

Türk Yetişkinlerde Kesitsel bir İncelemede, Serum Total Fosfolipidlerin Metabolik Sendrom ve Koroner Risk ile ilişkileri

Prof. Dr. Altan ONAT, Prof. Dr. Gülay HERGENÇ, Dr. Bülent UZUNLAR, Dr. İbrahim SARI,
Dr. Serdar TÜRKMEN, Uz. Dr. Hüseyin UYAREL, Uz. Dr. Mehmet YAZICI, Doç. Dr. İbrahim KELEŞ,
Prof. Dr. Vedat SANSOY

Türk Kardiyoloji Derneği, Yıldız Teknik Üniversitesi, S. Ersek Kalp-Damar Cerrahisi Merkezi,
Gaziantep Ü. Tıp Fakültesi, İ. Baysal Ü. Düzce Tıp Fakültesi
İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi ve Kardiyoloji Enstitüsü, İstanbul

Özet

Tüm lipoproteinlerin dış katmanını ve hücre zarlarını oluşturan fosfolipidler, gösterdikleri heterojenite ve ölçüm zorlukları nedeniyle, epidemiyolojik çalışmalarda ölçülmemekteydi. Son yıllarda fosfolipidlerin altgruplarının ayrı ayrı ölçüldüğü çalışmalar yayınlanmaya başlamıştır. Okside fosfolipidlerin biyolojik aktif moleküller olduğu ve, aterogenezin yanı sıra, inflamasyon ve bağışıklık cevabında rolleri bulunduğu bilinmektedir. TEKHARF Çalışmasının 2003 yılı takibinde 452 Türk yetişkinlerinde ilk defa serum fosfolipid düzeyleri ölçülmüş ve koroner kalp hastalığı (KKH), metabolik sendrom (MS) ve diğer risk parametreleriyle ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda lipoproteinlerde bulunan başlıca fosfolipidler olan fosfatidilkolin, sfingomiyelin ve lizofosfatidilkolinin tümünü ölçen bir yöntem kullanılmıştır.

Çalışma grubumuzda MS %45.4, KKH %11.3, DM %10.8 ve bozulmuş açlık glukozu %4.4 oranında görülmekteydi. Erkek (192.2 ± 32.0 mg/dl) ve kadın (204.9 ± 41.2 mg/dl) fosfolipid düzeyleri arasında anlamlı fark ($p < 0.001$) bulundu. Korelasyon analizinde serum fosfolipid düzeyleri ile total kolesterol, apo AII, trigliseridler, LDL-K, kompleman C3, apo B, apo AI ve koroner risk puanı ile ileri derecede ($r > 0.30$) olmak üzere, HDL-K, DKB, BKI, metabolik sendrom, SKB, bel çevresi, fibrinojen, log CRP, log GGT, glukoz ($r = 0.10$ ila 0.25), ürik asid, log açlık insülini ve, ters olarak sigara içimi ile fizik aktivite ($r = -0.10$ dolayında) anlamlı, yaş ile de sınırdan anlamlı ilişkiler saptandı. Fosfolipidlerin anlamlı ve bağımsız belirteçleri olarak, 13 risk parametresinin dahil olduğu lineer regresyonda, trigliseridler, LDL-K, HDL-K ve kompleman C3 belirlendi.

Lojistik regresyon analizlerinde metabolik sendrom için yaş-ayarlı fosfolipid odds oranı erkekler için 1.013 (%95 1.002;1.023), kadınlar için ise 1.06 (%95 0.999;1.012; $p < 0.08$) olarak bulundu. Buna göre, fosfolipid düzeyinde 1 standart sapma (36 mg/dl) artış, MS riskinin 1/3 yükselmeye denk gelmekteydi. Prevalan KKH için yaş-ayarlı fosfolipid erkekte anlamlı çıkmazken, kadında 1.008 odds oranı ile sınırdan anlamlı ($p < 0.12$) bir eğilim sergiledi.

Sonuç olarak, total fosfolipid ölçümlerinin, metabolik sendrom riskine katkıda bulunduğu konusunda, erkeklerde belirgin olmak üzere, erişkinlerimizde anlamlı veri üretilmiştir. Prevalan KKH için, kadında yaş-ayarlı olarak sınırdan anlamlı bir eğilim sergileyen fosfolipid düzeylerinin daha geniş bir kohortta incelenmesi uygundur. (Türk Kardiyol Dern Arş 2004; 32: 168-177)

Anahtar kelimeler: Fosfolipidler, epidemiyoloji, koroner kalp hastalığı, metabolik sendrom

Summary

Serum Total Phospholipid Levels in Turkish Adults: A Cross Sectional Study on Associations With Risk of Metabolic Syndrome and Coronary Disease

Phospholipids, constituents of the outer layer of all lipoproteins and cell membranes, have not been measured in epidemiological studies, due to their heterogeneity. Rather, the specific phospholipid subgroups have lately

been investigated. Phospholipids and oxidized phospholipids are biologically active molecules and are involved in atherogenesis as well as inflammatory processes and immune responses. In the 2003 screening of the Turkish Adult Risk Factor Study, phospholipids were measured firstly in 452 men and women in the Marmara and Central Anatolian regions.

A method that measures the total phosphatidylcholine, sphingomyelin and lyso-phosphatidylcholine was used. Coronary heart disease (CHD) and metabolic syndrome (MS) were encountered in 11.3% and 45.4% of the cohort, respectively. Serum phospholipid levels were found to be significantly different between men (192.2 ± 32.0 mg/dl) and women (204.9 ± 41.2 mg/d). Significant correlations existed between serum phospholipid levels and total cholesterol, apo AII, triglycerides, LDL-C, complement C3, apo B, apo AI and coronary risk score ($r > 0.30$), HDL-C, diastolic BP, body mass index, metabolic syndrome, waist circumference, fibrinogen, log CRP, log GGT, glucose ($r = 0.10$ to 0.25), uric acid, log fasting insulin and, inversely, with smoking and physical activity ($r = -0.10$), and (at borderline significance) with age. Multiple linear regression analysis among 13 risk parameters revealed triglycerides, LDL-C, HDL-C, and complement C3 as independent significant determinants of phospholipid levels.

Sex- and age-adjusted OR of phospholipid levels were not found to be significant for prevalent coronary heart disease. Age-adjusted OR of phospholipid levels for metabolic syndrome were found to be significant only in men with 1.013 (95% CI 1.002; 1.023).

We conclude that high total phospholipid levels reflect high risk for metabolic syndrome, particularly in men, though these are not independent of the standard components. The age-adjusted risk of these levels in association with CHD which exhibited a trend among women, requires further investigation in the future. Studying their content in the HDL fraction or the specific phospholipids and their oxidized forms in different lipoprotein fractions seem more promising in this regard. (*Türk Kardiyol Dern Arş* 2004; 32: 168-177)

Key words: Phospholipids, epidemiology, coronary heart disease, metabolic syndrome

Fosfolipidlerin gösterdiği yapısal heterojenite, patolojik durumlardan fazla etkilenmemeleri ve tayin metodlarının zorluğu nedenleriyle epidemiyolojik çalışmalarda kanda total fosfolipid düzeyleri ölçülmemektedir. Bununla birlikte serum fosfolipidlerindeki yağ asitleri ve farklı lipoprotein fraksiyonlarında farklı fosfolipid türleri ileri teknoloji ve yoğun emek gerektiren yöntemlerle ölçülmektedir (1-4).

Hücre zarlarının ve lipoproteinlerin önemli ve başlıca yapı taşları olan fosfolipidlerin diğer fonksiyonları arasında ligand ve reseptör olarak tanıyıcı, sinyal iletiminde ikinci haberci ve önemli biyolojik aktivitesi olan bileşiklerin öncülü, hücre içinde kolesterolün yönlendirilmesi, enzim aktivasyonu, bağışıklık sisteminde düzenleyici olarak rolleri bulunmaktadır (5). Fosfolipidler hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozda etkin rollere sahiptirler (6). Okside fosfolipidlerin biyolojik olarak aktif oldukları ve inflamasyon ile ilgili genlerin ifadesini etkiledikleri gösterilmiştir (7-9), ayrıca ateroskleroz

oluşumunda ve diğer kronik inflamatuvar olaylara aracılık ettikleri düşünülmektedir (10). Fosfatidilkolin tüm lipoproteinlerin yüzey tabakasının başlıca fosfolipididir. Apolipoproteinlerin fosfolipidlerle etkileşimi, lipoproteinlerin sentezi, stabilizasyonu ve apolipoproteinlerin fonksiyonlarının düzenlenmesi için gereklidir (11). Fosfatidilkolin, VLDL ve normal apo B100 salınımı için gereklidir (12). Ayrıca VLDL trigliseridlerinin yağ asitlerinin önemli bir kısmı, fosfolipidlerin deasilasyonu ile oluşmaktadır. HDL ve öncül HDL partikülleri farklı oranlarda sfingomyelin ve fosfatidilkolin içermektedirler (13). Fosfolipidler lipoproteinler arasında devamlı olarak yer değiştirmekte ve lipoproteinlerin yeniden şekillendirilmesinde ve fonksiyonlarını yürütebilmelerini mümkün kılmaktadır.

TEKHARF Çalışmasının 2003 yılı takibinde 452 Türk yetişkinlerinde hatta son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ilk defa serum fosfolipid düzeyleri ölçülmüş ve koroner kalp hastalığı (KKH), metabolik sendrom (MS)

ve diğer risk parametreleriyle ilişkisi araştırılmıştır. Serumda total fosfolipidleri ölçmemizin başlıca nedenleri arasında fosfolipidlerin HDL partiküllerinde miktarca kolesterolden daha fazla bulunması, ters kolesterol transportundaki önemi, lipoprotein metabolizmasındaki başlıca enzimlerin substratları olmaları ve trigliserid ve kolesterol esterlerine oranla lipoproteinler arasında önemli düzeylerde değiş tokuşlarıdır. HDL düzeylerinin düşüklüğü ile bilinen Türklere, total fosfolipid düzeylerinin incelenmesi lipoprotein metabolizmasına farklı bir açıdan bakış olarak değerlendirilebilir.

YÖNTEMLER

Ölçümler ve tanımlar

Kan katılımcılardan 10 saatlik açlık sonrasında sabah alındı. Venöz kan alındıktan sonra bir saat içinde 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edilip serum ayrıldı. Örnekler aynı gün buz kalıpları ve kutularıyla kargoyla İstanbul'a ulaştırılarak -80°C derin dondurucuya kondu.

Fosfolipid ölçümleri WAKO'nun Phospholipids B kiti ile Hitachi 902 otoanalizöründe enzimatik kolorimetrik metod ile yapılmıştır. Kit serumda fosfatidilkolin, sfingomiyelin ve lizofosfatidilkolini, kolin düzeylerini belirleyerek ölçmektedir. Trigliserid, fosfolipidler, insulin ve Lp(a) ölçümleri sadece postabruptif dönemde muayeneye gelen kişilerde yapıldı. Serumda total kolesterol, trigliseridler, şeker, HDL-K (HDL-K plus 2. jenerasyon direkt-çöktürmesiz ölçüm) Roche kitleri ile, ürik asid (Infinity ürikaz- modifiye Trinder metodu ile enzimatik) ve GGT (Termo Trace-Kinetik) yüksek hassasiyetli C-reaktif protein (hs-CRP), C3c, apo AI, apo B, apo AII, Lp(a) Dade Behring BN Pro Spec nefelometresinde (Behring Diagnostics) ile nefelometrik olarak ölçüldü. İnsülin kemilüminesan immunoassay cihazı ile (Roche Elecsys 1010) ölçüldü. LDL-K, trigliseridi 400 mg/dl altındaki değerler için Friedewald formülüne göre hesaplandı (14). Birinci ve II. kademe kontroller için günden-güne ve çalışma-içi varyasyon katsayısı (CV) hesaplandı. Çalışma içi ve günden güne CV değerleri Hitachi otoanalizöründe çalışılan biyokimyasal parametreler için sırasıyla %2.5 ve 3.5'tan küçük, diğer nefelometrik ölçümlerde sırasıyla %2.5 ve %6 dan küçük, insülin için sırasıyla %4.0 ve %6.2'dan küçük bulundu.

Kan basıncı oturur pozisyonda klasik sfingomanometre ile sağ koldan, 3 dakika ara ile yapılan 2 ölçümün ortalaması alınarak saptandı. Bel, kalça çevresi, kilo ve boy ölçümleri yapıldı ve beden kitle indeksi (BKİ) hesaplandı. Boy ayakbağız olarak metre ile ölçüldü, bel çevresi katılımcı ayakta iken ve iç çamaşırı üzerinden hafif ekspirasyon sonrası alt kaburga ile iliyak krista arasındaki mesafenin ortasından, kalça çevresi majör trokanter üzerinden ölçüldü. BKİ vücut ağırlığının (kg) boyun metre olarak karesine bölünmesi ile hesaplandı. Sigara ve alkol kullanımını sınıflandırmada içmeyenler, içip de bırakanlar bir grup, içenler birer grup olarak sınıflandırıldı. Ayda bir veya daha fazla alkol kullanan, alkol kullanıcısı olarak sınıflandırıldı. Fizik aktivite: 1-be-yaz-yaka işçisi, dikiş, nakış, günde 1 km yürüyüş 2-tamirat işçisi, günde 1-2 km yürüyüş, 3-marangoz, yer ve pencere temizliği, kamyon şöförü, 4 km yürüyüş, 4-ağır iş, çiftçilik ve düzenli spor aktivitesi olarak sınıflandırıldı (15). Bireylerin global koroner risk puanı TEKHARF verilerine (16) göre hesaplandı.

Veriler, anket formuna işlenmiş (kişisel öykü), kardiyovasküler sistemin klinik muayenesi, istirahat elektrokardiyogramı (EKG) ile, alınan kan örneklerinde biyokimyasal analizler ile saptandı. KKH teşhisi angina pektoris, EKG Minnesota kodları (17) ve/veya miyokard infarktüsü öyküsü ile kondu (15). Kadınlar arasında, 45 yaşın altındaki herhangi bir yaşta atipik angina KKH teşhisi için yeterli bulunmadı. Kadınlarda izole tipik angina ve erkeklerde atipik angina şüpheli tanı olarak değerlendirildi. Metabolik sendrom tanısı NCEP ATP III kılavuzu (18), diyabet Amerikan Diyabet Derneği (19) kriterlerine göre kondu.

Verilerin Analizi

Sürekli değişkenler için Pearson korelasyon testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için Spearman testi kullanılarak korelasyon analizi yapıldı. Yaş ve diğer araya giren (confounding) parametreler için ayarlanmış KKH olasılık hesapları ve güvenlik aralıkları lojistik regresyon analizi ile hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 9 paket programı kullanılarak yapıldı; p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tablo 1, aynı örnekleme ölçülmüş olan tüm değişkenlerin ortalama düzeylerini yansıtmak-

tadır. Bunun, yaş, kan basıncı ve bireyin global risk puanı gibi koroner risk için en kritik açılardan, 2003 TEKHARF kohortunu temsil ettiği rahatlıkla söylenebilir. Erkek (192.2±32.0 mg/dl) ve kadın (204.9±41.2 mg/dl) ortalama fosfolipid düzeyleri anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0.001$). Çalışma grubununun %11.3'ünde KKH, %45.6'sında ise MS teşhis edildi. MS tanısı konmuş olan 164 kişinin fosfolipid düzeyleri (208.6±39.2 mg/dl), MS tanısı konmamış olanlardan (194.1±36.2 mg/dl) anlamlı olarak yüksek ($p<0.001$) bulundu. KKH olan ve

olmayanlarda ise, fosfolipid düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı. Diyabetik (202.1±40.4 mg/dl), diyabetik olmayan (197.5±35.3 mg/dl) ve bozulmuş açlık şekeri (227.9±63.4 mg/dl) olan grupların fosfolipid düzeyleri ANOVA testi ile birbirinden anlamlı fark sergiledi ($p=0.002$).

Erkek ve kadın fosfolipid düzeylerinin yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2'de sunulmaktadır. Her iki cinsiyette de, giderek artan değerler, 50-59 yaşlardaki zirveden sonra, erkeklerde

Tablo 1. Çalışma popülasyonunun ($n=452$) temel nitelikleri

	Erkek			Kadın			p
	n	ort	SD	n	ort	SD	
Fosfolipid (mg/dl)	198	192.2	32.0	39	204.9	41.2	0.000
Yaş (yıl)	198	52.0	10.1	254	51.7	9.8	-
Bel çevresi (cm)	198	95.1	10.5	254	93.0	12.8	0.052
Beden kitle indeksi (kg/m ²)	198	27.7	4.4	254	30.5	5.8	0.000
Sistolik KB (mmHg)	198	125.9	20.3	254	131.1	21.1	0.009
Diyastolik KB (mmHg)	198	79.6	11.5	254	81.1	10.3	-
Total kolesterol (mg/dl)	198	191.4	34.2	254	198.8	41.2	0.038
HDL-kolesterol (mg/dl)	198	39.5	10.2	254	48.8	13.7	0.000
LDL-kolesterol (mg/dl)	197	118.7	31.8		141.8	34.1	-
Trigliseridler (mg/dl)	197	168.2	89.7	84	166.5	73.3	0.001
Glukoz (mg/dl)	195	102.2	47.3	252	96.6	40.4	-
ApolipoproteinAI (mg/dl)	69	138.5	20.3	77	153.3	27.6	0.000
Apolipoprotein B (mg/dl)	114	112.3	31.0	60	112.2	39.8	0.036
Apo AII	44	31.0	4.7	39	34.9	9.4	0.021
Lipoprotein(a) * (mg/dl)	54	9.1	2.9	61	11.3	2.6	0.048
Kompleman C3 (g/L)	162	1.26	0.24	227	1.29	0.25	-
C-reaktif protein * (mg/L)	99	2.0	3.2	85	2.2	3.0	-
İnsülin (mIU/L)*	75	9.2	1.8	77	9.5	1.8	-
Ürik asid (mg/dl)	194	5.9	1.3	245	4.6	1.3	0.000
Gama GT (U/L)*	70	29.2	1.7	60	20.8	1.8	0.000
Fibrinojen (g/L)	163	3.06	0.98	216	3.3	0.87	0.018
Risk skoru (puan)	198	17.6	6.4	254	16.8	8.6	
Fizik aktivite derecesi	196	2.6	0.8	251	2.2	0.7	0.000
Sigara içen yüzdesi		47.5			13.6		0.000
Sigarayı bırakmış %		21.7			2.4		0.000
Alkol kullanımı %		20.7			0.8		0.000
Metabolik sendrom %		26.8			43.7		0.000

*log-transformasyonlu değerler, HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein, GT: glutamil transferaz, KB: kan basıncı.

trigliserid düzeylerinden alışıktı olduğumuz biçimde, inişe geçmektedir.

Korelasyon analizi bulgularını özetleyen Tablo 3'te, serum fosfolipid düzeyleri ile total kolesterol, apo AII, trigliseridler, LDL-K, kompleman C3, apo B, apoAI ve risk puanı ile güçlü ($r>0.300$) olmak üzere, HDL-K, diyastolik ve sistolik KB, BKİ, metabolik sendrom, bel çevresi, fibrinojen, log CRP, log GGT, glukoz, ürik asid ve log açlık insülini ($r =0.10$ ila 0.25) arasında anlamlı korelasyonların varlığı gözlemlenmektedir. Ters olarak sigara içimi ve fizik aktivite ($r =-0.10$ dolayında) ile anlamlı, yaş ile de sınırda anlamlı korelasyon saptandı.

Çalışma grubumuzda trigliseridlerin risk faktörleri ile olan ilişkilerini fosfolipidlerinki ile karşılaştırmak amacıyla korelasyon analizi yapıldığında, trigliseridler HDL-K ($r=-0.35$) ile ters olmak üzere, bel çevresi ($r=0.31$), log GGT ($r=0.25$), log insülin ($r=0.31$), ürik asid ($r=0.32$), alkol kullanımı ($r=0.095$), kadında yaş ($r=0.20$) ile fosfolipidlerden daha güçlü anlamlı ilişkiler sergiledi. Apo AI, AII ve sigara ile anlamlı ilişki göstermeyen trigliseridler, fibrinojen ile ancak sınırda, KKH riski ve diğer risk parametreleri ile aynı düzeyde anlamlı ilişki göstermekteydi.

Tablo 2. Yaş ve cinsiyete göre Türk halkının fosfolipid ortalama değerleri (mg/dl)

yaş	Erkek-Kadın			Erkek			Kadın		
	n	ort	SD	n	ort	SD	n	Ort	SD
33-39	39	189.7	35.5	14	190.2	25.6	25	189.4	43.2
40-49	174	193.3	34.3	79	191.1	33.0	95	195.1	35.5
50-59	118	211.6	38.2	52	199.9	31.2	66	220.8	40.9
60-69	108	200.3	40.2	46	185.9	32.9	62	211.0	42.0
>70	13	190.6	40.1	7	193.1	29.8	6	187.7	52.7
Toplam	452	199.4	37.9	198	192.2	32.0	254	204.9	41.2

Tablo 3. 452 Türk yetişkininde serum fosfolipid ile 26 risk parametresi arasında Pearson korelasyon katsayıları (r) ve anlamlılıkları (p)

	n	r	p<		n	r	p<
Total kolesterol		0, 665	0, 000	Bel çevresi (cm)		0, 161	0, 001
Apo A-II*	83	0, 663	0, 000	Sistolik KB		0, 154	0, 001
Trigliserid*		0, 499	0, 000	Fibrinogen (g/L)*	379	0, 146	0, 004
LDL-kolesterol		0, 442	0, 000	Log CRP*	426	0, 137	0, 005
Kompleman C3	389	0, 403	0, 000	Log GGT*	439	0, 131	0, 006
Apo B	271	0, 383	0, 000	Glukoz (mg/dl)	447	0, 129	0, 006
Apo A-I	146	0, 314	0, 000	Ürik asid (mg/dl)	439	0, 111	0, 020
Risk skoru		0, 303	0, 000	Log açlık insülini*	383	0, 109	0, 033
HDL-kolesterol		0, 242	0, 000	Sigara içimi*		-0, 111	0, 018
Diyastolik KB		0, 206	0, 000	Fizik aktivite*		-0, 094	0, 047
Beden kitle indeksi (kg/m ²)		0, 186	0, 000	Yaş		0, 091	0, 053
Metabolik sendrom*		0, 180	0, 000	DM*		0, 090	0, 056

aile geliri, alkol içimi, testosteron ile anlamlı ilişki göstermedi

*Spearman katsayıları

Tablo 3. 2003 TEKHARF kohortunda 32 yaşın üzerindeki 452 erkek ve kadında fosfolipidin 19 risk faktörü ile korelasyon katsayısı (r) ve anlamlılık düzeyi (p) (n=452)

		Erkek ve Kadın	
		(r)	p
Total Kolesterol	n=452	0.665	0.000
Apo AII	n=83	0.663	0.000
Trigliserid	n=449	0.499	0.000
LDL-K	n=449	0.442	0.000
C3	n=389	0.403	0.000
Apo B	n=271	0.383	0.000
Apo AI	n=146	0.314	0.000
Risk skoru	n=452	0.303	0.000
HDL-K	n=452	0.242	0.000
BKİ	n=450	0.186	0.000
Metabolik sendrom	n=452	0.180	0.000
Bel çevresi (cm)	n=451	0.161	0.001
Sistolik KB	n=452	0.154	0.001
Fibrinojen	n=379	0.146	0.004
log CRP*	n=426	0.137	0.005
log GGT*	n=439	0.131	0.006
Glukoz	n=447	0.129	0.006
log insulin*	n=383	0.128	0.012
Ürik asid	n=439	0.111	0.020
Sigara*	n=452	-0.111	0.018
Fizik aktivite*	n=452	-0.094	0.047
Yaş	n=452	0.091	0.053

Fosfolipidlerin anlamlı ve bağımsız belirteçleri olarak, 13 risk parametresinin dahil olduğu lineer regresyonda, trigliseridler, LDL-K, HDL-K ve kompleman C3 belirlendi (Tablo 4). Bu analiz ile trigliserid, LDL-K, HDL-K ve C3'ün 1 standart sapmalarına karşılık gelen artışlarının [trigliserid (80 mg/dl), LDL-K (30 mg/dl), HDL-K (12 mg/dl) ve C3 (0.25 g/L)] fosfolipid düzeylerini sırasıyla 22, 16, 13.3 ve 4.5 mg/dl gibi önemli ölçülerde artırmakta olduğu hesaplandı.

Fosfolipidlerin total kolesterol konsantrasyonlarına oranının potansiyel bir aterosjen gösterge olarak korelasyonları incelendi (Tablo 5). Bu oran obezite, trigliserid, kompleman C3 ve fi-

ziksel inaktivite gibi MS'un yakın öğeleri ile ve MS'un kendisiyle anlamlı doğrusal korelasyonlar içindeydi. Ancak, koroner riskin azalmasıyla birlikte giden anlamlı ters korelasyonları da LDL-K, apo B, testosteron, ürik asid ve fibrinojen örneklerinde sergiliyordu.

Lojistik regresyon analizlerinde metabolik sendrom için yaş-ayarlı fosfolipid odds oranı erkekler için 1.013 (%95 1.002;1.023), kadınlar için ise 1.06 (%95 0.999;1.012; p<0.08) olarak bulundu (Tablo 6). Buna göre, fosfolipid düzeyinde 1 standart sapma (36 mg/dl) artışı, MS riskinin 1/3 yükselmesine denk gelmekteydi. Ancak metabolik sendromun beş ögesi modele ilave edildiğinde fosfolipid OO 0.985 (%95 0.970;1.012) ile bir miktar koruyucu boyut kazanıyordu.

Prevalan KKH için yaş-ayarlı fosfolipid erkekte anlamlı çıkmazken, kadında 1.008 odds oranı ile sınırda anlamlı (p<0.12) bir eğilim sergiledi (Tablo 7). Yaş ayarlı trigliserid odds oranı tüm grupta sınırda bir anlamlılıkla (p=0.092) 1.003 olarak bulundu (%95 1.000;1.007).

TARTIŞMA

Araştırmanın gerekçesi

Hücre dışı fosfolipidlerinin tamamı lipoproteinlerin dış yüzeyinde taşınmaktadır. Lipid içeriği en az (%40-48) olan HDL'nin fosfolipid içeriği en yüksektir (%42-51). Lipoproteinlerde fosfa-

Tablo 4. Serum fosfolipidin çokdeğişkenli lineer regresyon da belirleyicileri (n=314)

	ERKEK+KADIN		
	Beta Katsayısı	SE	p
Trigliseridler (mg/dl)	0.591	0.020	0.000
HDL-K (mg/dl)	0.339	0.107	0.000
LDL-K (mg/dl)	0.437	0.042	0.000
C3 (g/L)	0.115	7.125	0.014

Modelde ayrıca yaş, log CRP, log GGT, log insulin, aile geliri, fizik aktivite derecesi, sigara içim durumu, sistolik kan basıncı ve bel girişiyordu. Modelin bütünü anlamlı olup (F=46.7; p=0.000), fosfolipid varyansının %65'ini açıklıyordu

Tablo 5. Serum fosfolipid/ total kolesterol oranı ile 25 risk parametresi arasında Spearman korelasyon katsayıları (r)

	n	r	p<
Apo A-II	83	0,188	0,089
Metabolik sendrom	452	0,164	0,000
Beden kitle indeksi (kg/m ²)	452	0,112	0,017
Trigliserid	452	0,11	0,02
Kompleman C3	389	0,101	0,046
Risk skoru	452	-0,12	0,01
Apo B	271	-0,163	0,007
LDL-kolesterol	452	-0,619	0,000
Fizik aktivite	452	-0,105	0,026
Fibrinojen (g/L)	379	-0,106	0,039
Ürik asid (mg/dl)	439	-0,109	0,022
Testosteron	108	-0,192	0,046
Bel çevresi (cm)	452	0,091	0,054
Sigara içimi	452	-0,091	0,053

Yaş, apo A-I, HDL-kolesterol, sistolik ve diyastolik kan basıncı, Log CRP, log GGT, glukoz, log açlık insülini, aile geliri ve alkol içimi ile anlamlı ilişki göstermedi

tidilkolinin (FK), lizofosfatidilkolinin, sfingomiyelinin toplam fosfolipid ağırlığına oranları sırasıyla %57-80, %3-10, %12-24 arasında değişmektedir (20). Total plazma fosfolipidlerinin %95'i baz olarak kolin içerdiğinden çalışmada kullanılan yöntem uygun ve epidemiyolojik bir çalışma için zahmetsiz ve ekonomiktir. Fosfatidilkolin ve sfingomiyelinin lipoproteinlerin dış katmanında en bol bulunan fosfolipidler olması nedeniyle, adı geçen bu iki fosfolipidle birlikte lizofosfatidilkolini ölçen ve ayrıca ticari olarak var olan yegane kitin kullanılması uygun görüldü.

Fosfatidilkolin, aterosklerozun lezyon hücrelerinin başlıca fosfolipididir; HDL'nin içerdiği sfingomiyelin ise, kolesterole güçlü bağlanması dolayısıyla, HDL'nin iyi bir hücre dışı kolesterol alıcısı olmasına sebep olabilir; ancak sfingomiyelinin aynı zamanda lesitin:kolesterol asil transferaz (LCAT) enzimini baskıladığı bilindiğinden bu iki etki birbirini nötralize edebilir. Sfingomiyelin metaboliti olan seramid aracılı

sinyal iletiminin düz kas hücresi (DKH) proliferasyonu, DKH ve makrofaj apoptozunda rol oynadığı düşünülmektedir (10). Seramid ve lizoFK'nin insanlarda sistemik inflamasyondaki rolü, sepsis ile ilişkili mortalitede öngörücü kuvveti ile gösterilmiştir (4).

Lipoproteinlerdeki fosfolipidlerin çoklu doymamış yağ asitleri, apolipoproteinlerden önce oksidasyona uğramakta ve asil zincirlerinin kırılmasına ve güçlü patofizyolojik etkileri olan bileşiklerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (21). En yaygın ve önemli modifikasyonlar başlıca LDL olmak üzere, diğer lipoprotein fosfolipidlerinin sn-2 pozisyonundaki doymamış yağ asitlerinde olmaktadır (22). Okside fosfolipidler endotel hücrelerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indüklerler (10). LFK'in endotel hücresi adezyon molekülleri ve büyüme faktörlerinin düzenlenmesinde ve makrofaj aktivasyonunda rolleri bulunmaktadır. İnflamasyon, hiperlipidemi, miyokard iskemisindeki öldürücü disritmi gibi hastalıklar da lizofosfatidilkolin düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (23). Okside 1-palmitoil 2-arakidonil fosforilkolinin (Ox-PAPK) anjiyogenez, ateroskleroz, inflamasyon ve yara iyileşmesinde rol alan genleri indüklediği gösterilmiştir (24).

Çalışmamızda kullanılan kit, fosfolipaz D etkisiyle ortaya çıkan kolin düzeylerini ölçmesi nedeniyle, sonuçların fosfolipid oksidasyonundan etkilenmemesi gibi bir avantaj sağlamaktadır. Fakat okside LDL partiküllerinde lizofosfatidilkolin oranı artmakta ve lipoprotein lipid içeriğinin %40'ına varan düzeylere ulaşabilmektedir (25). Bir yandan ölçüm değerlerinin lizofosfatidilkolini içermesi diğer yandan HDL alt gruplarında en yaygın olarak bulunan fosfatidilkolin ve sfingomiyelinini içermesi sonuçları yorumlamakta güçlük yaratabilir.

Literatürde KKH ve metabolik sendromla ilgili epidemiyolojik çalışmalarda total fosfolipid düzeylerinin ölçülmüş olduğu çalışmalara rastlanmamaktadır, ancak serum fosfolipidlerinin yağ

Tablo 6. Metabolik sendrom olasılığı için erişkinlerimizde serum fosfolipid konsantrasyonlarının yaş-ayarlı odds oranı (n=452)

	β katsayısı	SE	OR	%95 Güven aralığı
<i>Erkekler</i>				
Yaş (yıl)	0.034	0.016	1.034	1.002; 1.068
Fosfolipid (mg/dL)	0.013	0.005	1.013	1.002; 1.023
<i>Kadınlar</i>				
Yaş (yıl)	0.056	0.014	1.058	1.029; 1.088
Fosfolipid (mg/dL)	0.006	0.003	1.006	0.999; 1.012

Modele 198 erkek, 254 kadın ve 205 metabolik sendrom vakası giriyordu

Tablo 7. Prevalan koroner kalp hastalığı olasılığı için yetişkinlerimizde serum fosfolipid konsantrasyonlarının yaş-ayarlı odds oranı (n=452)

	β katsayısı	SE	OR	%95 Güven aralığı
<i>Kadınlar</i>				
Yaş (yıl)	0.139	0.029	1.149	1.085; 1.216
Fosfolipid (mg/dL)	0.008	0.025	1.008	0.998; 1.019
<i>Erkekler</i>				
Yaş (yıl)	0.092	0.023	1.096	1.047; 1.148
Fosfolipid (mg/dL)				AD

Modele 198 erkek, 254 kadın ve 51 koroner kalp hastası dahildi

asidi kompozisyonu ve HDL'in fosfatidilkolin ve sfingomiyelin gibi belirli fosfolipidlerinin ölçülmüş olduğu çalışmalar mevcuttur (23). Her fosfolipid türünün değerlerinin ayrı ayrı ölçülmesi ile bu bileşiklerin rolleri hakkında aydınlatıcı bilgiler elde edileceği kuşkusuzdur ancak ileri teknoloji ve yoğun emek gerektirdiğinden epidemiyolojik çalışmalarda uygulanması olanakları zorlamaktadır.

Fosfolipid düzeyleri ile bazı risk parametreleri arasında bugüne kadar TEKHARF çalışmaları içinde en yüksek düzeylerde korelasyonlar saptanmıştır. Apo AII, trigliserid, kolesterol ve apo B ile olan yüksek korelasyonlar, fosfolipidlerin apo AII'ye bağlanması, VLDL sentez ve salınımindaki rolleri (11) nedeni ile beklenen bir bulgudur. C3, CRP ve fibrinojen gibi irflamatuar belirteç ve akut faz reaktanları ile gösterdiği korelasyonların lizofosfatidilkolinden kaynaklan-

ması muhtemeldir. Ayrıca dolaşımdaki lipoproteinler, içerdikleri fosfolipidler aracılığı ile lipopolisakkaridlere bağlanırlar ve etkisizleştirirler (3). Akut inflamasyon ve enfeksiyona konağın cevabı, hipokolesterolemi ve düşük HDL düzeylerine rağmen, düzeyleri sabit tutulan lipoprotein fosfolipidlerinin, bakteriyel lipopolisakkaridlere bağlanmaya ve nötralize etmeye devam etmesi şeklinde olmaktadır.

Fosfolipidlerin KKH ve metabolik sendrom ile ilişkisi

Çalışmamızda serum fosfolipid düzeyleri bir yandan HDL-K ve apo AII ve AI ile, diğer yandan LDL-K, total kolesterol, trigliserid ve metabolik sendrom, kompleman C3, CRP, fibrinojen, kan basıncı, antropometrik ölçütler ve risk puanı ile anlamlı doğrusal, sigara içimi ve fizik aktivite dilimi ile ters ilişki sergilemiştir. Lojistik regresyon analizinde ise KKH için yaş ve cinsiyet ayarlı OO anlamlı bulunmamıştır.

Metabolik sendrom için erkek ve kadınlar lojistik regresyonla ayrı ayrı analiz edildiğinde, yaş ayarlı fosfolipid sadece erkeklerde 1.013'lük odds oranıyla anlamlı bulundu. Tüm lipoprotein ve hücre yüzeylerinde bulunan fosfolipidlerin KKH ve MS riski açısından daha anlamlı sonuçlar verebileceği düşünülmekteydi. Farklı fosfolipid türleri ve fosfolipidlerin okside formlarının olası ters yönlere etkileri, incelenen parametrelere yarılmalı biçimde yansiyabilir. Bu nedenle bir sonraki taramamızda kabilsse fosfolipidlerin HDL fraksiyonunda ölçülerek HDL ve HDL dışı fosfolipid olarak analiz edilmesi, düşük HDL düzeylerine sahip olan Türk halkında KKH riski açısından daha anlamlı sonuçlar ve, ayrıca, HDL partiküllerinin boyutları ile ilgili bilgi verebilir. Aynı örneklemede lojistik

regresyon analizi ile yaş-ayarlı trigliserid odds oranının MS için 1.014, KKH için ise sınırdan anlamlı bulunması, serum fosfolipidlerinin bu açılardan trigliseridlere yakın benzerlik taşıdığını düşündürmektedir.

Anjiyografik olarak KKH tanısı konmuş 55 ve KKH tanısı konmamış 32 menopozdaki kadınla yapılan bir çalışmada, HDL-sfingomiyelinin HDL ilişkili değişkenler arasında KKH varlığı ile en güçlü ilişki ve koroner stenoz sayısı ile anlamlı ve bağımsız ilişki sergileyen tek değişken olduğu gösterilmiştir (2). Sfingomiyelinin antiaterojen rolü, daha önce de HDL sfingomiyelinini ile plazma ters kolesterol transportu ilişkisinin gösterilmesiyle kanıtlanmıştır (26).

Okside fosfolipidlerin kronik inflamatuvar olaylara yol açtığı yaygın olarak kabul edilmektedir ancak hücre ve dokuların bu oksidatif stres sinyallerine karşı antiinflamatuvar ve sitoprotektif reaksiyonlarla cevap verdiği dair bulgular son yıllarda birikmektedir. Ox-PAPK'in endotel hücrelerinde glutasyon sentezini artırdığı ve hem oksijenaz ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (27).

Sonuç olarak, çalışmamızda fosfatidilkolin, sfingomiyelin ve lizofosfatidilkolinden oluşan fosfolipid ölçümlerinin, metabolik sendrom riskine katkıda bulunduğu konusunda, erkeklerde belirgin olmak üzere, erişkinlerimizde anlamlı veri üretilmiştir. Prevalan KKH için kadında yaş-ayarlı olarak sınırdan anlamlı bir eğilim gösteren fosfolipid düzeylerinin daha geniş bir kohortta incelenmesi uygundur. Ayrıca, olanaklar elverdiğinde, HDL fraksiyonunda fosfolipid çalışılması veya, bir çok KKH risk parametresi ile anlamlı ilişkiler sergilediği bildirilen fosfolipid türlerinin ayrı ayrı araştırılması daha aydınlatıcı olmaya adaydır.

Teşekkür: TEKHARF Çalışması 2003 yılı takip taramasına sağladıkları kısmi desteklerinden ötürü, Türk Kardiyoloji Derneği ile Astra-Zeneca, Novartis ve Glaxo-Smith Kline şirketlerine müteşekkirimiz. İstatistik değerlendirmeleri için Dr. Günay Can'a ve

tarama ekibinde yer alan Laborant Mehmet Özmay'a takdirlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Pelikanova T, Kazdova L, Chvojikova S, Base J: Serum phospholipid fatty acid composition and insulin action in type 2 diabetic patients. *Metabolism* 2001; 50:1472-8
2. Horter MJ, Sondermann S, Reinecke H, et al: Associations of HDL phospholipids and paraoxonase activity with coronary heart disease in postmenopausal women. *Acta Physiol Scand* 2002; 176:123-30
3. Kitchens RL, Thompson PA, Mundford RS, O'Keefe GE: Acute inflammation and infection maintain circulating phospholipid levels and enhance lipopolysaccharide binding to plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 2003; 44:2339-48
4. Drobnik W, Liebisch G, Audebert FX, et al: Plasma ceramide and lysophosphatidylcholine inversely correlate with mortality in sepsis patients. *J Lipid Res* 2003;44:754-61
5. Merrill AH, Sandhoff K: Sphingolipids: metabolism and cell signalling. In: Bernardi G, Vance DE, Vance JE (eds) *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes 4*. Baskı. Elsevier, Amsterdam, 2002. p 373-407
6. Cui Z, Houweling M: Phosphatidylcholine and cell death. *Biochim Biophys Acta* 2002 ;1585:87-96
7. Cole AL, Subbanagounder G, Mukhopadhyay S, Berliner JA, Vora DK: Oxidized phospholipid-induced endothelial cell/monocyte interaction is mediated by a cAMP-dependent R-Ras/PI3-kinase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1384-90
8. Hartwich J, Dembinska-Kiec A, Gruca A, et al: Regulation of platelet adhesion by oxidized lipoproteins and oxidized phospholipids. *Platelets* 2002;13:141-51
9. Kadl A, Huber J, Gruber F, Bochkov VN, Binder BR, Leitinger N: Analysis of inflammatory gene induction by oxidized phospholipids in vivo by quantitative real-time RT-PCR in comparison with effects of LPS. *Vasc Pharmacol* 2002; 38:219-27
10. Tabas I: Lipids and atherosclerosis. In: Bernardi G, Vance DE, Vance JE (eds) *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes 4*. Baskı. Elsevier, Amsterdam, 2002. p 573-97
11. Vance JE: Assembly and secretion of Lipoproteins. In: Bernardi G, Vance DE, Vance JE (eds) *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes 4*. Baskı. Elsevier, Amsterdam, 2002. p 505-26
12. Jonas A: Lipoprotein Structure In: Bernardi G, Vance DE, Vance JE (eds) *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes 4*. Baskı. Elsevier, Amsterdam, 2002. p 483-504
13. Fielding CJ, Fielding PE: Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995; 36:211-28

14. Friedewald WT, Levy J, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-509
15. Onat A: Risk factors and cardiovascular disease in Turkey. *Atherosclerosis* 2001; 156:1-10
16. Onat A: Türk yetişkinleri için kullanılmaya elverişli bir koroner risk puanlaması. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2002; 30:604-11
17. Rose G, Blackburn H, Gillum RF, Prineas RJ: Cardiovascular Survey Methods, 2nd edn. Geneva, WHO, 1982; 124-127
18. Executive Summary of the third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285:2486-97
19. American Diabetes Association: Clinical practice recommendations. *Diabetes Care* 1997; 20: S1-S70
20. Subbiah PV: Determination and clinical significance of phospholipids. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH (eds) *Handbook Lipoprotein Testing*. AACC Press Washington 1997; 415-427
21. Prescott SM, Patel KD, Smiley PL, et al: Potential roles for oxidized phospholipids in inflammation and atherogenesis. In: Weber PC, Leaf A (eds) *Atherosclerosis Reviews Atherosclerosis: Cellular Interactions, Growth Factors, and Lipids*. Raven Press, New York. 1993 p 59-68
22. Witztum JL, Berliner JA: Polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease. *Bailleres Clin Endocrinol Metab* 1990; 4:877-94
23. Schriewer H, Schulte H, Assmann G: HDL phosphatidyl choline and risk-factors of coronary heart disease. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984;22:515-21
24. Reddy ST, Grijalva V, Ng C, et al: Identification of genes induced by oxidized phospholipids in human aortic endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 2002;38:211-8
25. Meyer DF, Nealis AS, Macphee CH, et al: Time-course studies by synchrotron X-ray solution scattering of the structure of human low-density lipoprotein during Cu(2+)-induced oxidation in relation to changes in lipid composition. *Biochem J* 1996;319 :217-27
26. Stein O, Oette K, Haratz D, Halperin G, Stein Y: Sphingomyelin liposomes with defined fatty acids: metabolism and effects on reverse cholesterol transport. *Biochim Biophys Acta* 1988; 960:322-33
27. Leitinger N: Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:421-30