. (2004). The influence of APOAV polymorphisms (T-1131>C and S19>W) on plasma triglyceride levels and risk of myocardial infarction. *Clinical Genetics*, **65**, 126–130.
- Ito Y., Azrolan N., O'Connell A., Walsh A., Breslow JL. (1990). Hypertriglyceridemia as a result of human apo CIII gene expression in transgenic mice. *Science*. **249**, 790 –793.
- Jensen DR. Ve ark. (1997). Prevention of dietinduced obesity in transgenic mice overexpressing skeletal muscle lipoprotein lipase. *American Journal of Physiology*, **273**, R683–R689.

- Johansen K., Dunn B., Tan JCY., Kwaasi AAA., Skotnicki A., Skotnicki M. (2009). Coronary artery disease and apolipoprotein A-I/C-III gene polymorphism: a study of Saudi Arabians. *Clinical genetics*. **39**, 1-5.
- Jong MC., Dahlmans VEH., Hofker MH., Havekes LM. (1997). Nascent very low density lipoprotein triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase is inhibited by apolipoprotein E in a dose-dependent manner. *Biochem Journal*. **328**, 745–750.
- Jong MC., Hofker MH, Havekes LM (1999). Role of ApoCs in Lipoprotein Metabolism : Functional Differences Between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **19**, 472-484.
- Kao J-T., Wen H-C., Chien K-L., Hsu H-C., Lin S-W., (2003). A novel genetic variant in the apolipoprotein A5 gene is associated with hypertriglyceridemia. *Human Molecular Genetics*. **12(19)**. 2533-2539.
- Karpe F., Bell M., Björkegren J., Hamsten A. (1995). Quantification of Postprandial Triglyceride-Rich Lipoproteins in Healthy Men by Retinyl Ester Labeling and Simultaneous Measurement of Apolipoproteins B-48 and B-100. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. (**15**), 199-207.
- Kathiresan S. Ve ark. (2009). Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nature Genetics*. **41(1)**, 56-65.
- Kaysen GA., de Sain-van der Velden MG (1999). New insights into lipid metabolism in the nephrotic syndrome. *Kidney International Supplement*, 71, 18-21.
- Kim JY., Kim OY., Koh SJ., Jang Y., Yun SS., Ordovas JM., Lee JH., (2006). Comparison of Low-Fat Meal and High-Fat Meal on Postprandial Lipemic Response in Non-Obese Men according to the –1131T>C Polymorphism of the Apolipoprotein A5 (APOA5) Gene (Randomized Cross-Over Design). *Journal of the American College of Nutrition*. **25(4)**, 340-347.
- Kinnunen PKJ., Ehnholm C. (1976) Effect of serum and C apoproteins from very low density lipoproteins on human postheparin plasma hepatic lipase. *Fed Eur Biochem Soc Lett*. **65**, 354-357.
- Klos KLE., Hamon S., Clark AG., Boerwinkle E., Kiang L., Sing CF. (2005). APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study. *Journal of Lipid Research*. **46(3)**, 564-570.
- Krause RM., Williams PT., Brensike J., (1987). IDL and progression of coronary disease in hypercholesterolemic men. *Lancet* **2**, 62.
- Kugiyama K., Doi H., Motoyama T., ve ark. (1998). Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation* **97**, 519.

Kugiyama K., Dori H., Takazoe K., (1999). Remnant lipoprotein levels in fasting serum predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation* **99**, 2858.

Lai CQ., Demissie S., Cupples LA., Zhu Y., Adiconis X., Parnell LD., Corella D. Ordovas JM. (2003). Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses, and CVD risk in the Framingham Heart Study. *Journal of Lipid Research*. **44**, 2365-2373.

Landis BA., Rotolo FS., Meyers WC., Clark AB., Quarfordt SH. (1987) Influence of apolipoprotein E on soluble and heparin immobilized hepatic lipase. *American Journal of Physiology*. **252**, 805-810.

Lemieux I., Pascot A., Couillard C., et al. (2000). Hypertriglyceridemic waist: a marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation*, **102**, 179-84.

Li G-P., Wang J-Y., Yan S-K., Chen B-S., Xue H., Wu G. (2004). Genetic effect of two polymorphisms in the apolipoprotein A5 gene and apolipoprotein C3 gene on serum lipids and lipoproteins levels in a Chinese population. *Clinical Genetics*. **65**, 470–476.

Li WW., Dammerman MM., Smith JD., Metzger S., Breslow JL., Leff T. (1995). Common genetic variation in the promoter of the human apo CIII gene abolishes regulation by insulin and may contribute to hypertriglyceridemia. *Journal of Clinical Investigation*. **96(6)**, 2601–2605.

Liao Y-C., Linc H-F., Rundek T., Cheng R., Hsia E., Ralph L. (2008). Multiple genetic determinants of plasma lipid levels in Caribbean Hispanics. *Clinical Biochemistry*. **41(4-5)**, 306-312.

López-Miranda J., ve ark. (2006). Postprandial lipoprotein metabolism, genes and risk of cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology* **17**, 132–138.

Mahley RW., Innerarity TL., Rall SC Jr., Weisgraber KH. (1984) Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *Journal of Lipid Research*. **25**, 1277–1294.

Mahley RW., Palaoglu KE., Atak Z., Dawson-Pepin J., Langlois AM., Cheung V., Onat H., Fulks P., Mahley LL., Vakar F. (1995). Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. *Journal of Lipid Research*. **36**, 839-859.

Mahley RW., Pápina J. Paloğlu KE., Malloy MJ., Kane JP., Bersot TP. (2000). Low levels of high density lipoproteins in Turks, a population with elevated hepatic lipase: high density lipoprotein characterization and gender-specific effects of apolipoprotein E genotype. *Journal of Lipid Research*. **41**, 1290-1301.

Malloy MJ., Kane JP. (2001). A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Advances in Internal Medicine*. **47**, 111-136.

Mangin EL., Kugiyama K., Nguy JH., ve ark. (1993). Effects of lysolipids and oxidatively modified low density lipoproteins on endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *Circulation Research*, **72**, 161.

Martinelli N., Trabettib E., Bassic A., Girellia D., Frisoa S., Pizzoloa F., Sandria M., Malerbab G., Pignattib PF., Corrochera R., Olivieria O. (2006). The -1131 T > C and S19W APOA5 gene polymorphisms are associated with high levels of triglycerides and apolipoprotein C-III, but not with coronary artery disease: an angiographic study. *Atherosclerosis*. **191(2)**, 409-417.

Mathew V., Cannan CR., Miller VM., ve ark., (1997). Enhanced endothelin-mediated coronary vasoconstriction and attenuated basal nitric oxide activity in experimental hypercholesterolemia. *Circulation* **96**, 1930.

Matsunaga A., Arishima H., Niimura H., Zhang B., Uehara Y., Ohwaki K., Morita M., Hayashida K., Saku K. (2007). Strong Linkage Disequilibrium and Association of -1131T>C and c.553G>T Polymorphisms of the Apolipoprotein A5 Gene With Hypertriglyceridemia in a Japanese Population. *Circulation journal*. **71(5)**, 746-752.

McConathy WJ., Gesquiere JC., Bass H., Tartar A., Fruchart JC. (1992). Inhibition of lipoprotein lipase activity by synthetic peptides of apolipoprotein C-III. *Journal Lipid Resolution*. **33**, 995–1003.

Miller ve ark (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. **16(3)**, 1215.

Morawietz H., Rueckschloss U., Niemann B., ve ark. (1999). Angiotensin II induces LOX-1, the human endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Circulation* **100**, 899.

Moreno R., Perez-Jimenez F., Marin C., Moreno J., Gomez P., Bellido C., Perez-Martinez P., Jimenez-Gomez Y., Fuentes F., Lopez-Miranda J. (2006). A single nucleotide polymorphism of the apolipoprotein A-V gene -1131T>C modulates postprandial lipoprotein metabolism. *Atherosclerosis*. **189 (1)**, 163-168.

Moreno-Luna R., Perez-Jimenez R., Marin C., Perez-Martinez P., Gomez P., Jimenez-Gomez Y., Delgado-Lista J., Moreno JA., Tanaka T., Ordovas JM., Lopez-Miranda J. (2007). Two Independent Apolipoprotein A5 Haplotypes Modulate Postprandial Lipoprotein Metabolism in a Healthy Caucasian Population. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. **92(6)**, 2280-2285.

Nabika T., Nasreen S., Kobayashi S., Junichi Masuda. (2002). The genetic effect of the apoprotein AV gene on the serum triglyceride level in Japanese. *Atherosclerosis*. **165**, 201-204.

Neeli I., ve ark. (2007). Liver fatty acid-binding protein initiates budding of pre-chylomicron transport vesicles from intestinal endoplasmic reticulum. *Journal of Biological Chemistr*, **282**, 17974–17984.

Neeli I., ve ark. (2007). Liver fatty acid-binding protein initiates budding of pre-chylomicron transport vesicles from intestinal endoplasmic reticulum. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 17974–17984.

Nelson ve ark. (2005). *Lehninger's Principles of Biochemistry*. Yayınlayan W. H. Freeman. 4. Baskı. **10**. bölüm.

Nickenig G., Sachinidis A., Michaelsen F., ve ark. (1997). Upregulation of vascular angiotensin II receptor gene expression by low-density lipoprotein in vascular smooth muscle cells. *Circulation* **95**, 473.

Nicoll A., Lewis B. (1980). Evaluation of the roles of lipoprotein lipase and hepatic lipase in lipoprotein metabolism: in vivo and in vitro studies in man. *European Journal of Clinical Investigation*. **10(6)**, 487-95.

Nigon. F, Lesnik. P, Rouis. M, ve ark. (1991). Discrete subspecies of human low density lipoprotein are heterogeneous in their interaction with cellular LDL receptor. *Journal of Lipid Research* **32**, 1741.

Nilsson SK., Lookene A., Beckstead JA., Gliemann J., Ryan RO., Olivecrona G. (2007). Apolipoprotein A-V Interaction with Members of the Low Density Lipoprotein Receptor Gene Family. *Biochemistry*, **46(12)**, 3896–3904.

Olano-Martin E., Abraham EC., Gill-Garrison R., Valdes AM., Grimaldi K., Tang F., Jackson KG., Williams CM., Minihane1 AM. (2008). Influence of apoA-V gene variants on postprandial triglyceride metabolism: impact of gender. *Journal of Lipid Research*. **49**, 945-953.

Olivecrona T., Bengtsson-Olivecrona G. (1987). Lipoprotein lipase from milk — the model enzyme in lipoprotein lipase research. In *Lipoprotein lipase*. J. Borensztajn, editor. Evener. Chicago, Illinois, USA. 15–58.

Olivecrona T., Bengtsson-Olivecrona, G. (1987). Lipoprotein lipase from milk — the model enzyme in lipoprotein lipase research. In *Lipoprotein lipase*. 15–58.

Pedreno J., de Castellarnau C., Sanchez J., ve ark. (1992). LDL binding sites on platelets differ from the "classical" receptor of nucleated cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **12**, 1353.

Pennacchio LA., Olivier M., Hubacek JA., Cohen JC., Cox DR., Fruchart JC., Krauss RM., Rubin EM. (2001). An Apolipoprotein Influencing Triglycerides in Humans and Mice Revealed by Comparative Sequencing. **294(5540)**, 169 – 173.

Pennacchio LA., Olivier M., Hubacek JA., Krauss RM., Rubin EM., Cohen JC. (2002). Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Human Molecular Genetics*. **11(24)**, 3031-3038.

Podrez EA., Febbraio M., Sheibani N., ve ark. (2000). Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species. *Journal of Clinical Investigation* **105**, 1095.

Pollex RL., Hegele RA. (2006). Genetic determinants of the metabolic syndrome. *Nature Clinical Practice of Cardiovascular Medicine*, **2006;3**, 482-9.

- Pratico D., Juliano L., Mauriello A., ve ark. (1997). Localization of distinct F2-isoprostanes in human atherosclerotic lesions. *Journal of Clinical Investigation*, **100**, 2028.
- Price WH., Morris SW., Burgon R., Donald PM., Kitchin AH. (1986). Apolipoprotein CIII polymorphism and coronary heart disease. *Lancet*. **2i** 1041.
- Pulai JI., ve ark. (1997). Normal intestinal dietary fat and cholesterol absorption, intestinal apolipoprotein B (apoB) mRNA levels, and apoB-48 synthesis in a hypobetalipoproteinemic kindred without any apoB truncation. *Metabolism*. **46** 1095–1100.
- Pullinger CR., Aouizerat BE., Movsesyan I., Durlach V., Sijbrands EJ., Nakajima K., Poon A., Dallinga-Thie GM., Hattori H., Green LL., Kwok PY., Havel RJ., Frost PH., Malloy MJ., Kane JP. (2008). An apolipoprotein A-V gene TNP is associated with marked hypertriglyceridemia among Asian-American patients. *Journal of Lipid Research*. **49**, 1846-1854.
- Quarfordt SH., Michalopoulos G., Schirmer B. (1982). The effect of human C apolipoproteins on the in vitro hepatic metabolism of triglyceride emulsions in the rat. *Journal of Bioorganic Chemistry*. **257**, 14642–14647.
- Raabe M., Veniant MM., Sullivan MA., et al. (1999). Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice. *Journal of Clinical Investigation* **103**, 1287.
- Rader DJ., Hoeg JM., Brewer HB Jr. (1994). Quantitation of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease. *Annals of Internal Medicine* **120**, 1012.
- Redgrave TG. (2003). Chylomicron metabolism. *44th International Conference on the Bioscience of Lipids*.
- Rees A., Stocks J., Paul H., Ohuchi Y., Galton D. (1985). haplotypes identified by DNA polymorphisms at the apolipoprotein A-1 and C-III loci and hypertriglyceridaemia. *Human Genetics*. **72(2)**, 168-171.
- Report of a Meeting of Physicians and Scientists, University College of London Medical School. Hypertriglyceridaemia and vascular risk. (1993) *Lancet* **342**, 781.
- Ros E. (2000). Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. **151**, 357-379.
- Rosenson RS., Stamos TS. (1995) Low HDL is associated with increases in blood viscosity in subjects with normal triglycerides. *Biorheology*, **32**, 316.
- Rosenson RS., Tangney CC. (1996). Elevated plasma viscosity contributes to CHD risk in subjects with hypertriglyceridemia. *Circulation*, **94**, 1027.



- Rosenson RS., Uretz E. (1994). Elevated blood viscosity in hyperlipidemic subjects: An additional cause for atherothrombosis (abstract). *Atherosclerosis*, **109**, 265a.
- Ross R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s. *Nature* **362**, 801.
- Rubins HB., Robins SJ., Collins D., et al. (2002). Diabetes, plasma insulin, and cardiovascular disease: subgroup analysis from the Department of Veterans Affairs high-density lipoprotein intervention trial (VA-HIT). *Archives of Internal Medicine*, **162**, 2597-604.
- Ruiz JR., Labayen I., Ortega FB., Moreno LA., González-Lamuño D., Martí A., Nova E., Fuentes MG., Redondo-Figuero C., Martínez JA., Sjöström M., Castillo MJ., AVENA Study Group. (2008). Birth weight and blood lipid levels in Spanish adolescents: Influence of selected APOE, APOC3 and PPARgamma2 gene polymorphisms. *BMC Medical Genetics*. **9:98**.
- Russoa GT., Meigs JB., Cupples LA., Demissie S., Otvos JD., Wilson PWF., Laha C., Cucinotta D., Couture P., Mallory T., Schaefer EJ., Ordovas JM. (2000). Association of the Sst-I polymorphism at the APOC3 gene locus with variations in lipid levels, lipoprotein subclass profiles and coronary heart disease risk: the Framingham offspring study. *Atherosclerosis*. **158(1)**, 173-181.
- Sampietro T., Tuoni M., Ferdeghini M., et al. (1997). Plasma cholesterol regulates soluble cell adhesion molecule expression in familial hypercholesterolemia. *Circulation*, **96**, 1381.
- Santamarina-Fojo S. (1998). The familial chylomicronemia syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **27**, 551-67.
- Schaap FG., Rensen PCN., Voshol PJ., Vriens C., Vliet HN., Chamuleau RAFM., Havekes LM., Groen AK., Dijk KW. (2004). ApoAV Reduces Plasma Triglycerides by Inhibiting Very Low Density Lipoprotein-Triglyceride (VLDL-TG) Production and Stimulating Lipoprotein Lipase-mediated VLDL-TG Hydrolysis. *The Journal Of Biological Chemistry*. **279(27)**, 27941-27947.
- Schonfeld G., Pfleger B. (1971) Utilization of exogenous free fatty acids for the production of very low density lipoprotein triglyceride by livers of carbohydrate-fed rats.
- Sehayek E., Eisenberg S. (1991). Mechanisms of inhibition by apolipoprotein C of apolipoprotein E-dependent cellular metabolism of human triglyceride-rich lipoproteins through the low density lipoprotein receptor pathway. *Journal of Biological Chemistry* **266**, 18259-18267.
- Seung HH., Woo HP., Chung CL., Jung HS., Jin QK. (1997). Association between genetic variations of apo AI-CIII-AIV cluster gene and hypertriglyceridemic subjects. *Clinical Chemistry*. **43**, 13-17.
- Shiau YF., Popper DA., Reed M., Umstetter C., Capuzzi D., Levine GM. (1985). Intestinal triglycerides are derived from both endogenous and exogenous sources. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. **248 (2)**, 164-169.

Silva HV., Lauer SJ., Wang J., Simonet WS., Weisgraber KH., Mahley RW., Taylor JM. (1994). Overexpression of human apolipoprotein C-III in transgenic mice results in an accumulation of apolipoprotein B48 remnants that is corrected by excess apolipoprotein E. *Journal of Biological Chemistry*. **269**, 2324–2335.

Sousa MO., Alíaa P., Pintóc X., Corbellac E., Navarroa MA. (2008). Interaction between APOA5 –1131T > C and APOE polymorphisms and their association with severe hypertriglyceridemia. *Clinica Chimica Acta*. **395(1-2)**, 68-71.

Steinberg D., Parthasarathy S., Carew TE., ve ark. (1989). Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New England Journal of Medicine* **320**, 915.

Stillemark-Billton P., Beck C., Borén J., Olofsson SO. (2005). Relation of the size and intracellular sorting of apoB to the formation of VLDL1 and VLDL2. *Journal of Lipid Research*. **46** 104–114.

Tall AR. (1990). Plasma high density lipoproteins: Metabolism and relationship to atherogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, **86**, 379.

Talmud PJ., Hawe E., Martin S., Olivier M., Miller GJ., Rubin EM., Pennacchio LA Humphries SE. (2002). Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. *Human Molecular Genetics*. **11(24)**, 3039-3046.

Talmud PJ., Hawe E., Martin S., Olivier M., Miller GJ., Rubin EM., Pennacchio LA., Humphries SE. (2002). Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. *Human Molecular Genetics*, **11 (24)**, 3039-3046.

Tang Y., Sun P., Guo D., Ferro A., Ji Y., Chen Q., Fan L. (2006). A genetic variant c.553G > T in the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased risk of coronary artery disease and altered triglyceride levels in a Chinese population. *Atherosclerosis*, **185(2)**, 433-7.

Tang Y., Suna P., Guoa D., Ferroc A., Jia Y., Chena Q., Fana L., (2005). A genetic variant c.553G > T in the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased risk of coronary artery disease and altered triglyceride levels in a Chinese population. *Atherosclerosis* **185(2)**, 433-437.

Tangirala RK., Tsukamoto K., Chun SH., ve ark. (1999). Regression of atherosclerosis induced by liver-directed gene transfer of apolipoprotein A-I in mice. *Circulation*, **100**, 1816.

Tas S., (1989). Strong association of a single nucleotide substitution in the 3'- untranslated region of the apolipoprotein-CIII gene with common hypertriglyceridemia in Arabs. *Clinical Chemistry*. **35**, 256-259.

Topol EJ. (2004). Intensive statin therapy — a sea change in cardiovascular prevention. *New*

Tornoci L., Scheraldi CA., Li X., Ide H., Goldberg IJ., Le N-A. (1993). Abnormal activation of lipoprotein lipase by non-equilibrating apoC-II: further evidence for the presence of non-equilibrating pools of apolipoproteins C-II and C-III in plasma lipoproteins. *Journal of Lipid Research*. **34**, 1793–1803.

Toskes PP. Hyperlipidemic pancreatitis. (1990). *Gastroenterology Clinics of North America* **19**, 783-91.

Trieu VN., McConathy WJ. (1995). APOC-III-b-Galactosidase hybrid distinguishes between VLDL and LDL phospholipids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **211**, 754–760.

Vaessen SFC., Schaap FG., Kuivenhoven JA., Groen AK., Hutten BA., Boekholdt SM., Hattori H., Sandhu MS., Bingham SA., Luben S., Palmen JS, Wareham NJ., Humphries SE., Kastelein JJP., Talmud PJ., Khaw KT. (2006). Apolipoprotein av, triglycerides and risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women; the prospective epic-norfolk population study. *Journal of Lipid Research*. **47**, 2064-2070.

Vance DE ve ark. (2008) Biochemistry Of Lipids, Lipoproteins And Membranes. Elsevier *5.baskı* **14**. Bölüm.

Vergnani L., Hatric S., Ricci F., ve ark. (2000). Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production. Key role of L-arginine availability. *Circulation*, **101**, 1261.

Vrablík M., Hoínek A., Adámková V., Poledne R., Hubacek JA. (2003) Ser19→Trp polymorphism within the apolipoprotein AV gene in hypertriglyceridaemic people. *Journal of Medical Genetics*. **40**, 105.

Walden CC., Hegele RA. (1994). Apolipoprotein E in hyperlipidemia. *Annals of Internal Medicine*, **120**, 1026-36.

Wang C., McConathy WJ., Kloer HJ., Alaupovic P. (1985). Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins: effect of apolipoprotein C-III. *Journal of Clinical Investigation*. **75**, 384–390.

Wang CS., Hartsuck J., McConathy W.J. (1992). Structure and functional properties of lipoprotein lipase. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1123**, 1–17.

Wang CS., Hartsuck J., McConathy WJ. (1992). Structure and functional properties of lipoprotein lipase. *Biochimica et Biophysica Acta* **1123**, 1–17.

Ward KJ., Ellard S., Yajnik CS., Frayling TM., Hattersley AT., Venigalla PNS., Chandak GR. (2006). Allelic drop-out may occur with a primer binding site polymorphism for the commonly used RFLP assay for the -1131T>C polymorphism of the Apolipoprotein AV gene. *Lipids in Health and Disease*. **5**, 11.

Weinberg RB., Cook VR., Beckstead JA., Martin DDO., Gallagher JW., Shelness GS., Ryan RO. (2003). Structure and Interfacial Properties of Human Apolipoprotein A-V. *The Journal Of Biological Chemistry*. **278(36)**, 34438–34444.

Williams KJ. (2008). Molecular processes that handle and mishandle dietary lipids. *The Journal of Clinical Investigation*. **118**, 3247-3259.

Wu JH., Kao JT., Wen MS., Lo SK. (2000). DNA polymorphisms at the apolipoprotein A1-CIII loci in Taiwanese: correlation of plasma APOCIII with triglyceride level and body mass index. *J Formos Med Assoc.* **99(5)**, 367-374.

Yadav D., Pitchumoni CS. (2003). Issues in hyperlipidemic pancreatitis. *Journal of Clinical Gastroenterology*, **36**, 54-62.

Yamadaa Y., Matsuob H., Waritab S., Watanabeb S., Katoc K., Oguric K., Yokoic K., Metokid N., Yoshidae H., Satohe K., Ichiharaa S., Aoyagif Y., Yasunagaf A., Parkf H., Tanakaf M., Nozawa Y. (2007) Prediction of genetic risk for dyslipidemia. *Genomics.* **90(5)**, 551-558.

Young IS., Nicholls DP. (2007). Lipid metabolism. *Current Opinion in Lipidology*, **18(6)**, 689-691.

Yuan G., Al-Shali K. Z., Hegele R. A. (2007). Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. *Canadian Medical Association Journal*, **176 (8)**, 1113-1120.

Zeng Q., Dammerman M., Takada Y., Matsunaga A., Breslow JL., Sasaki J. (1994). An apolipoprotein CIII marker associated with hypertriglyceridemia in Caucasians also confers increased risk in a west Japanese population. *Human Genetics.* **95(4)**, 371-375.

Zilversmit DB (1979). Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*, **60**, 473-85.

**8. EKLER****Ek-1****TIBBİ BİYOLOJİ A.B.D. MOLEKÜLER GENETİK TB-404 NOLU PROJE HASTA BİLGİ FORMU**

Hastanın Adı, Soyadı	
Dosya No:	
Mesleği	
Adres	
Tel	
Yaşı ve cinsiyeti	
Doğum yeri ve yılı	
Sevk edildiği departman	
Boy ve kilosu	
Hastalığın aileselliği	
APOE	
APOB	
Lp a	
VKİ	
Obezite İndeksi	
Hipertansiyon	
VLDL	
LDL-Kolesterol	

HDL-Kolesterol	
Total kolesterol	
Trigliserit	
İlaç kullanımı	
Alkol kullanımı	
Sigara kullanımı(paket/gün)	
Diabetes mellitus	

**Ek-2****GÖNÜLLÜLERİN BİLGİLENDİRİLME METNİ**

Kan yağları ve hiperlipidemi ile ilişkili olduğu düşünülen APOA5 ve APOC3 genlerinin araştırılacağı bir çalışma için kanınız kullanılacaktır. Bu araştırmanın amacı, insanlardaki APOA5 ve APOC3 genleri ile kan yağları arasındaki ilişkileri araştırmaktır. Araştırmaya katılıp katılmama hakkına sahipsiniz. Araştırma başladıktan sonra istediğiniz taktirde araştırmadan ayrılabilirsiniz. Araştırmanın gidişine göre rızanıza bakılmaksızın araştırma dışında bırakılabiliyorsunuz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır (yapılacaksa ödeme miktarı yazılmalıdır); ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu (kurum/kuruluş) tarafından desteklenmektedir. Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarına engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir. Ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Sizde istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Ben, (gönüllünün adı) ..... yukarıdaki metni okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. Çalışma hakkında soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları açıklandı. Bu çalışmayı istediğim zaman ve herhangi bir neden belirtmek zorunda kalmadan bırakabileceğimi ve bıraktığım zaman tedavimi üstlenenlerin herhangi bir ters tutumu ile karşılaşmayacağımı anladım.

Ad Soyad:

İmza:

## 9. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Emre TAŞKIN

**Doğum Yeri:** Samsun

**Doğum Tarihi:** 08.06.1975

**Medeni Durumu:** Bekar

**Yabancı Dili:** İngilizce

**E-mail:** [etaskin@omu.edu.tr](mailto:etaskin@omu.edu.tr)

**Eğitim Durumu:** 1982-1984 İstiklal İlkokulu

1984-1987 Sakarya İlkokulu

1987-1989 Özel Samsun Lisesi

1989-1993 Samsun Anadolu Lisesi

1994-2002 AÜ Veteriner Fakültesi

**Görev Yeri:** OMU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

**Doktora:** 2003 OMU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

**Doktora Tez Konusu:** Bölgemiz Hipertrigliseridemi Hastalarında Genetik Polimorfizm Hastalık İlişkilerinin Araştırılarak Genetik Yatkınlık Tarama Testlerinin Başlatılması