

kolesterolün, lipid ve yağ asitlerinin enerji için yakılabildiği ya da trigliserid olarak depo edilebildiği periferik dokulara taşınmasıdır. VLDL partikülleri sistemik dolaşıma girdiğinde trigliserid çekirdekleri lipoprotein lipaz tarafından hidrolize edilir. VLDL partikülleri parçalanırken Apo B100 hariç diğer yüzey proteinleri ve komponentleri HDL'ye transfer edilir. Kalan VLDL artığına IDL denilir (45,46,47,48,49).

#### **IDL (orta dansiteli lipoproteinler) :**

IDL'nin şilomikron artıklarından farkı: Şilomikron artıklarının Apoprotein içeriği Apo B48 iken IDL'nin Apoprotein içeriği Apo B100 dür (48). IDL-VLDL'nin LDL tarafından hidroliziyle oluşurlar. Elektroforezde Pre-B- ile Beta bantları arasında yer alırlar. IDL'nin kolesterol içeriği yüksektir. IDL yükselmelerinin prematüre koroner arter hastalığına ve periferik arter hastalığına zemin yarattığı düşünülmektedir (45,46,47,48,49).

#### **LDL (düşük dansiteli lipoproteinler) :**

Ağırlığının %45'i kolesterol olan LDLi sinir dokularına, hücre membranlarına ve steroid hormon sentezi de dahil kolesterol gerektiren metabolik fonksiyonlar için ilgili hücelere kolesterolün major taşıyıcısıdır. IDL'den trigliserid hidroliziyle bir kısmı da karaciğerde sentezlenerek oluşturulur. Çapları küçük, dansiteleri daha yoğundur. Apoprotein içeriği olarak Apo B100 içerir. Ağırlığının %20'sini oluşturur. Dolaşımdaki LDL'nin %75 kadarı spesifik reseptör aracı bağlanma ile dolaşımdan alınır. LDL reseptörlerini tutan prototip hastalık familyal hiperkolesterolemidir. Heterozigotlarda LDL reseptörleri %50 azalmıştır. Homozigotlarda ya çok az ya da hiç reseptör aktivitesi yoktur.

Daha küçük ve daha yoğun (dense) LDL moleküllerine sahip olan hastalarda ağırlığı ve cinsiyeti ne olursa olsun; akut miyokard infarktüsü için üç kat daha fazla risk olduğu ileri sürülmüştür. Bu küçük yoğun LDL molekülleri; genellikle erkek cinsiyet, diabetes mellitus, baskılanmış HDL düzeyleri ve familyal kombine hiperlipoproteinemi ile birlikte (45,46,47,48,49).

#### **HDL (yüksek dansiteli lipoproteinler) :**

Çok küçük, ancak dansitesi yüksek partiküllerdir. Elektroforezde alfa mobilitesi gösterirler. Protein içeriği %45, kolesterol içeriği %30, fosfolipid içeriği

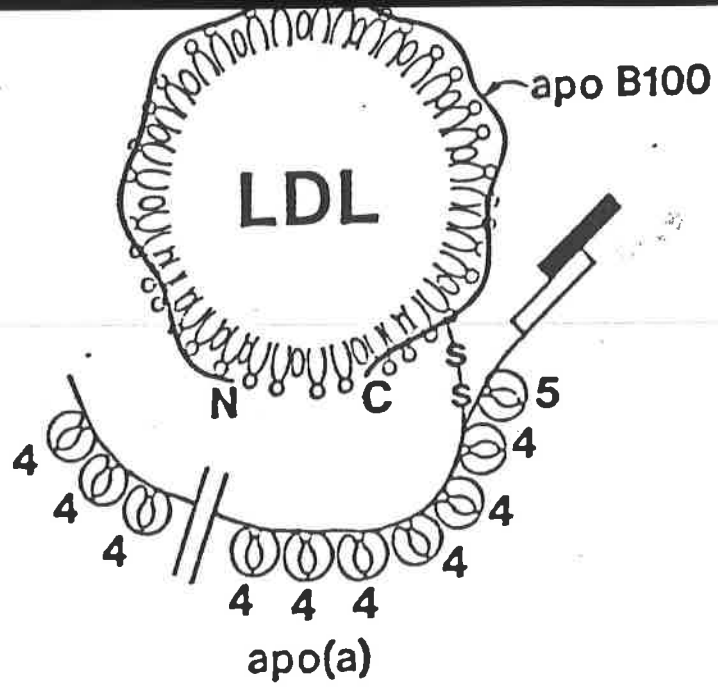
(başlıca fosfatidil kolin) %25'dir. Çok yüksek protein içeriğiyle diğer lipoproteinler için bir apoprotein kaynağı gibidir. Major protein komponentleri Apo A<sub>1</sub> ve Apo A<sub>II</sub>'dir. Temel fonksiyonu ise kolesterol transportudur. Yani kolesterolün periferik dokulardan karaciğere taşınmasıdır. HDL'nin çeşitli subfraksiyonları vardır. HDL<sub>2</sub> ve HDL<sub>3</sub> dolaşımdaki major subfraksiyonlardır.  $\alpha$ -mobilitesiyle hareket eden HDL<sub>2</sub> premature aterosklerozla karşı korunmayla yakın ilişkili subfraksiyondur. HDL'nin yüksek düzeyleri ateroskleroz gelişimine karşı koruyucudur. HDL düzeylerinin düşük olması istatistiksel olarak premature aterosklerozis ile ilişkilidir (45,46,47, 48,49).

#### **Lipoprotein (a) [LP (a)] :**

Premature aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörüdür (54). İlk defa 1963 yılında Kare Berg tarafından LDL'nin farklı antijenik özelliğe sahip genetik bir varyantı olarak tanımlanmıştır. Partiküle değişik özelliği veren yapının glikoprotein yapısında farklı bir protein olduğu gösterilmiştir. Apoprotein (a) olarak adlandırılmıştır (55).

#### **Lipoprotein (a)'nın yapısı:**

Lipoprotein (a), apoprotein B-100 molekülüne disülfid bağı ile bağlanan bir veya iki apoprotein (a)'dan oluşan, oldukça farklı bir protein kısma sahip lipoprotein parçacıklarından oluşan bir aileyi ifade eden bir terimdir (53,54,55). Kolesterolde zengin bir lipid içeriği ve taşıdığı apoprotein B100 ile LDL'ye benzemekle birlikte (56), apoprotein B100 apoprotein (a) kompleksine sahip trigliseridde zengin partiküllerin de varlığı gösterilmiştir (57,58). Lipoprotein (a) 236-255 angström çapında elektroforezde pre-beta mobilitesine sahip lipoprotein moleküldür. 1.05-1.12 gr/ml arasında bir dansiteye sahiptir.



Şekil-3: Lipoprotein(a) partikülünün şematik yapısı

Lipoprotein (a) molekülleri; büyüklük ve dansite bakımından heterojen lipoprotein partikülleridir. Bu heterojenite lipid protein oranına ve molekül ağırlığı 300-800 kilo dalton arasında değişen apoprotein (a) polipeptid zincirine bağlı olarak meydana gelmektedir (53,54,55,59).

#### **Apolipoprotein (a) [apoprotein (a)] :**

Apoprotein a, lipoprotein (a)'yı diğer lipoproteinlerden ayıran karakteristik özelliklerden sorumlu, ağırlığının %30'unu karbohidratların oluşturduğu plazminojen ile dikkat çekici yapısal benzerliği olan bir glikoproteindir. (53,54,55,59).

Apoprotein (a)'nın komplementer DNA (EDNA) dizisinin ortaya çıkarılması ile plazminojene oldukça benzer bir yapıya sahip olduğu anlaşılmıştır (60). Plazminojen, plazmine dönüşerek fibrini eriten proteaz bölgesi ve birbiri ardına dizili 1-5'e kadar numaralandırılan "kringle" olarak adlandırılan 5 homolog bölgeden oluşan fibrinolitik bir enzimdir (60).

Apoprotein (a) da plazminojendeki gibi bir proteaz bölgesi ve kringle 5 bölgesi bulunur. Ancak plazminojenden farklı olarak apoprotein (a) da plazminojendeki "kringle 1,2,3" bölgeleri yoktur. "Kringle 4" bölgesi ise 15-37 arasında değişen sayılarda tekrarlanmıştır (60).

Tekrarlayan kringle-4 bölgesinin sayısına bağı olarak molekül ağırlığı 300-800 kilo dalton arasında değişen izoformları oluşur, bu özellik molekülün büyüklüğünü belirler (4).

Apoprotein (a) nın proteaz bölgesi ise plazminejendeki proteaz bölgesiyle %90 bir yapısal benzerliğe sahiptir. Serin-histidin-aspartik asitten oluşan katalitik triadın aynısı lipoprotein (a) molekülünde de mevcuttur. Plazminojenin parçalanarak aktif plazmine dönüştüğü noktadaki arginin amino asidinin yerine apoprotein (a) da serin amino asidi gelmiştir. Bu nedenle apoprotein (a); doku plazminojen aktivatörü (t-PA), streptokinaz ve ürokinaz ile aktif proteaza dönüştürülemez. Sonuçta; apoprotein (a) aktif proteaza dönüştüremeyen dev bir zimojen gibi gözükmemektedir (60).

#### **Apoprotein (a) geni:**

Apoprotein (a) geninin insan 6. kromozomunun uzun kolu üzerinde ve plazminojen genine çok yakın konumda 6g 26-27 lokalizasyonuna yerleşmiş olduğu, 20 kadar alleli olduğu gösterilmiştir (61,62). Apoprotein (a)'nın komplementer DNA dizisinin; plazminojeninkine çok benzemesi ve aynı kromozom üzerinde ve çok yakın yerleşmiş olmaları bu iki genin aynı aileden olduğu ve apoprotein (a) geninin; plazminojenin veya bir ata genin evrimleşmesiyle ortaya çıktığını düşündürmektedir (60,61,62).

#### **Lipoprotein (a)'nın genetiği :**

Plazma düzeyleri açısından bireyler arasında 1000 kat kadar büyük farklılıklar gösteren lipoprotein (a) kantitatif bir genetik özellik olarak otozomal dominant olarak kalıtılır (53,55,63,64,65). Aile çalışmalarında plazma lipoprotein (a) düzeylerinin sıkı bir genetik kontrol altında olduğu, bireyler arasındaki farkların önemli ölçüde apoprotein (a)'yı kodlayan gen tarafından belirlendiği gösterilmiştir (63,64,65,66).

Apo (a) allelinin büyüklüğünün plazma lipoprotein (a) konsantrasyonlarıyla ters orantılı olduğu gösterilmiştir (69). Ancak, apo (a) geni plazma lipoprotein (a) düzeylerinin sadece yaklaşık %60 kadarından sorumlu olabilir (70).

Plazma lipoprotein (a) düzeyleri molekül ağırlıkları, apoprotein (a) izoformlarının moleküler büyüklüğü ile ters orantılıdır. Apoprotein (a)'nın moleküler ağırlığındaki genetik varyasyon apoprotein (a) genindeki kringle 4-5 kodlayan dizilerin sayısındaki değişkenliğe bağlıdır.

Bir kişide apoprotein (a) izoformlarından en fazla iki tane bulunabilir (53,54,55,66).

Apoprotein (a) izoformları ve lipoprotein (a) düzeyleri arasındaki ilişki hem lipoprotein (a) konsantrasyonlarının, hem de apoprotein (a) nın molekül büyüklüğünün aynı gen loküsü tarafından kontrol edildiği ve lipoprotein (a) nın plazma düzeylerini belirleyen major gen lokusunun apoprotein (a) nın yapısal geni olduğu şeklinde izah edilmektedir (63,64).

#### **Lipoprotein (a) nın fizyolojik rolü :**

Lipoprotein (a) nın fizyolojik rolü henüz bilinmemektedir. Ancak evrensel gelişimi yakın zamana kadar ki bir tehdiye karşı koruyucu olduğunu düşündürmektedir (54,55,60,67).

#### **Lipoprotein (a) nın metabolizması:**

Lipoprotein (a) karaciğerde sentezlendiği ortaya konmuştur (53,54,55). Hepatositler içinde Apoprotein (a) apoprotein B<sub>100</sub> bağlantısı yapıldığı, sekresyondan önce lipoprotein (a) içine inkorpore edildiği gösterilmiştir (53,54,55). Lipoprotein(a)'nın metabolik akibeti, yıkım yeri ve yıkım mekanizması belli değildir.

#### **Plazma lipoprotein (a) düzeyleri:**

Plazma lipoprotein (a) düzeyleri bireyler arasında 10 mg/L'nin altındaki çok düşük değerlerden 1000 mg/L'nin üzerinde yüksek değerlere kadar değişebilir (54,55). Koroner kalp hastalığı riski özellikle 300 mg/L'nin üzerindeki değerlerde oldukça artmaktadır (59,71,72).

Plazma lipoprotein (a) düzeyleri, birey içindeki değişimlerin oldukça sınırlı olmasına karşılık, bireyler arasında 1000 kata ulaşan büyük değişiklikler gösterir (53). Siyahlarda plazma lipoprotein (a) düzeyleri beyazlardan daha yüksektir. Apo (a) genin plazma lipoprotein (a) düzeylerinin %60 kadarından sorumludur

(70). Östrojenlerin plazma lipoprotein (a) düzeylerinde %50'lik bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (73). Yine hipotiroidili bir hastada tedavi sonrasında yüksek lipoprotein (a) düzeylerinin hızla azaldığı gözlenmiştir (70).

Plazma lipoprotein (a) düzeyleri; yaş,seks, vücut ağırlığı indeksi gibi faktörlere bağımlı değildir, diyetsel değişikliklerden de etkilenmemektedir (54,55,59,72). Genetiksel olarak belirlenen plazma lipoprotein (a) düzeyleri hayat boyunca önemli bir değişiklik göstermeden sabit kalır (54,55,63,64). Ancak bununla birlikte, karaciğer, böbrek ve tiroid bezi ile ilgili bazı hastalıklarda lipoprotein (a) düzeyleri değişmektedir. Karaciğer sirozunda azalırken, kronik böbrek yetmezliğinde, nefrotik sendromda, hipotiroidizmde ve diabetes mellitusta artmaktadır (54,59,71,72,74,75,76,77).

Ayrıca cerrahi operasyonların ve akut miyokard infarktüsünün ilk günlerinde plazma lipoprotein (a) düzeylerinde bir akut faz reaktantı gibi yükselme görülür (59,78). Plazma lipoprotein (a) düzeylerinde gebeliğin ilk trimesterinde de görülen yükselme doğum sonrasında bazal değerlerine geri dönerken, menapoz sonrasında bir miktar artış görülmektedir (54,59,79).

#### **Bir kardiyovasküler patojen olarak lipoprotein (a) :**

Genellikle tam lipoprotein olarak 2.5-3.0 gr/L, protein grubu olarak 0.5-0.7 gr/L üstündeki plazma lipoprotein (a) düzeyleri yüksek ateroskleroz riski ile ilişkili bulunmuştur.

İmmünohistokimyasal tekniklerle arter duvarlarında, assenden aortada, arteriyel baypası ven greftlerinde, insan koroner arterlerinin ateromatöz lezyonlarında bulunduğu gösterilmesiyle lipoprotein (a) nın arter duvarından filtre olabildiği ortaya konmuştur (70). Plazma Lp (a) ve arter duvarındaki apo (a) yüzdeleri arasında bir bağıntı bulunduğu gösterilmiştir (70). Yapısal özellikleri nedeniyle hem aterojenik hem de trombojenik potansiyeli mevcuttur (55,58). Plaminojene yapısal olarak benzerliği nedeniyle t-PA aracılığıyla katalize plazminogen aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (80). Yine hücre zarı reseptörüne bağlanmada plazminojene rakip olarak endotel yüzeyinde potansiyel trombojenik etki yapabilir (70).

Plazma lipoprotein (a) düzeylerinin ölçümü yüksek plazma lipoprotein (a) düzeylerinin premature kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk etmeni oluşturması nedeniyle

1- Premature kardiyovasküler hastalık öyküsü olanlarda (< 55 yaş)

2- Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı olduğu bilinen ve rutin inceleme-lerde lipid profili normal olanlarda

3- Yenileyen koroner arter stenozu öyküsü olanlarda

4- Plazma lipoprotein (a) düzeyleri yüksek olan kişilerde aile bireylerinde lipoprotein (a) plazma düzeylerinin ölçülme endikasyonu vardır (70).

Ancak elde güvenli bir ölçüm yöntemi yoktur. Piyasadaki kitlerin çoğunluğu FDA onayı almamıştır Ayrıca ölçümle ilgili olarak apo (a) molekülünün büyüklüğünün değişmesi ve antikorun tüm izotoplarla aynı etkileşmeyi göstermemesi önemli bir sorundur (70).

#### 4-MATERYAL VE METOT

Çalışmaya 1994-1995 yıllarında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği Koroner Yoğun Bakım Ünitesine AMİ tanısıyla yatırılan 45 hasta alındı. AMİ tanısı 30 dakikayı geçen göğüs ağrısı, spesifik elektrokardiyogram değişiklikleri, serum spesifik enzim düzeylerindeki yükseklikler dikkate alınarak konuldu. Hastaların 7 si kadın, 38 i erkek, en küçük yaş 29, en ileri yaş 86, ortalama yaş 55 idi. Hiçbir yakınması olmayan sağlıklı görünümlü 20 kişilik kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubunun yaşları 23 ile 69 arasında (ortalama 56), 7 si kadın 13 ü erkek idi. Hastalarda klinik bulguların başlamasından sonraki ilk 5 gün içinde 12 saatlik açlık periyodundan sonra kan örnekleri alınarak şu parametreler çalışıldı.

Koagülasyon testleri: Antitrombin III, Fibrinojen, Prot.C, Prot. S

Biyokimyasal olarak: Total kolesterol, total trigliserid, LDL kolesterol, HDL kolesterol ve Lipoprotein (a) çalışıldı.

##### **Koagülasyon testleri için plazma hazırlanması :**

Koagülasyon testleri için 9 hacim kan, 1 hacim antikoagülan ( 0,109 m Sodyum Sitrat ) içeren kan alındı. 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı, -20 derecede çalışılincaya kadar saklandı.

**1- Fibrinojen :** Fibrinojen tayini Stago firmasının (Katalog no : 0651 Lot no:941311 France ) Fibrı-prest adlı reaktifi ile çalışıldı. Plazmalar dilüsyon solüsyonu ile 1/10 oranında dilüe edildi. Ve aşağıdaki şekilde çalışıldı.

Dilüe plazma	0,2 ml
2 dakika 37°C bekletildi	
Fibrı-Prest	0,2 ml ilave edilir edilmez koagulometre çalıştırıldı



Koagülasyon zamanı tespit edildi. Kitin prospektüsündeki tablodan pıhtılaşma zamanına uyan fibrinojen düzeyi bulundu. Normal değer 200 - 400 mgr/dl olarak alındı.

**2- Protein C :** Protein C Behling firmasının (Katalog no : 23000 Lot no:23000 Germany ) kitiyle koagülometrik olarak tayin edildi. Kit; Protein C aktivatörü, neotromtin ve Protein C den yoksun plazmadan oluşmaktadır. Hasta ve kontrol plazması kitin içindeki dilüsyon solüsyonuyla 1/10 oranında dilüe edildi. Ve aşağıdaki işlemler yapıldı.

Önceden 37°C de ısıtılmış test tüpünün içine aşağıdaki reaktifler konur.

Kontrol veya hasta plazması(1/10 dilüe)	0,1 ml
Protein C den yoksun plazma	0,1 ml
Protein C aktivatörü	0,1 ml
Neotromtin	0,1 ml

sırasıyla karıştırılır ve 37°C de 4 dakika inkübe edilir. Kalsiyum klorid solüsyonu eklenir eklenmez koagülometre çalıştırılır, Koagülasyon zamanı ölçülür.

**Referans eğrisi :** En az 10 sağlıklı kişiden hazırlanmış plazma örneği veya standart human plazma kullanılarak yapılabilir. Biz 10 sağlıklı bireyden aldığımız plazma örneklerini karıştırdık ve referans eğrisi çizdik.

**Referans eğrisi çizimi :** Sağlıklı 10 plazma örneği karışımı 1/5 (% 200 Protein C); 1/10 (% 100 Protein C); 1/20 ( %50 Protein C); 1/50 (%25 Protein C); 1/100 (%12,5 Protein C:) oranında dilüe edildi ve 5 türlü dilüe plazmanın Protein C değerleri yukarda anlatıldığı gibi ölçüldü. Dilüe plazma yüzdeleri grafik kağıdında ordinata, bunlara karşılık gelen koagülasyon zamanları apsise yazıldı ve bunların referans eğrisi çizildi.

Hasta ve kontrol plazmalarının Protein C düzeyleri referans eğrisinde saptandı. Protein C için normal değer 4.8 mikrogram/ml veya % 70-120 olarak kabul edildi.

**3- Protein S :** Behring firmasının (Katalog no : 920406 Lot no: 920406 Germany) kitiyle koagülometrik olarak saptandı. Hasta ve kontrol plazması 1/5

oranında serum fizyolojik ile dilüe edildi, ve aşağıdaki şekilde Protein S tayini yapıldı. Plastik bir tüp 37°C de bir su banyosuna konuldu.

Hasta ve kontrol serumu (1/5 dilüe)	50µlt
Protein S ten yoksun plazma	50 µlt
Protein C aktivatörü	100 µlt
Bu karışım 37°C de inkübe edilir.	
Protein S kiti	25 µlt

Konur konmaz koagulometre çalıştırılır, koagülasyon zamanı tayin edilir.

Referans eğrisinin hazırlanması

Protein S konsantrasyonlar	µlt standart plazma	µlt Protein S ten yoksun plazma	
1- % 100	100	0	koagülasyon zamanı ölçülür.
2- % 75	75	25	"
3- % 50	50	50	"
4- % 25	25	75	"
5- % 0	0	100	"

% konsantrasyonları grafik kağıdının ordinatına, koagülasyon zamanları da grafik kağıdının apsisine yerleştirilir. Ve referans eğrisi çizilir.

Ölçtüğümüz hasta ve kontrol serumlarının saptanan koagülasyon zamanlarını referans eğrisinden % konsantrasyonları saptanır. Normal değer %70-120 olarak kabul edildi.

4- AT III : Behring firmasının ( katalog no : 00369 Lot no: 922174 Germany) Nor-Partigen AT III immünodiffüzyon plakları kullanıldı. Plakların üzerindeki kuyucuklara 5'er µlt kontrol ve hasta serumu konuldu. İki saat