

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SAĞLIKLİ ADOLESANLARDA BİLİRUBİN DÜZEYLERİYLE,
OKSİDE LDL DÜZEYLERİ, METABOLİK, İNFLAMATUAR
PARAMETRELER VE KAROTİS İNTİMA MEDİA KALINLIĞI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Ağgöl CANİK

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2017

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SAĞLIKLİ ADOLESANLARDA BİLİRUBİN DÜZEYLERİYLE,
OKSİDE LDL DÜZEYLERİ, METABOLİK, İNFLAMATUAR
PARAMETRELER VE KAROTİS İNTİMA MEDIA KALINLIĞI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Ağgöl CANİK

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Özkan ALATAŞ

ESKİŞEHİR

2017

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**T.C.****ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ****TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

Dr. Ağgöl CANİK'e ait "Sağlıklı Adolesanlarda Bilirubin Düzeyleriyle Okside LDL Düzeyleri, Metabolik, İnflamatuvar Parametreler Ve Karotis İntima Media Kalınlığı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Güngör KANBAK

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Özkan ALATAŞ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Tülay KÖKEN

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr.Hasan GÖNEN

Rektör

Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince derin bilgi ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan değerli hocalarıma; başta tez danışmanım Prof. Dr. Özkan ALATAŞ'a, Prof. Dr. Güngör KANBAK'a, Prof. Dr. Sema USLU'ya, Yrd. Doç. Dr. Fahrettin AKYÜZ'e, Yrd. Doç. Dr. Zeynep KÜSKÜ KİRAZ'a; laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Arş. Gör. Betül CAN'a ve sağlık teknikeri Zeliha ÇİÇEK'e, istatistiksel analizlerde desteği için Arş. Gör. Ahmet MUSMUL'a sonsuz teşekkürler.

ÖZET

Canik, A. Sağlıklı Adolesanlarda Bilirubin Düzeyleriyle; Okside LDL Düzeyleri, Metabolik, İnflamatuar Parametreler Ve Karotis İntima Media Kalınlığı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2017. Bilirubin antioksidan, antiinflamatuvar özelliklerinin olduğu ve kardiyovasküler hastalıkların (KVH) en önemli nedeni olan ateroskleroz gelişim riskini azaltabileceği birçok çalışmada belirtilmiş olup çalışmamızda serum bilirubin düzeyleri ile ateroskleroz ile ilişkili bazı kardiyometabolik parametreler ve aterosklerozun öngörücüsü karotis intima media kalınlığı (KİMK) arasındaki ilişkinin çocuklarda incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 14-17 yaş aralığında 250 sağlıklı çocuk alınmıştır. Laboratuvar testleri olarak total bilirubin (TB), direkt bilirubin (DB), okside düşük yoğunluklu lipoprotein (Oks-LDL), hsCRP (yüksek duyarlılık C-reaktif protein), tümör nekrozis faktör alfa (TNF α), lipid profili, insulin düzeyleri çalışılmış, direkt bilirubin (DB), yüksek dansiteli lipoprotein dışı kolesterol (non-HDL-K) düzeyleri ve insulin direnci göstergesi olan Homeostasis Model Of Assessment-İnsülin Resistance (HOMA-IR), apolipoprotein B/apolipoprotein A1 (Apo B/Apo A1) değerleri hesaplanmıştır. Çalışma kriterlerine uyan 226 çocuğun bilirubin düzeyleri ile bahsedilen parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. Bilirubin düzeyleri ile KİMK arasındaki ilişki ise 145 çocukta incelenmiştir. TB düzeylerinin hsCRP, trigliserit (TG), yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (LDL-K), non-HDL-K, Apo B, insulin düzeyleri ve Apo B/Apo A1, HOMA-IR değerleri ile arasında anlamlı negatif yönde ilişki, düşük dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) düzeyi ve sistolik kan basıncı (SKB) değeri arasında ise anlamlı pozitif yönde ilişki olduğu saptanmıştır. Oks-LDL, TNF α , glukoz düzeyleri ile arasında ise bir ilişki bulunmamıştır. TB, DB, İB düzeyleri ile KİMK arasında da anlamlı ilişki görülmemiştir. Çalışmamızda bilirubin ile KVH gelişimi açısından önemli birçok parametre arasında anlamlı ilişki bulunmuş olup bu konunun aydınlatılması için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bilirubin, Antioksidan, Ateroskleroz, Karotis İntima Media Kalınlığı Kardiyometabolik Parametreler

ABSTRACT

Canik, A. Evaluation Of The Relationship Between Bilirubin Levels And Oxidized Low Density Lipoprotein Levels, Metabolic, İnflammatory Parameters, Carotid İntima Media Thickness İn Healthy Adolescents. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine Medical Biochemistry Department, Thesis for Specialty in Medicine, Eskisehir, 2017. Many studies have demonstrated that bilirubin has also antioxidant and antiinflammatory characteristics that could reduce the risk of developing atherosclerosis, which is also the most common cause of cardiovascular diseases (CVD). The aim of this study is to evaluate the relationship between bilirubin levels and cardiometabolic parameters that associated with atherosclerosis and carotid intima media thickness (CIMT) which is predictor of atherosclerosis in children. 250 healthy adolescents, aged between 14-17 years were included in the study. As laboratory tests; serum total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB) , oxidized low density lipoprotein (Ox- LDL), high sensitivity C-reactive Protein (hsCRP), tumor necrosis factor alpha (TNF α), lipid profile, insulin levels were performed. Direct bilirubin (DB), non-high density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) levels and the indicator of insulin resistance (HOMA-IR)", apolipoprotein B/apolipoprotein A1 (apo B/apo A1) values were calculated. The relationship between bilirubin levels and parameters mentioned above were evaluated in 226 children who meet the criteria for study participation. The relationship between bilirubin levels and CIMT were evaluated in 145 children. The results of our study show that TB levels were negatively correlated with hsCRP, TG, low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), non-HDL-C, apo B, insulin levels and apoB/apo A1 ratio, HOMA-IR values. TB levels were positively correlated with HDL-C and systolic blood pressure (SBP). There was no significant relationship between TB levels and ox-LDL, TNF α , glucose, total cholesterol (TC), apo A1. Also no significant relationship was found between TB, DB, IB levels and CIMT. In our study, it was observed that bilirubin levels were significantly correlated with some important parameters playing important role in the development of atherosclerosis, and it was suggested that more studies were needed to clarify this issue.

Key Words: Bilirubin, Antioxidant, Atherosclerosis, Cardiometabolic Parameters, Carotid İntima Media Thicknes

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bilirubin Sentezi Ve Metabolizması	3
2.2. Bilirubin Kimyasal Yapısı	6
2.3. Hem Oksijenaz Enzim Sistemi	7
2.4. Bilirubin Biyolojik Etkileri	8
2.4.1. Bilirubin Antioksidan Özelliği	8
2.4.2. Bilirubin Antiinflamatuvar Özelliği	10
2.4.3. Bilirubin Metabolik Parametreler İle İlişkisi	11
2.5. Ateroskleroz	15
2.5.1. Aterosklerozun Morfolojik Özellikleri	15
2.5.2. Ateroskleroz Patogenezi Ve Yağlı Çizgilenme Oluşumu	18
2.5.3. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri	19
2.6. LDL Oksidasyonu	21
2.7. Karotis İntima Media Kalınlığı Ve Ölçümü	23
2.8. Çocuklarda Ateroskleroz	25

	Sayfa
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Boy ve Ağırlık Ölçümü	27
3.2. Kan Basıncı Ölçümü	27
3.3. Kan Örneklerinin Toplanması	28
3.4. Laboratuvar Çalışmaları	28
3.4.1. Total Bilirubin Ölçümü	29
3.4.2. Direkt Bilirubin Ölçümü	29
3.4.3. hsCRP Ölçümü	29
3.4.4. Trigliserit Ölçümü	29
3.4.5. Total Kolesterol Ölçümü	30
3.4.6. LDL-K Ölçümü	30
3.4.7. HDL-K Ölçümü	30
3.4.8. Apo A1 Ölçümü	31
3.4.9. Apo B Ölçümü	31
3.4.10. Glukoz Ölçümü	31
3.4.11. İnsulin Ölçümü	31
3.4.12. ALT Ölçümü	32
3.4.13. AST Ölçümü	32
3.4.14. TNF- α Ölçümü	32
3.4.15. Okside LDL Ölçümü	32
3.5. Karotis İntima-Media Kalınlığı Ölçümü	33
3.6. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABCA1	ATP Bağlayıcı Kaset Proteini-1
AHA	Amerikan Kalp Birliği
Apo A1	Apolipoprotein A1
Apo B	Apolipoprotein B
Apo C-III	Apolipoprotein C-III
CO	Karbonmonoksit
DB	Direkt Bilirubin
DKB	Diyastolik Kan Basıncı
DM	Diabetes Mellitus
GS	Gilbert Sendromu
HDL-K	Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
HO	Hem Oksijenaz
HOMA-IR	Homeostasis Model Of Assessment-İnsülin Resistance
hs CRP	Yüksek Duyarlılıklı C Reaktif Protein
ICAM 1	Hücreler Arası Adezyon Molekülü 1
IDL	Ara Dansiteli Lipoprotein
İB	İndirekt Bilirubin
KAH	Koroner Arter Hastalığı
kg/m ²	Kilogram/metrekare
KİMK	Karotis İntima Media Kalınlığı
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
KVH	Kardiyovasküler Hastalıklar
LCAT	Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz
LDL-K	Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein 1
mg/dL	Miligram/desilitre
mm	Milimetre
MM-LDL	Minimal Modifiye Düşük Dansiteli Lipoprotein
MS	Metabolik Sendrom
uU/mL	Mikroünite/mililitre
Non HDL-K	Yüksek Dansiteli Lipoprotein Dışı Kolesterol

ng/mL	Nanogram/mililitre
Oks-LDL	Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PDAY	Gençlerde Aterosklerozun Patobiyolojik Belirleyicileri
pg/mL	Pikogram/mililitre
PPAR γ	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör Gama
SREBP-1	Sterol Düzenleyici Element Bağlayan Protein-1
SKB	Sistolik Kan Basıncı
TB	Total Bilirubin
TG	Trigliserit
TK	Total Kolesterol
U/L	Ünite/Litre
UCB	Uncojugated Billirubin (Ankonjuge Bilirubin)
UDPGT	Uridildifosfat Glukuronil Transferaz
VCAM-1	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
VKİ	Vücut Kitle İndeksi

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Hem Molekülünün Katabolizması Ve Bilirubin Oluşumu	4
2.2. Bilirubin Metabolizması	6
2.3. Bilirubin IXa 4Z, 15Z'nin Kimyasal Yapısı	7
2.4. Arter Duvarının Yapısı	16
2.5. Aterosklerotik Lezyonların İleri Tiplerinin Tanımı Ve Aterosklerozun Sınıflandırılması	18
2.6. Oksidatif Modifikasyon Hipotezi	21
2.7. Karotis Kommunis Artere Ait İntima- Media Kompleksinin Radyolojik Görüntüsü	24

TABLOLAR

	Sayfa
4.1. Çalışmaya katılan tüm çocukların demografik ve antropometrik değerleri	35
4.2. Çalışmaya katılan tüm çocukların laboratuvar değerleri	37
4.3. TB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki	38
4.4. TB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki	40
4.5. DB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki	41
4.6. DB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki	42
4.7. İB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki	43
4.8. İB düzeyleri ile ölçülen laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki	44
4.9. KİMK'sı ölçülen çocukların demografik ve antropometrik değerleri	45
4.10. KİMK'sı ölçülen çocukların laboratuvar değerleri	46
4.11. KİMK'sı ölçülen çocukların TB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki	47
4.12. KİMK'sı ölçülen çocukların DB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki	47
4.13. KİMK'sı ölçülen çocukların İB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki	48
4.14. KİMK'sı ölçülen çocukların TB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki	49
4.15. KİMK'sı ölçülen çocukların DB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki	50
4.16. KİMK'sı ölçülen çocukların İB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki	51
4.17. Total bilirubin düzeyleri ile KİMK kalınlığı arasındaki ilişki	52
4.18. Direkt bilirubin düzeyleri İle KİMK kalınlığı arasındaki ilişki	52
4.19. İndirekt bilirubin düzeyleri ile KİMK kalınlığı arasındaki ilişki	52

1. GİRİŞ

Hem metabolizması sonucu oluşan ve karaciğer fonksiyonun değerlendirilmesinde kullanılan bilirubinin sadece atık bir ürün olmayıp antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin olduğu in vitro ve in vivo çalışmalarla gösterilmiştir (1). Bilirubinin kardiyovasküler hastalıklara yol açan aterosklerozun patogenezinde önemli rol oynayan LDL oksidasyonunu vitamin E analogu olan Troloxan 20 kat daha güçlü bir şekilde önlediği belirtilmiştir (2).

Bilirubinin yine aterosklerozda önemli bir basamak olan TNF α aracılığıyla gerçekleşen vasküler hücre adezyon molekülünün (VCAM-1) ve hücrelerarası adezyon molekülünün (ICAM-1) endoteliyal hücrelerdeki ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (3). Ayrıca bilirubin düzeyleri ile hsCRP düzeyleri arasında negatif yönde ilişki olduğu görülmüş (4-6), bilirubinin antioksidan etkiler dışında, antiinflamatuvar etkiler göstererek de ateroskleroz gelişimini önleyebileceği belirtilmiştir (7).

Konjenital bir hastalık olan ve orta düzeyde ankonjuge bilirubin (UCB) yüksekliği ile giden Gilbert sendromlu (GS) kişilerin daha düşük TK, TG, LDL-K konsantrasyonuna ve Apo B/Apo A1 değerine sahip oldukları belirtilmiş (8), bu kişilerin kardiyovasküler hastalık risklerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (9).

Artmış kardiyovasküler riskle doğrudan ilişkili olan ve ateroskleroz yaygınlığının invaziv olmayan bir belirteci sayılan karotis intima media kalınlığı ile serum bilirubin düzeyleri arasında da negatif yönde ilişki olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (10-12).

Sadece kardiyovasküler hastalıklar için riskli gruplarda değil sağlıklı yetişkinlerde de karotis intima media kalınlığı ile bilirubin arasında negatif yönde ilişki olduğu gösterilmiştir (13). Çalışmalarda bilirubinin KVH riskini arttıran diabetes mellitus (DM), metabolik sendrom (MS) gibi hastalıklara karşı da koruyucu olabileceği belirtilmiştir (14). Çocuklarda da buna benzer sonuçlara sahip çalışmalar bulunmakta olup, bu hastalıklarda gözlenen artmış HOMA-IR ve insülin seviyeleri ile düşük bilirubin düzeyleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (15).

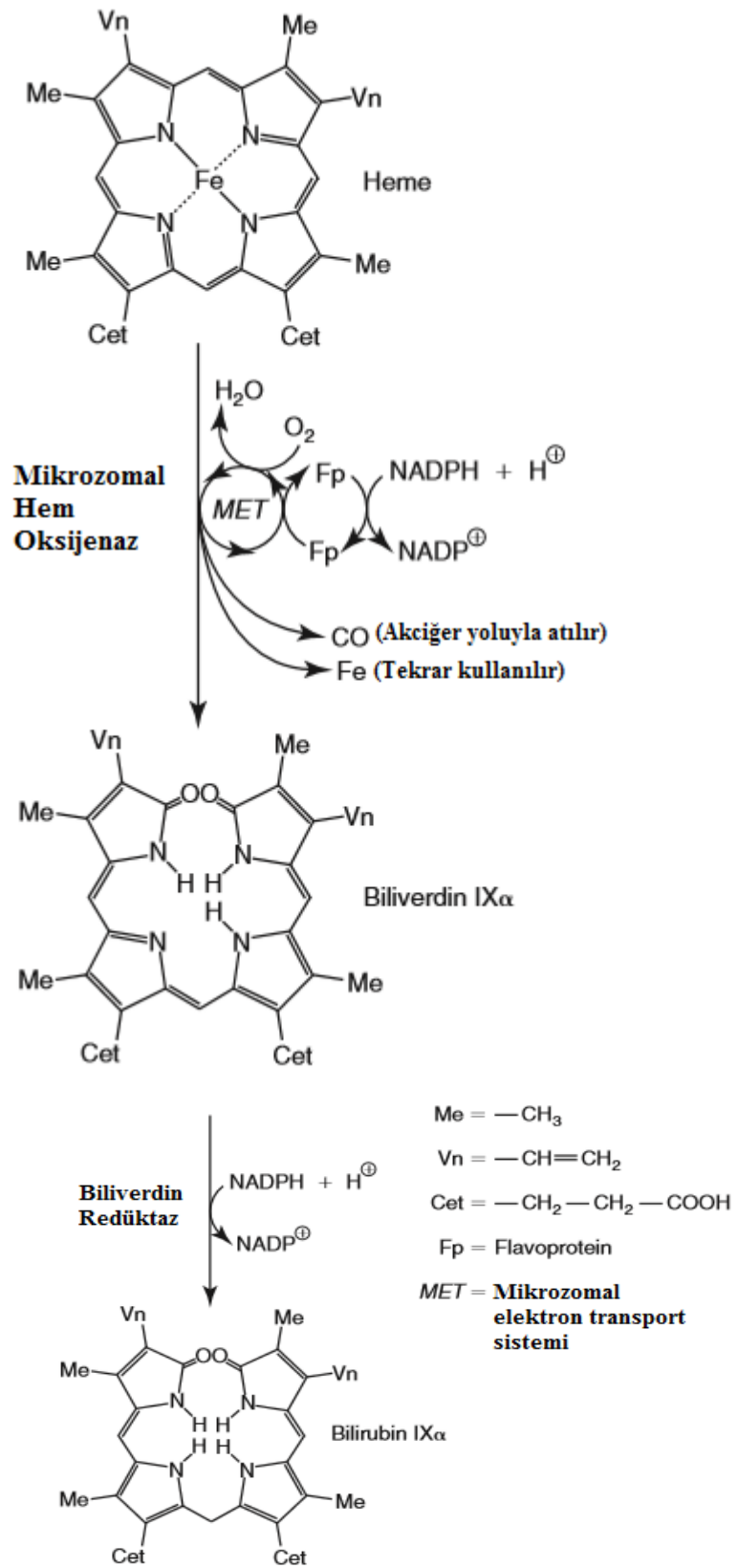
Ateroskleroz ile ilişkili hastalıklar sıklıkla erişkin dönemde bulgu vermekle birlikte aterosklerozun erken çocukluk döneminde başladığı bilinmektedir (16).

Yetişkinlerde bilirubinun ateroskleroz ile ilişkili parametrelerle ilişkisinin incelendiği daha fazla çalışma olmakla birlikte çocuklarda yok denecek kadar azdır. Bu nedenle çalışmamızda sağlıklı çocuklarda bilirubin düzeyleriyle oksidatif, inflamatuvar, metabolik parametreler ve erken dönem aterosklerotik değişikliklerin bir göstergesi olan KİMİK arasındaki ilişkinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bilirubin Sentezi Ve Metabolizması

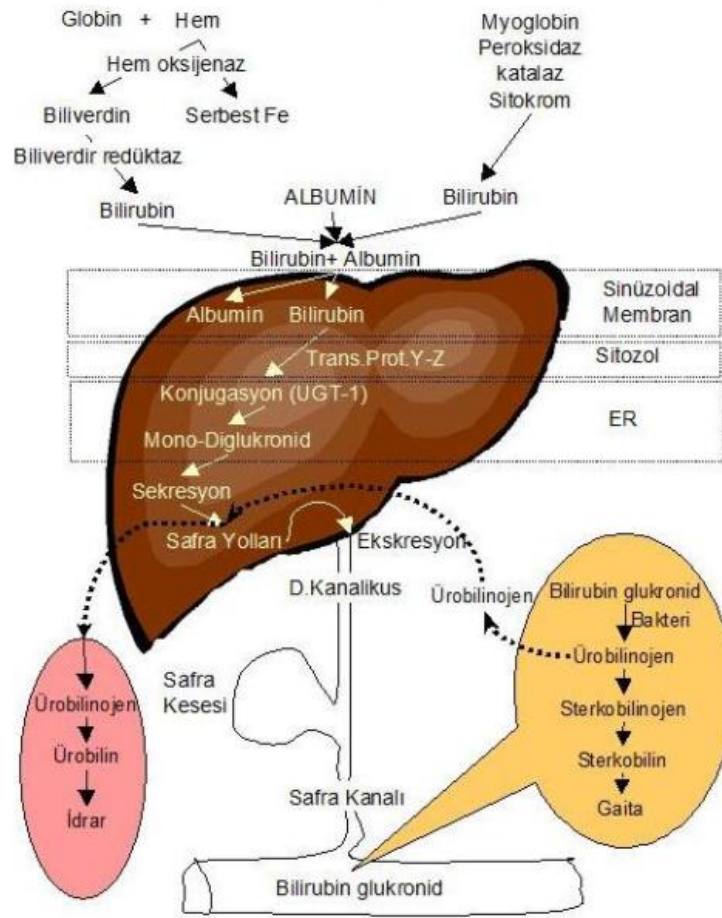
Bilirubin yaklaşık %75'i dalak, karaciğer ve kemik iliğinin retikuloendoteliyal sisteminde (RES) yaşlı eritrositlerin yıkılmasıyla açığa çıkan hemoglobinin hem (demir protoporfirin IX) kısmından meydana gelir. Geri kalan %25'lik kısmı ise miyoglobin, katalaz, peroksidaz, sitokrom gibi hem içeren proteinlerin yıkılması sonucu oluşur (17). Eritrositlerin RES'de yıkılmasıyla açığa çıkan hemoglobin önce hem ve globulin şeklinde katabolize edilir. Ortaya çıkan globulin aminoasit havuzuna katılırken, hem bir dizi enzimatik reaksiyonla yıkılır. Hem ortasında demir (Fe) atomu içeren siklik bir tetrapirrol bileşimidir. Bilirubin sentezinin ilk basamağı olan hemin hem oksijenaz (HO) enzimi tarafından biliverdine oksitlenmesi, aynı zamanda hız kısıtlayıcı basamaktır. Bu basamakta hemin alfa metilen bağı açılarak karbonmonoksit (CO) ve demir açığa çıkar ve hemin siklik moleküler yapısı lineer tetrapirrol (biliverdin IXa) halini alır. Serbest kalan demirin büyük kısmı demir bağlayıcı proteinlere (transferin) bağlanırken, bir kısmı da yeniden hem sentezine girer. Bu reaksiyonun gerçekleşebilmesi için oksijen (O₂) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat dehidrogenaza (NADPH) ihtiyaç duyulur. Oluşan biliverdinden biliverdin redüktaz katalizörlüğünde NADPH ile birlikte bilirubin meydana gelir (18-20). UCB adı verilen bu bilirubin formu suda çok az çözüldüğünden plazmada güçlü bir şekilde albumine bağlı olarak bulunur ve konjuge olmak üzere karaciğere taşınır. Hem molekülünün katabolizması ve bilirubin oluşumu Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Hem Molekülünün Katabolizması Ve Bilirubin Oluşumu(21).

Bilirubinun karaciğer hücresine girmesi kısmen pasif olarak kısmen de organik anyon taşıyıcı proteinler aracılığıyla gerçekleşir. Hepatositlerin sitoplazması içinde UCB'nin çok büyük bir bölümü glutatyon S transferaz A'ya (Ligandin), küçük bir bölümü ise yağ asidi bağlayıcı proteine (Z proteini) bağlanır ve endoplazmik retikulumuna taşınır (22, 23).

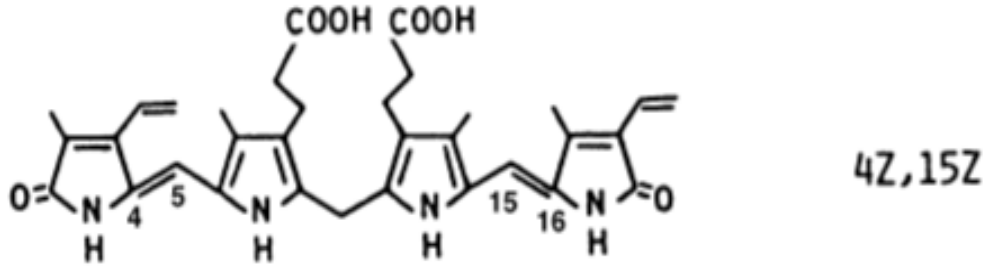
UCB, endoplazmik retikulumda UGT1A1 geni tarafından kodlanan uridildifosfat glukuronil transferaz (UDPGT) enzimi aracılığıyla konjuge olur (24). Glukuronik asit ile bilirubinun propiyonik asidinin karboksil (COOH) grupları arasında ester bağı oluşmasıyla bilirubin monoglukuronid veya bilirubin diglukuronid meydana gelir. Esterifikasyon sonucu molekül içi hidrojen bağları bozulur ve oluşan konjuge bilirubinler suda çözünür hale gelir. Hepatositlerde oluşan bilirubin konjugatları konsantrasyon gradyanına karşı ATP bağlayan kaset taşıyıcı protein ailesinden çoklu ilaç direnci ilişkili protein-2 (MRP2) aracılığıyla safra içinde barsağa atılır (22). Barsağa geçen bilirubin enterik bakterilerin β -glukuronidaz enzimi etkisiyle dekonjugasyona uğrar ve bakteriyel reduktazlar aracılığı ile indirgenerek renksiz bir bileşik olan ürobilinojene dönüşür. Ürobilinojenin çok büyük miktarı (1.0- 3.5 mg /gün) okside olarak dışkıya rengini veren ürobilin ve sterkobiline dönüşür. Çok az miktarda geri emilerek portal ven ile karaciğere taşınan ürobilinojenin büyük kısmı, safra yoluyla tekrar barsağa geçerken (enterohepatik dolaşım) çok az bir kısmı (1.7- 5.9 umol / gün) genel dolaşıma katılarak idrar ile vücuttan uzaklaştırılır (25). Bilirubin metabolizması Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Bilirubin Metabolizması (26)

2.2. Bilirubin Kimyasal Yapısı

Bilirubin, üç tek karbon köprüsüyle birbirine bağlanmış dört pirol halkasından oluşur. Ortadaki karbon köprüsü, orta 2 pirol halkasına tek olarak bağlanır, yanlardaki 2 karbon köprüsü ise diğer iki pirol halkasına çift bağla bağlanır. Bu çift bağlarda 2 farklı konfigürasyon olabilir. Bunlardan birine Z (Almanca zusammen = beraber), diğerine E (Almanca entgegen = karşılıklı) denir (26). 4.-5. ve 15.-16. karbon atomları arasında yer alan çift bağlar yapıya Z-Z konformasyon olarak tanımlanan trans özellik kazandırmaktadır. Memelilerdeki ana form UCB IX 4Z, 15Z molekülüdür. Bu molekülde tüm hidrofilik gruplar hidrojen bağları ile bağlıdır ve bu durum moleküle hidrofobik özellik kazandırır (22). Bilirubin IXa 4Z, 15Z'nin kimyasal yapısı Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Bilirubin IXa 4Z, 15Z'nin kimyasal yapısı (22)

Bilirubin dolaşımında 4 değişik formda bulunabilir:

1. Albumine bağlı konjuge olmamış bilirubin
2. Albumine bağlı olmayan konjuge olmamış, serbest bilirubin
3. Mono diglukuronid ve diglukuronid formundaki konjuge bilirubin
4. Delta bilirubin olarak bilinen albumine kovalent bağlı konjuge bilirubin (27).

Fizyolojik koşullar altında, konjuge olmamış bilirubinün albumine bağlı hali bilirubinün dolaşımında bulunan en baskın formudur (28). Konjuge bilirubin direkt bilirubin olarak ölçülürken; albumine bağlı ve serbest olan konjuge olmamış bilirubinün tamamı indirekt bilirubin olarak ölçülür (29).

2.3. Hem Oksijenaz Enzim Sistemi

HO enzimi hemin yıkımında hız sınırlayıcı basamağı katalize ederek ekimolar miktarlarda biliverdin, demir ve karbon monoksit (CO) açığa çıkarır. HO enziminin HO1, HO2 ve HO3 olmak üzere 3 farklı izoformu bulunmaktadır(30). HO'nun indüklenebilir izoformu olan HO-1, özellikle yaşlanmış eritrositlerin parçalandığı dalak ile karaciğer ve kemik iliğinin retikuloendoteliyal hücrelerinde yüksek oranda bulunur (31).

HO-1 başlıca hem molekülü, ağır metaller, reaktif oksijen molekülleri, inflamatuvar moleküller, okside LDL ve hipoksi ile indüklenebilmektedir (32) Bu enzimin ekspresyonunun hücrenin stres durumunu gösteren bir biyolojik belirteç olduğu kabul edilmiştir(33)

HO-2 bazal koşullar altında testisler, dalak, karaciğer, böbrek ve kardiyovasküler ve sinir sistemindeki birçok dokuda eksprese olmaktadır ve

genellikle HO-1'i indükleyen etkenlere tepki vermez. HO-3 ise en az katalitik aktivite gösteren izoformdur (30).

Bilirubin oluşumunda rol alan HO' nun katalizlediği reaksiyon aracılığıyla bilirubin antiaterojenik ve kardiyoprotektif etkilerine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. Örneğin HO-1 enzimi ile hem molekülünün tüketilmesinin hemin neden olduğu hücre hasarını azalttığı, CO'nun ise vazomotor tonusu, platelet agregasyonunu ve düz kas hücrelerinin çoğalmasını regüle etmesi nedeniyle aktif bir vazodilatatör olarak fonksiyon gördüğü belirtilmiştir. Ayrıca hem aracılı HO enzim indüksiyonunun ferritin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiş ve HO aracılı ortaya çıkan demirin ferritin sentezine yönlendirilmesiyle endotel hücrelerinin oksidatif hasardan korunduğu ileri sürülmüştür (32).

2.4. Bilirubin Biyolojik Etkileri

2.4.1. Bilirubin Antioksidan Özelliği

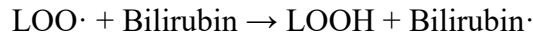
Bilirubin antioksidan özelliklerinin olabileceğine dair ilk görüşler Bernard ve ark. tarafından 1954 yılında yapılan çalışmalarla ortaya atılmıştır. Bu çalışmalarda, az miktarda bilirubin vitamin A'nın otooksidasyonu ile linoleik asit ve diğer doymamış yağ asitlerinin ultraviyole ışığa bağlı oksidasyonunu önlediği gösterilmiştir. Bilirubin tarafından linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu üzerine benzer sonuçlar yıllar sonra, Japon araştırmacılar tarafından da yayınlanmıştır (21).

Daha sonra yapılan birçok araştırma ile bilirubin antioksidan özellikleri birbir ortaya konmuştur. Bilirubin etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu, süperoksit anyonu ile reaksiyona girdiği, hidrojen peroksit veya organik hidroperoksitlerin varlığında peroksidazlar için bir substrat olarak görev aldığı gösterilmiştir (21). Bilirubin ayrıca vasküler dokudaki reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminden esas olarak sorumlu enzim olan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı inhibe ettiği öne sürülmüştür (34).

Hem in vitro hem de in vivo çeşitli deneysel çalışmalarla, bilirubin peroksil radikallerini etkin bir şekilde temizlediği, özellikle LDL kolesterol olmak üzere lipidlerin oksidasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Lipid oksidasyonu ve oksijen radikalleri, arteriyel plak oluşumunda ve aterosklerozda önemli unsurlardır ve kardiyovasküler hastalığın patofizyolojisinde rol alırlar. Bu nedenle bilirubin

aterosklerotik plak oluşumuna ve bunun yol açtığı klinik komplikasyonlara karşı koruyucu olabileceği düşünülmüştür. Neuzil ve Stocker (35), yaptıkları bir çalışmada LDL-kolesterolün oksidasyonu başlangıcında deney ortamına eklenen serbest veya albümine bağlı bilirubinin hidroperoksit oluşumunu ve alfa-tokoferol tüketimini güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmayla da normal veya normal konsantrasyona yakın hem konjuge olmamış hem de konjuge bilirubinin insan LDL-K'sını oksidasyona karşı koruduğuna dair veriler elde edilmiştir (36). Wu ve ark. (2) tarafından UCB'nin LDL oksidasyonunu önlemede bir vitamin E analogu olan Trolox'tan 20 kat daha etkili olduğu gösterilmiştir.

Serbest, albümine bağlı ve konjuge bilirubin formları konjuge çift bağ ve bir çift reaktif hidrojen (H) atomu içermekte olup bilirubin bir başlangıç radikaline H vererek antioksidan aktivite gösterir. Örneğin bilirubinin lipid peroksil radikali (LOO·) ile reaksiyona girmesiyle lipid peroksit (LOOH) ve bilirubin radikali (Bilirubin·) oluşur (37).



10 nmol/L kadar düşük konsantrasyondaki konjuge olmamış bilirubinin nöronal hücreleri 10,000 kat daha yüksek konsantrasyondaki hidrojen peroksitin yarattığı oksidatif stresten koruduğu gösterilmiştir. Bilirubinin devamlı olarak biliverdin redüktaz tarafından rejenere olduğu ve tekrar kullanılmasıyla karakterize biliverdin bilirubin redoks döngüsünün düşük düzeylerde bilirubinin daha yüksek konsantrasyonlardaki reaktif oksijen radikallerine karşı korumada etkili olabileceği belirtilmiştir (38).

Bilirubinin oksidatif stres ile ilişkisi UDPGT enzimi içermeyen, hiperbilirubinemik Gunn rat modelinde de araştırılmıştır. Yenidoğan Gunn ratların kontrol grubuna göre oksidanların etkilerine karşı daha az oksidatif hasar gösterdikleri ve daha düşük düzeyde lipid peroksit, konjuge dien ve karbonil protein gibi oksidasyon ürünlerine sahip olduğu gözlenmiştir (21).

Bilirubinin antioksidan özelliğinin olduğu, konjuge olmamış bilirubin seviyelerinin orta düzeyde yüksekliği ile seyreden Gilbert sendromlu hastalarla yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir. Yeşilova ve ark.nın (39) yaptığı bir çalışmada Gilbert sendromlu hastalarda LDL oksidasyonunun lag fazının sağlıklı kişilerinkine göre uzun olduğu gözlemlenmiştir. Gilbert sendromlu hastalardaki LDL

oksidasyonunda görülen azalmanın, bu hastalardaki düşük KAH prevalansından sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

2.4.2. Bilirubin Antiinflamatuvar Özelliği

Bundan yaklaşık 75 yıl kadar önce, romatoid artritli hastaların geçirdikleri karaciğer hastalığı ve sarılık sonrasında remisyona girmeleri bilirubin anti-inflamatuar etkilerinin olabileceğini akla getirmiştir. Yakın tarihli epidemiyolojik çalışmalarda ise, artmış serum bilirubin düzeyleri; astım, Multipl Skleroz ve Crohn hastalığı gibi inflamasyonla ilişkili hastalıkların insidansındaki azalma ile ilişkilendirilmiştir (40).

Bilirubin antioksidan özelliklerinin yanında olası antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle de kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği düşünülmüştür. Bilirubin aterosklerozda inflamasyonla ilişkili hücre sinyal yollarını etkilediğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Aterosklerotik sürecin erken safhasında endotel hücre aktivasyonu ile adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve inflamatuvar hücrelerin endotel tabakasından arteriyel duvar içine migrasyonu gerçekleşir. Selektinlerden özellikle E selektin ve immünoglobülin süper gen ailesi üyelerinden VCAM-1 ve ICAM-1 ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynayan adezyon molekülleridir. Adezyon moleküllerinin aşırı ekspresyonu, pro-inflamatuar sitokinlerden özellikle TNF- α tarafından düzenlenmektedir. Bilirubin, endotel hücrelerinde TNF- α ile indüklenen E-selektin, VCAM-1 ve ICAM-1'in gen ekspresyon artışını ve polimorfonükleer lökositlerin endotele adezyonunu baskıladığı in vitro olarak gösterilmiştir (41). İnsan aortik endotel hücre kültüründe yapılan bir çalışmada da HO-1 indüksiyonu ve bilirubin üretimi sonucu, VCAM-1, monosit kemotaktik protein-1 ve makrofaj koloni uyarıcı faktörü üretiminin belirgin şekilde zayıfladığı; hücrelerde artmış HO-1 ekspresyonunun ve bilirubin; okside LDL ve TNF- α maruziyeti sonucu zayıflamış endotel nitrik oksit (NO) sentaz ekspresyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (42).

Yükselmiş hs-CRP düzeylerinin kronik inflamasyon ve aterosklerozis için en değerli göstergelerden biri olduğu bilinmekte olup (21) serum bilirubin düzeyleri ile hsCRP düzeyleri arasında da negatif yönde bir ilişki olduğu gösterilmiştir (5, 6, 21).

Yine aterosklerotik süreçte önemli katkısı olduğu düşünülen protein kinaz C aktivitesinin bilirubin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (21).

Bilirubinun ayrıca antikomplementer özelliklerinin olduğu, klasik yolda kompleman aktivasyonunun ilk basamağı olan C1q ile immunglobulinler arasındaki etkileşimi engellediği belirtilmiştir (43).

2.4.3. Bilirubin Metabolik Parametreler İle İlişkisi

Yetişkinlerde yapılan çalışmalarda, düşük serum bilirubin düzeylerinin metabolik sendrom, diyabet ve hipertansiyon gibi hastalıklar ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (14).

Çocuk ve adolesanlarda yapılan bir çalışmada da metabolik sendrom prevalansı ile bilirubin düzeyleri arasında zıt yönlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir(15).

Metabolik sendrom, KVH gelişimine yol açabilen ve metabolik kökenli risk faktörlerinin kombinasyonunu içeren, kompleks bir bozukluk olup başlamasında ve ilerlemesinde kronik inflamasyon, insülin direnci ve oksidatif stres gibi faktörler önemli rol oynar (44, 45). Çocuklarda metabolik sendrom ile ilgili olarak değişik araştırma grupları tarafından farklı tanımlamalarda bulunulmuştur. Bu tanımlamalar içerisinde metabolik sendromun bileşenleri olarak obezitenin bir parçası olan VKİ ve bel çevresi, dislipidemisinin bir parçası olarak yüksek TG ve düşük HDL-K düzeyleri, yükselmiş kan basıncı ve glukoz metabolizmasının bir göstergesi olan bozulmuş açlık glukoz toleransı ya da bozulmuş açlık insülin düzeyleri yer almaktadır (46).

Bilirubinun KVH gibi metabolik sendrom, DM'ye karşı olası koruyucu rolü araştırılırken bunlarla bağlantılı birçok metabolik parametre ile arasındaki ilişki de incelenmiştir.

Çocuk ve adolesanlarda yapılan bir çalışmada düşük serum bilirubin düzeylerinin artmış insülin seviyeleri ve insülin direnci ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (15). İnsülin glukoz, yağ ve protein metabolizması ile normal büyüme ve gelişmede rol alan bir hormondur (47).

İnsülin, iskelet kası ve yağ dokusu gibi dokularda glukoz taşıyıcısı GLUT4 aracılığıyla hücre içine glukoz alımını sağlarken (48), karaciğerde glikoneogenezi, adipoz dokuda ise lipolizi baskılar (49, 50). Bunların dışında glikojen sentezini ve glikolizi stimüle etme gibi metabolik etkileri bulunmaktadır (51). Pankreasın beta hücrelerinden sentezlenip dolaşıma katılan insülin hedef dokulara ulaşarak bu

dokuların hücre yüzeyinde bulunan reseptörüne bağlanır ve ilgili post reseptör sinyal yolağını aktifleştirerek etkisini gösterir. Bu basamakların birinde meydana gelen aksama insuline karşı bozulmuş biyolojik yanıtla sonuçlanır ve bu durum insülin direnci olarak tanımlanır (47). İnsülin direnci durumunda kompensatuar olarak insülin düzeyleri artar (50). İnsülin direnci varlığına rağmen artmış pankreatik insülin sekresyonu sayesinde açlık kan glukozu normal seviyede kalır (49). Ancak pankreasın zamanla insülin üretme yeteneğinin azalmasıyla insülinin iskelet kasında ve adipoz dokuda glikoz alımını arttırma, karaciğerde glikoneogenezi, adipoz dokuda ise lipolizi baskılama etkisi de azalarak hiperglisemi ve hiperlipidemi tablosu ortaya çıkar (49, 50). İnsülin direnci birçok klinik tabloya neden olabilirken bunların içinde en yaygın olanları Tip 2 DM ve MS'dir (47).

Tip 2 DM' da sıklıkla görülen insülin direnci, normal glukoz toleransı olan ve diyabetli olmayan bireylerde de görülebilmektedir (49). Örneğin, sağlıklı adolesanlarda pre-pubertal dönemdeki çocuklara göre insülinle uyarılan glikoz alımında azalma olduğu 1980'lerde ortaya konmuştur. Günümüzde puberte dönemiyle ilişkili olarak gelişen bu insülin duyarlılığının insülin sekresyonunda artış ile telafi edildiği bilinmektedir (52).

İnsülin direncinin, kardiyovasküler hastalığın gelişiminde rol oynadığı ve aterosklerotik lipid profili, endotel disfonksiyonu ve artmış tromboz riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (53).

Hayvan çalışmalarında bilirubin ile insülin arasındaki ilişki incelenmiş ve bilirubininsülin üzerindeki etkisinin mekanizmaları ortaya konmaya çalışılmıştır. Bir çalışmada obez farelere sistemik olarak uygulanan bilirubininsülin farelerde insülin sinyal yolağı aktivasyonunu arttırdığı, farelerin kan glukoz düzeylerini ve vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada bilirubininsülin duyarlılığını; yağ dokusu ile karaciğerde endoplazmik retikulum stresini ve inflamasyonu baskılayarak arttırdığı ortaya konmuştur (54). Yine hayvan çalışmalarında bilirubininsülin karaciğerde obezite ve insülin direnci ile ilişkili gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Buna göre obez farelere bilirubin verilmesinin yüksek yağlı diyet nedeniyle karaciğerde azalan insülin reseptör sayısını geriye döndürdüğü, de novo lipogenez için gerekli bir gen olan sterol düzenleyici element bağlayan protein-1 (SREBP-1) ekspresyonunu azalttığı, insülin duyarlılığını arttırıcı etki gösteren peroksizom

proliferatör-aktive reseptör gama (PPAR γ) geninin ekspresyonunu ise arttırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada bilirubin önemli ölçüde leptin düzeylerini azalttığı, hafif düzeyde adipokin düzeylerini arttırdığı gözlenerek bilirubin insülin direnci üzerindeki etkisine bu iki hormonun kısmen aracılık edebileceği belirtilmiştir (55).

Bilirubin serum lipid metabolizması üzerinde de faydalı rolü olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmakta olup, bunların içerisinde serum bilirubin düzeylerinin TG, TK ve LDL-K düzeyi ile negatif yönde, HDL-K düzeyiyle ise pozitif yönde ilişkisinin gösterildiği çalışmalar yer almaktadır (56-58).

Bilirubin ile lipid profili arasındaki ilişkiden ilk kez Breimer ve ark.nın orta yaşlı erkeklerde yaptığı çalışmada bahsedilmiştir (12). Bu çalışmada yüksek bilirubin konsantrasyonuna sahip olan kişilerin TK seviyesinin daha düşük, HDL-K seviyesinin ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bilirubin ile lipidler arasında gözlenen bu ilişkinin bilirubinın ateroprotektif etki göstermesinde önemli olabileceği düşünülmüştür (59).

Lipidlerin ateroskleroz gelişiminde merkezi rol oynadığı bilinmektedir (59). Örneğin plazma TK ve LDL-K seviyelerindeki artışın ateroskleroz ile ilişkili olduğu, bunların plazma seviyelerinin düşürülmesinin ise ateroskleroz riskini azalttığı gösterilmiş, LDL-K yüksekliğinin endotel hasarı ve damar duvarındaki inflamatuvar yanıtı arttırdığı belirtilmiştir (60). HDL tarafından kolesterolün non hepatik hücrelerden karaciğere taşınması olarak bilinen ters kolesterol transportunu sağlaması ya da LDL oksidasyonunu önlemesi ise HDL'nin potansiyel antiaterojenik özelliklerinden birkaçı olup birçok epidemiyolojik ve klinik çalışmada düşük HDL düzeylerinin artan KVH riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (61). Trigliserit yüksekliğinin ateroskleroz patogeneğinde tek başına olmasa da LDL, HDL kompozisyonunu ve metabolizmasını etkileyebilmesi açısından önemli olabileceği belirtilmiştir. Karaciğerde sentezlenen trigliseridi periferik dokulara taşıyan çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL)'in fazla miktarda dolaşıma çıkması halinde kolesterol ester transfer proteinini etkileyerek trigliseritten zengin HDL ve LDL oluşumuna neden olduğu ve hipertrigliseridemik HDL'nin ise disfonksiyonel olabileceği ileri sürülmüştür. Kolesterol ester transfer protein aracılığıyla HDL'den kolesterol esterlerini almış trigliseritten zengin lipoproteinlerin lipoprotein lipaz tarafından kısmi hidrolizi sonucu kalıntı (remnant) lipoproteinler oluşmakta olup

bunların modifiye LDL'ye benzer şekilde aterojenik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca trigliseritten zengin lipoproteinlerin içerdikleri apolipoprotein C-III (ApoC-III) vasıtasıyla endotel ve makrofajlarda proaterojenik yanıtlar doğurabileceği belirtilmiştir (62).

Bilirubin ayrıca Apo A1, Apo B, Apo-B/Apo-A1, non-HDL gibi parametrelerle ilişkisinin incelendiği ve farklı sonuçlara sahip çalışmalar da bulunmaktadır (63-65). Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) HDL-K'nın majör yapısal proteindir. Apo A1, HDL-K'deki kolesterolün esterleştirilmesinden sorumlu enzim olan lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT)'ın kofaktörü olarak fonksiyon görür. Ayrıca periferik dokularda HDL'nin ATP bağlayıcı kaset proteini-1 (ABCA1) ile etkileşiminde de rol oynayarak hücrenin kullanmadığı fazla kolesterolün HDL-K içine aktarılmasını sağlar. Kolesterol ise LCAT ile esterleştirildikten sonra karaciğere taşınır. Apo A1 bu şekilde ters kolesterol taşınmasına aracılık etmiş olur. Ayrıca Apo A1'in antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin de olduğu ve lipid metabolizmasının ateroprotektif yanını gösterdiği belirtilmiştir (66).

Apolipoprotein B-100 (Apo B), aterojenik lipoproteinlerin (VLDL, ara dansiteli lipoprotein (IDL) ve LDL) yapısal proteini olup lipidleri barsak ve karaciğerden periferik dokuya taşır. Her aterojenik lipoprotein partikülü 1 tane Apo B molekülü taşımakta olup, Apo B ölçümü total aterojenik partikül sayısını gösterir. LDL-K düzeyi partikül sayısını yansıtmaz. Bu nedenle KVH riskini belirlemede Apo B'nin LDL-K' dan daha duyarlı bir aterogenez belirteci olduğu belirtilmiştir (67).

Apo B / Apo A-I oranı, Apo B'den zengin aterojenik kolesterol partikülleri ile Apo-A-I bakımından zengin antiaterojenik kolesterol partikülleri arasındaki dengeyi temsil eder. Apo B / Apo A-I oranının diğer lipid parametreleri veya lipidlerin birbirine oranlarına göre kardiyovasküler hastalık riskini tahmin etmede daha üstün bir parametre olduğu ileri sürülmüştür (68).

Non-HDL-K ise total kolesterol düzeyinden HDL-K düzeyinin çıkarılmasıyla hesaplanır ve tüm aterojenik lipoprotein partiküllerinin içindeki kolesterol konsantrasyonunu yansıtır (67). Bazı çalışmalarda non-HDL-K'nın LDL-K'ya göre KVH riskini daha iyi öngördüğü belirtilmiştir (69).

Bilirubin lipid düzeyleri üzerine olan etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte artan bilirubin düzeylerinin; intestinal yoldan kolesterol

salgılanmasını arttırarak, hepatik kolesterol sentezini azaltarak ve safraya kolesterol atılımını arttırarak lipid düzeylerini etkileyebileceği belirtilmektedir (70).

Yetişkinlerde yapılan bazı çalışmalarda bilirubin konsantrasyonu ile VKİ arasında ters korelasyon olduğu belirtilmiş (71, 72), ancak bu ilişki net bir şekilde aydınlatılamamıştır (73).

2.5. Ateroskleroz

Dünya çapında ölümlerin en önemli nedeni KVH olup koroner arter hastalığı, inme gibi hastalıkları kapsayan bu hastalıkların başlıca sebebi ise inme gibi hastalıkları kapsayan bu hastalıkların başlıca sebebi ise aterosklerotik plak oluşumudur (74).

Aterosklerozis sözcüğü eski Yunanca'da lapa anlamına gelen ve plak içindeki nekrotik oluşumu ifade eden 'athere' ile plağın lüminal kenarındaki fibrotik başlıkla eşleşen ve sertleşme anlamına gelen 'sklerozis' kelimesinin birleşmesinden oluşmaktadır (75).

Ateroskleroz arterlerin iç duvarları boyunca lipidlerin ve inflamatuvar hücrelerin birikimiyle karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır (74). Primer olarak orta ve büyük boyuttaki elastik arterlerin intima tabakasını etkiler. Karakteristik lezyonu plak olan ateroskleroz; asemptomatik yağlı çizgilenmeler ile başlayıp damar lümenini daraltan stabil ya da komplike lezyon oluşumuna kadar ilerleyebilir (76).

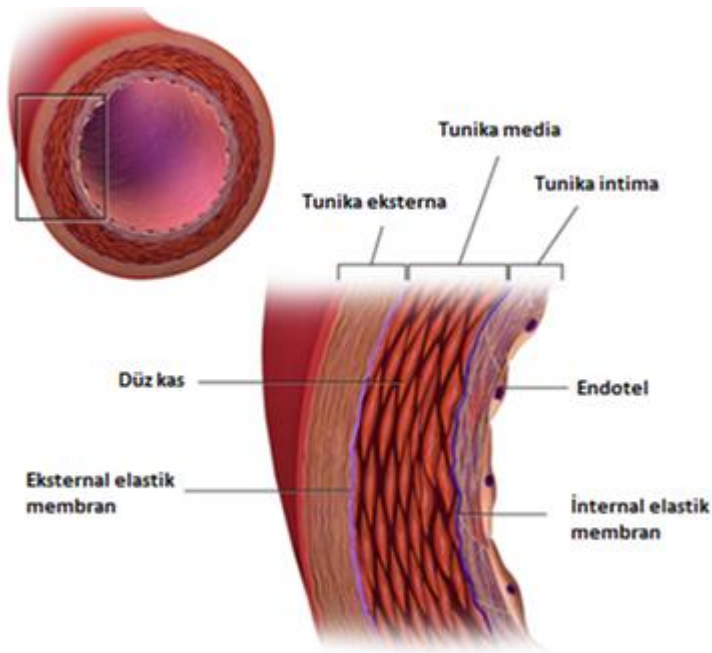
2.5.1. Aterosklerozun morfolojik özellikleri

Normal arter duvarı; arteriyel lümeni çevreleyen intima, media ve adventisya olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır. İntima tabakası ile media tabakası internal lamina; media tabakası ile adventisya tabakası ise eksternal lamina adındaki konsantrik elastin tabakaları ile birbirinden ayrılmıştır.

Lümene hemen komşu tabaka olan intima tabakasını tek sıra dizilmiş endotel hücreleri, subendotelial matriks ve bazal membran oluşturur. Düz kas hücreleri intimada nadiren bulunsa da, endotel hücreleri bu tabakanın temel hücresel bileşeni olup, kan akımı ile arteriyel duvarın stroması arasında fiziksel ve işlevsel bir bariyer oluşturur. Endotelial hücrelerin; vasküler tonusun, inflamatuvar hücre trafiğinin ayarlanmasında ve pıhtılaşmada birçok fizyolojik fonksiyonu bulunmaktadır.

Media tabakası esas olarak katmanlar halinde dizilmiş düz kas hücrelerinden oluşmuştur. Esas olarak elastik lifler ve daha az miktarda proteoglikan içeren kollajenden oluşan ekstraselüler bir matriks düz kas hücrelerini bir arada tutmaktadır (76, 77).

Adventisya arterin en dış tabakasıdır ve tipik olarak elastinden oluşan gevşek bir matriks ile düz kas hücreleri, fibroblastlar ve kollajenden oluşur. Arter duvarının yapısı Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Arter Duvarının Yapısı (78).

Ateroskleroz histolojik olarak kendini plak olarak bilinen arteriyel lezyonlar şeklinde gösterir. Plak lezyonları, 1995 yılında Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association, AHA) tarafından morfolojik değişikliklerle klinik sonuçlar birleştirilerek altı farklı tipe ayrılmıştır.

Tip I lezyon: Az miktarda lipid birikimi ve seyrek köpük hücrelerinin varlığıyla karakterizedir. Genel olarak ateroskleroza eğilimli arter bölgelerinde ilk histolojik değişiklik olan adaptif intimal kalınlaşmalarla aynı yerleşime sahiptirler.

Tip II lezyon: Köpük hücrelerin sayısı oldukça artmıştır ve yağlı çizgilenmeyi oluştururlar. Bu lezyonlarda az sayıda T hücresi, mast hücresi ve lipid

dolu düz kas hücresi de bulunabilir. Lezyonların bir kısmı gerilerken bir kısmı Tip III lezyona ilerleyebilir.

Tip III lezyon: Devam eden köpük hücre oluşumu ve makrofajların nekrozu söz konusudur. Tip II lezyondan farklı olarak hücre dışı küçük lipid havuzları gözlenir. Patolojik olarak aterosklerotik plak veya aterom şeklinde kabul edilen ilk lezyonu içerir. Tip III lezyonların, gelecekteki klinik hastalığın öngörücüsü olduğuna inanılır.

Tip II ve III lezyonlar erken lezyonlar olarak adlandırılır. 10 yaş civarında görülebilen bu lezyonlar 3. dekatta aortik yüzeyin üçte birlik alanını işgal edebilmektedir.

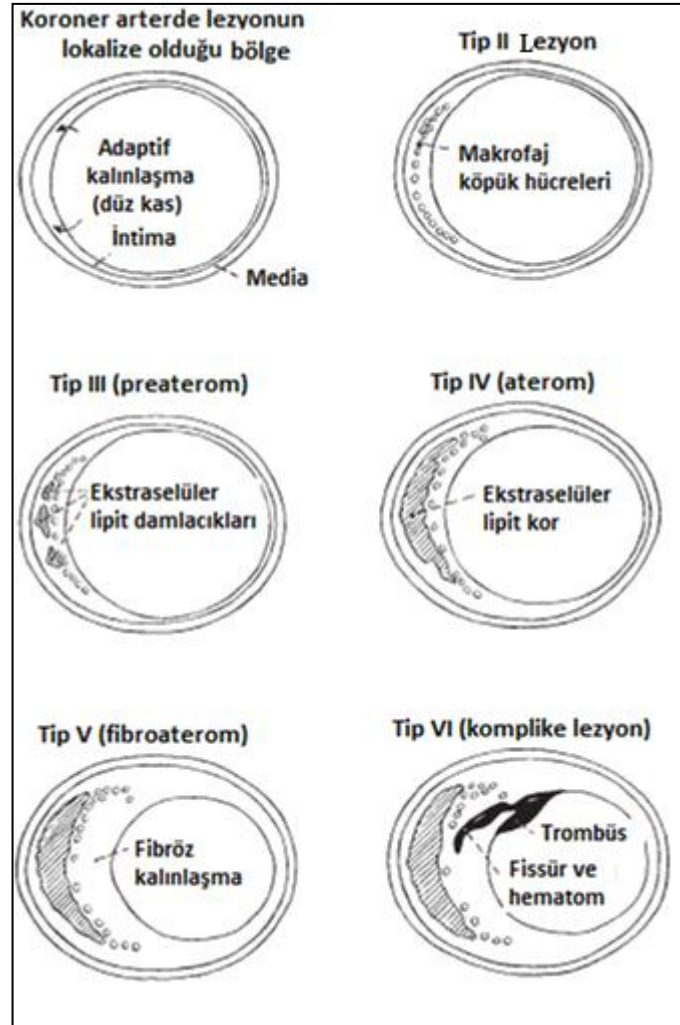
Tip IV lezyon: Artan hücre dışı lipidler bir havuz oluştururlar. Etrafi inflamatuvar hücrelerle çevrili olan lipid havuzu düz kas hücreleri ve bağ dokusundan oluşan ince bir tabakayla arteriyel lümeninden ayrılır.

Tip V lezyon: Lipit çekirdeğini lümeninden ayıran fibröz dokunun artışı ile meydana gelir. Fibröz doku artışında düz kas hücreleri rol oynar. Kollajen ve proteoglikanlar gibi ekstrasellüler matriks proteinlerini salgılayan düz kas hücrelerinin intima mı yoksa media kaynaklı olduğu ise net değildir. Tip V lezyonlar arter lümenini daraltarak klinik olarak angina pektoris neden olabilir.

Tip IV-V lezyonlar üçüncü ve dördüncü dekatta koroner arterler, karotis ve abdominal aortada gözlenebilmektedirler.

Tip VI lezyon: Bu lezyonlar görünür ülserasyonlar içeren kalsifiye fibröz alanlarla karakterizedir. Plak yırtılması sonucu oluşan tip VI lezyonlar çoğunlukla akut koroner sendromlardan sorumlu lezyonlardır (76, 77). Tip VII ve tip VIII lezyonlar hiç lipid içermeyebilir ya da çok az lipid içerir. Tip VII lezyonlar kalsiyumdan, tip VIII lezyonlar ise kollajenden zengindir. Tip VIII lezyonlar, tip V ve VI lezyonlardan daha kararlıdır (76).

Aterosklerotik lezyonların histolojik olarak sınıflandırılması Şekil 2.5' te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Aterosklerotik Lezyonların İleri Tiplerinin Tanımı Ve Aterosklerozun Sınıflandırılması (77).

2.5.2. Ateroskleroz Patogenezi Ve Yağlı Çizgilenme Oluşumu

Yağlı çizgilenmeler çocuklukta ve adolesan dönemde oluşmaya başlar. Bu lezyonun başlangıç aşamasında LDL, damar lümeninden ayrılarak intimaya geçer ve kandaki seviyeleri arttıkça burada birikmeye başlar. Daha sonra LDL'nin enzimler aracılığıyla oksidatif modifikasyonu gerçekleşir. Bu durum inflamatuvar reaksiyonların uyarılmasına neden olur (79).

Oks-LDL molekülü; endotel hücrelerden kemotaktik moleküllerin, sitokinlerin, VCAM-1 ile selektin gibi adezyon moleküllerin salgılanmasını uyarır. Endotel yüzeyinde adezyon moleküllerinin ekspresyonu sonucu monositler ve T lenfositlerin endotele adezyonu gerçekleşir. Okside olmuş LDL'nin uyarılması ile

endotel ve düz kas hücreleri dahil bir çok hücre tarafından salgılanan MCP-1 (monosit kemoatraktan protein-1) ise monositlerin intimada toplanmasını sağlar (76). İntimaya göç eden monositlerin makrofajlara dönüşmesi ve çöpçü (scavenger) reseptörler aracılığıyla oks-LDL 'yi fagosite etmesiyle köpük hücreler oluşur. Lümende darlık oluşturmeyen bu lezyonlar aterosklerozun ilk lezyonu olup yağlı çizgilenmeler olarak adlandırılır. Köpük hücrelerinin apoptozisi sonucu ise nekrotik lipid çekirdek oluşur. Mediadan intimaya göç eden ve proliferen olan düz kas hücreleri tarafından ekstraselüler matriks proteinleri sentezlenir. Lipit çekirdek, etrafındaki fibröz kapsül ile birlikte fibröz plağı oluşturur. Lipit çekirdeğin büyümesiyle birlikte kapsülün incilmesi ve enflamatuvar hücrelerin çoğalması stabil olmayan plak oluşumuna yol açar. Plak kapsülünün yırtılıp plak içeriğinin kan ile teması sonucu ise plak üzerinde trombüs oluşarak komplike lezyon meydana gelir (76).

2.5.3. Ateroskleroz oluşum hipotezleri

Ateroskleroz gelişimiyle ilişkili üç farklı hipotez ortaya atılmıştır. Bunlar;

- a) Hasara yanıt hipotezi
- b) Tutulmaya (retention) yanıt hipotezi
- c) Oksidatif modifikasyon hipotezidir.

a) Hasara yanıt hipotezi: Bu hipoteze göre; aterosklerotik lezyon gelişiminde ilk basamak endotelin hasarlanmasıdır. Bu hasarlanma normal damarın homeostatik özelliklerini değiştiren çok sayıda kompensatuar cevaba neden olmaktadır. Örneğin endotele trombosit ve lökositlerin adezyonu artar, antikoagülan özellik gösteren vasküler ortam prokoagülan bir hal alır. Biraraya gelen lökosit ve trombositlerden salgılanan sitokinler, vazoaktif ajanlar ve büyüme faktörleri inflamatuvar bir cevap oluşturarak düz kas hücrelerinin intimaya göçüne ve proliferasyonuna neden olur. Bu durum lezyonların daha da ilerlermesi ile sonuçlanır. Bir diğer inflamatuvar cevap makrofajların damar duvarında toplanıp LDL-K'yı fagosite etmesiyle erken bir aterosklerotik lezyon olan köpük hücre oluşumudur. Lipid birikimi ve köpük hücre oluşumuyla daha fazla makrofaj ve lenfositin göçü gerçekleşir. Devam eden inflamasyon sonucu açığa çıkan sitokinler, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimler hücrel nekrozu beraberinde getirir. Lezyonun otokatalitik şekilde genişlemesiyle lezyonun intimada daha fazla büyümesi

kan akışının bozulması ile sonuçlanır. Bu hipoteze göre endotelin mekanik olarak hasar görmesinin gerekli olduğu düşünülürken intakt bir endotel hücre tabakası varlığında da aterosklerotik lezyon gelişimi olabileceği gösterilmiş ve bu durum endotel disfonksiyonuyla açıklanmaya çalışılmıştır. Buna göre aterojenik lipoproteinlere endotelial geçirgenliğin artmasının aterogenezin başlaması için yeterli olacağı ifade edilmiştir (77).

Aktif, dinamik bir doku olan endotel, kan dolaşımının ve akıcılığının idame ettirilmesi, vasküler tonus, pıhtılaşma ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesi gibi birçok önemli fonksiyonu kontrol eder. Homeostatik koşullar altında endotel normal kan akışını ve damar tonusunu korurken ortamda pro-inflamatuvar faktör ekspresyonu azdır ya da hiç yoktur. Kısacası endotel disfonksiyonu endotelin pro-inflamatuvar, proliferatif, prokoagulatör özellikler göstermesi ile karakterizedir (80, 81).

Normal arter segmentlerinde de aşırı miktarda LDL birikiminin gözlenmesi aterosklerotik lezyon gelişiminin sadece endotel disfonksiyonuna bağlı olmadığı düşüncesine yol açmış ve yeni hipotezler ortaya atılmıştır (77).

b) Retansiyona yanıt hipotezi: Bu hipotezde, lipoprotein tutulumunun ateroskleroza başlatan olay olduğu savunulmaktadır. Lipoproteinlerin hücre dışı matriks komponentleri ile sıkı bağlantısının retansiyonda önemli olduğu düşünülmektedir. LDL ilişkili apolipoprotein B 100'ün proteoglikanlar gibi ekstraselüler matriks komponentleri ile çok sıkı bağlantı kurduğu belirtilmiştir (77).

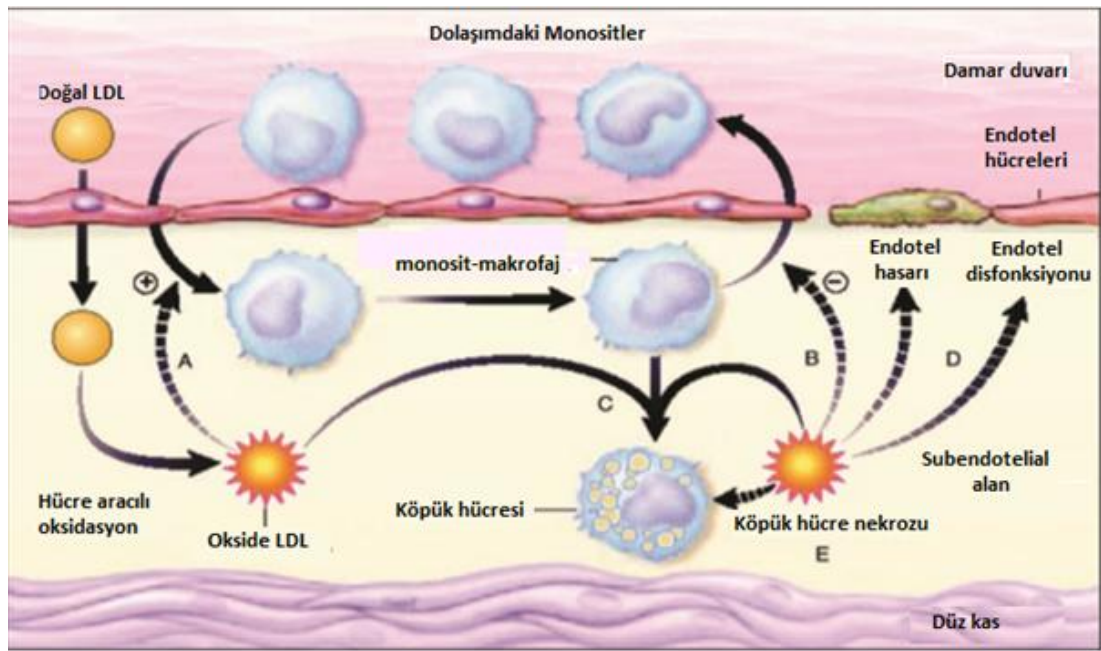
Proteoglikana bağlanmanın yanında ekstraselüler matriksteki lipolitik ve lizozomal enzimlerin retansiyonda rolü olabileceği düşünülmektedir. Örneğin in vitro olarak lipoprotein lipazın LDL'nin subendotelial bölgeye geçişini arttırdığı gösterilmiştir. Arter duvarı içine alınan ve agregre olmaya başlayan LDL'nin makrofaj ve düz kas hücrelerince alınmasıyla köpük hücre oluşumu gerçekleşmektedir (77).

c) Oksidatif modifikasyon hipotezi: Bu teoriye göre, LDL'nin doğal formunun aterojenik olmadığı, oksidatif modifikasyon sonucu oluşan oks-LDL'nin ise, aterosklerozun başlamasında ve gelişiminde önemli bir faktör olduğu kabul edilmektedir (77).

LDL'nin oksidasyonu sürecinde apolipoprotein B-100'de hiçbir değişiklik olmazsa minimal modifiye LDL (MM-LDL) olarak adlandırılan LDL formu oluşur (82). MM-LDL büyük ölçüde normal LDL reseptörleri ile etkileşirken çöpçü

(scavenger) reseptörler tarafından tanınmaz. Ancak MM-LDL'nin de MCP-1 sentezini uyararak ve inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlayarak proaterojenik etkiler gösterdiği belirtilmiştir (83).

LDL, oksidatif modifikasyon sonucu LDL reseptörü tarafından tanınmayarak çöpçü reseptörleri için bir ligand haline geldiğinde okside LDL olarak adlandırılır (84). Okside LDL çöpçü reseptörleri aracılığıyla makrofajlar içine alındığında kolesterol esterleri ile yüklü köpük hücreleri oluşur. Bu köpük hücrelerinin birikimi ise gelişmekte olan aterosklerotik lezyonun odağını oluşturur (77). Oksidatif modifikasyon hipotezi Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Oksidatif Modifikasyon Hipotezi (77).

Bahsedilen hipotezlerde aterosklerozu başlatan nedenler farklı olarak sunulsa da her üçünde de inflamasyonun ve LDL'nin ateroskleroz patofizyolojisinde önemli olduğu vurgulanmış ve aterosklerozun merkezinde LDL molekülünün yer aldığı belirtilmiştir. Oksidatif modifikasyon hipotezi, tek başına vasküler hastalığın oluşumunda oksidatif olayların ve redoks reaksiyonlarının öneminden söz etmesi açısından farklılık göstermektedir (77).

2.6. LDL oksidasyonu

Plazmanın yüksek antioksidan içeriğinden dolayı, LDL oksidasyonu esas olarak endotelial hücreler ve aktif lökositler tarafından fazla miktarda reaktif

oksijen türlerinin üretildiği arter duvarının subendotelial alanında meydana gelir. Endotel dışında lipid peroksidasyonunun gözlemlendiği başlıca hücreler doku makrofajları, düz kas hücreleridir. Normalde intrasellüler kolesterol seviyelerinin artması LDL reseptörlerinin sayısının azalmasına neden olduğundan (down-regülasyon), in vitro ortamda makrofajların LDL ile inkübasyonu köpük hücre oluşumuna neden olmamaktadır. Kimyasal olarak modifiye olmuş LDL'ler ise makrofajlar tarafından hücre içi kolesterol seviyelerine tepkisiz olan çöpçü (scavenger) reseptörler aracılığıyla alınarak biriktirilir (85).

LDL yağ asitlerinin yaklaşık yarısı çoklu doymamış yağ asitlerinden (Polyunsaturated fatty acids (PUFA): linoleik asid, araşidonik asid, dokozahekzoenoik asid) oluşur ve PUFA'lar oksidasyondan antioksidanlar ile korunur. Bu antioksidanlar arasında α tokoferol, V tokoferol, karotenoidler ve ubikinol-10 yer almaktadır (86).

Patolojik koşullarda damar dokularında biriken LDL, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), hidroksil radikallerini ($OH\cdot$) içeren reaktif oksijen radikallerince hızlı bir şekilde modifiye olarak okside LDL'ye dönüşür (85).

Radikal aracılı ya da fosfolipaz, lipooksijenaz aracılı in vitro LDL oksidasyonu üç fazda oluşur:

1) Başlangıç gecikme (Lag) fazında endojen olarak oluşan LDL, antioksidanlar tarafından yok edilmektedir.

2) Yayılma (Progresyon) fazında doymamış yağ asitleri lipid hidroperoksitlerine oksidasyonu gerçekleşir:

Bir yağ asidinin metilen (CH_2) grubundan bir hidrojen atomu kopması sonucu karbon atomunda ($\cdot CH$) eşlenmemiş bir elektron kalır. Oluşan lipid radikali O_2 ile reaksiyona girerek lipid peroksillerini ($LOO\cdot$) oluşturur. Lipid peroksillerin ortamdaki hidrojen atomları ile reaksiyona girmesi sonucu lipid hidroperoksidleri oluşur (87).

3) Ayrışma (Dekompozisyon) fazında lipid hidroperoksitleri yıkılarak reaktif aldehitlere dönüşür.

Bunlar içerisinde en önemlileri malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (HNE) ve çeşitli 2-alkenallerdir. Oluşan aldehitler; apolipoprotein B 100'de yer alan ve oksidasyon sonucu sayısı artan bazı lizin kalıntılarının ϵ -amino grupları ile

reaksiyona girerek schiff bazı oluşturur ve LDL'yi daha negatif yüklü hale getirir. Bu durum LDL'nin, LDL reseptörüne ilgisinin azalması ve çöpçü reseptörlerine ilgisinin artması ile sonuçlanır (88).

Okside LDL'nin potansiyel proaterojenik aktiviteleri (77):

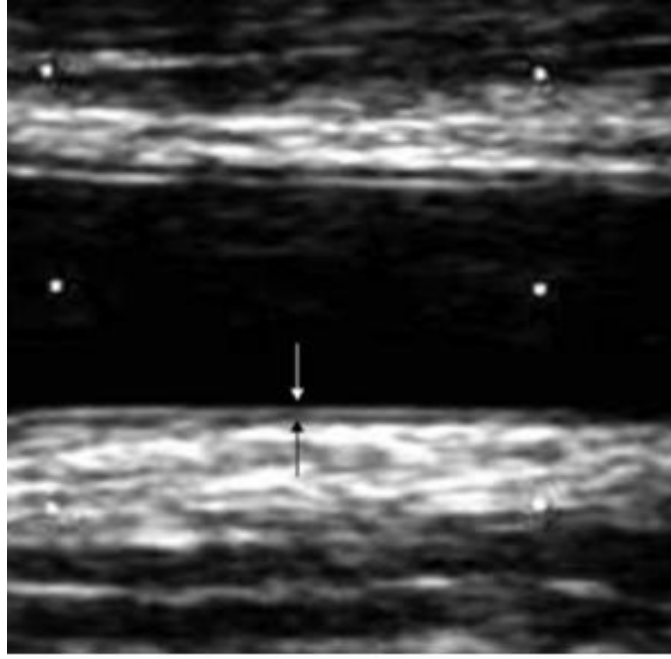
1. Makrofajların köpük hücre oluşumunu destekler.
2. Makrofajlar üzerindeki çöpçü reseptörlerinin ekspresyonunu artırır.
3. Damarlar üzerindeki inflamasyonla ilişkili gen ekspresyonunu artırır.
4. Monositler ve T lenfositleri için kemotaktiktir.
5. Düz kas hücreleri ve makrofajlar üzerinde mitojenik etkiye sahiptir.
6. Okside LDL, immünojenik olup T hücrelerini aktive ederek antikor oluşumunu sağlar
7. LDL agregasyonunu sağlayan sfingomyelinaz için substrat görevi görür.
8. Doku faktörü ekspresyonunu ve trombosit agregasyonunu artırır.
9. Okside LDL türevi ürünler sitotoksik olup apoptozisi indükler.
10. Nitrik oksit biyoaktivitesinin bozulmasına neden olur.
11. Kompleman yolağını aktive eden C-reaktif proteini bağlar.

2.7. Karotis İntima Media Kalınlığı Ve Ölçümü

İntima media kalınlığı ilk kez 1986 yılında Pignoli ve arkadaşları tarafından B-mod ultrasonografi ile ölçülmüştür (89); 1990'lı yılların başından itibaren, ölçümlerin daha rahat yapılabilmesi nedeniyle İMK ölçümünde karotis arterlerinin kullanılmasına başlanılmış (90) ve KİMK ölçümü subklinik aterosklerozun değerlendirilmesinde güçlü bir araç haline gelmiştir (91). Karotis arterlerin ultrasonografi ile değerlendirilmesi, kolay, non-invaziv, tekrarlanabilir ve maliyeti düşük olan bir yöntemdir (92).

Arteriyal intimal ve medial katmanların kombine kalınlığı KİMK'yi oluşturmaktadır. Mevcut ultrason teknolojisi tek başına intimal kalınlığı ölçmek için yeterince hassas değildir (93).

Sonografik olarak ekolusen görünen damar lümeni ile ekojenik görünen intima tabakası arasındaki sınırdan başlayıp ekolusen görünen medya tabakası ile ekojenik görünen adventisiya tabakası arasındaki sınıra uzanan kısım intima mediya kompleksini temsil eder (91). KİMK'nın sonografik olarak görüntüsü Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Karotis Kommunis Artere Ait İntima- Media Kompleksinin Radyolojik Görüntüsü (91)

Çocuklarda erken ateroskleroz genellikle belirgin lipid çekirdeği veya fibröz başlık oluşumu yerine intima ve media tabakalarının diffüz kalınlaşması şeklinde kendini gösterir. Bu nedenle karotiste anatomik tabakalar kolaylıkla ayırt edilebilir. Arterin luminal kenarından başlayan ve medya ile adventisiya arasındaki sınırla biten alan intima-media bölümünü temsil eder. Bu alandaki genişleme ve düzensizleşme yaşla birlikte de artabilirken, kardiyovasküler risk faktörleri de İMK'nın artışına katkıda bulunur. İMK ölçümü subklinik aterosklerozun araştırılmasında önemli bir araçtır. Doğru ölçümler için mutlaka en az 10 mm'lik bir arteriyel segmentte görüntü elde edilmesi ve arka arkaya yapılan ölçümlerin ortalamasının alınması önerilmektedir. Ölçümler manuel imleç yerleştirme veya kenar belirleyici sistemlerden faydalanılarak yapılabilir (94). Uygulama için kullanılması önerilen transdüser; lineer ve frekansı en az 7 MHz olmalıdır (95).

Yetişkinlerde yapılan çalışmalarda KİMK 'nın kardiyovasküler hastalık risk faktörleri ile ilişkili olduğu ve gelecekteki kardiyovasküler olayları öngörebildiği belirtilmiş (96, 97), KİMK'daki her 0.1 mm'lik artışın miyokard enfarktüsü geçirme riskini %10'dan %15'e, iskemik serebrovasküler olay geçirme riskini ise %13'ten %18'e yükselttiği gösterilmiştir (97). Familial hiperkolesterolemi, DM,

hipertansiyon, MS gibi KVH açısından risk faktörüne sahip çocuklarda da KİMK'nın sağlıklı çocuklarda ölçülen KİMK'ya göre artmış olduğu gösterilmiştir (91).

Bilirubinun ateroskleroz üzerine olası etkisi özellikle yetişkinlerde KİMK ile bilirubin arasındaki ilişki ortaya konularak da araştırılmış olup serum TB düzeyleri düşük olan sağlıklı yetişkinlerin artmış KİMK 'ya sahip olduğu gösterilmiştir (98).

2.8. Çocuklarda Ateroskleroz

Klinik olarak orta ve geç yetişkinlikte kendini gösteren aterosklerotik sürecin yaşamın erken döneminde, çoğunlukla çocukluk döneminde başlamak üzere uzun bir asemptomatik evreye sahip olduğu bilinmektedir. Bazı çocuklarda, risk faktörleri veya spesifik hastalıklar nedeniyle süreç hızlanmakta olup ateroskleroz riski altındaki çocukların belirlenmesi, miyokard enfarktüsü, inme gibi KVH'ın geciktirilmesi veya önlenmesi açısından önemlidir.

Ateroskleroz çocukluk çağına köpük hücreler olarak bilinen lipid dolu makrofajlar ile T lenfositlerin intima tabakasında birikimi sonucu oluşan yağlı çizgilenmeler şeklinde kendini göstermektedir. Aterosklerozun yaşamın erken dönemlerinde başladığı kardiyovasküler olmayan nedenlerden ölen çocuklar ve genç yetişkinlerde yapılan otopsi çalışmaları ile ispatlanmıştır. Öncelikle Kore savaşı sırasında ölen genç askerler üzerinde yapılan otopsi çalışmalarıyla aterosklerozun genç yaşlarda başladığına dair veriler elde edilmiştir. Bu çalışmada gençlerin ortalama yaşı 22 olup % 70'inden fazlasının koroner arterlerinde ateroskleroz bulgularına rastlanmıştır. Motor kazalarında ölen 10-14 yaş arası çocukların incelendiği başka bir çalışmada ise aort intimasında ve koroner arterlerde lipid yüklü makrofaj insidansının çok yüksek olduğu ortaya konmuş çocukların % 50'sinden fazlasının erken ateroskleroz bulgularına sahip olduğu gözlenmiştir (99).

Bogalusa ve Gençlerde Aterosklerozun Patobiyolojik Belirleyicileri Çalışmasında (PDAY) aterosklerotik sürecin çocukluk çağına başladığına dair kanıtlar ortaya konmuştur. Bu otopsi çalışmalarında intimal yüzeyi kaplayan aterosklerotik lezyonların bazı risk faktörleri ile arasındaki ilişki de incelenmiştir. Bogalusa çalışmasında çocukların %50'sinde, erişkinlerin ise %85'inde yağlı çizgilenmelerin olduğu; fibröz plak prevalansının da yaşla birlikte arttığı ve çocukların % 8'inde, yetişkinlerin ise % 69'unda bulunduğu gösterilmiştir (100).

Ateroskleroz prevalansı ve yaygınlığının VKİ, kan basıncı, TK ve LDL-K düzeyleri yükseldikçe arttığı görülmüştür (99).

15-34 yaş arasındaki yaklaşık 3000 kişiye otopsinin yapıldığı PDAY çalışmasında yağlı çizgilenmelerin intimal yüzeyde kapladığı alan yüzdesi ile non-HDL-K, LDL-K düzeyleri arasında pozitif ilişki olduğu, HDL-K düzeyleri ile arasında ise negatif ilişki olduğu saptanmıştır (99).

Muscatine çalışmasında aterosklerotik sürecin göstergesi olarak KİMK ultrasonografik olarak değerlendirilmiş ve yetişkinlerde artmış KİMK'nın, çocukluk çağında değişen lipid profili ve diğer KVH risk faktörleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dislipidemisi olan adolesanların, erişkin dönemde artmış KİMK'ya sahip olma risklerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Etik Kurulu'nun 18.05.2016 tarihli 09 sayılı kararıyla onaylanmış ve ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu' nun (proje kodu: 2016-1231) desteğiyle yapılmıştır.

Çalışmaya; 2015- 2017 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalının yapmış olduğu "Çocuklarda Sigara Kullanımının KİMK ve Arteriyal Sertlik Üzerine Etkisi" başlıklı projede yer alan, anket formları aracılığıyla sigara içmediğini belirten obez olmayan 14-17 yaşları arasındaki sağlıklı 250 çocuk dahil edildi.

Lise ve dengi okullarda yapılan proje için Eskişehir İl Milli Eğitim Müdürlüğü ve Eskişehir Halk Sağlığı Müdürlüğünden gerekli izinler alındı. Çalışmada yer alan öğrenci ve ebeveynlerine konu hakkında detaylı bilgi verilerek gönüllü onam formu alındı. Öğrencilerle okul idareleri tarafından tahsis edilen odalarda birebir görüşmeler yapılarak yaş, cinsiyet, sigara kullanımı ve kronik hastalık bilgileri kaydedildi.

Katılımcılar içerisinde; kronik hastalığı olanlar (diabetes mellitus, hiperlipidemi, kronik böbrek hastalığı, hipertansiyon, kalp hastalığı), sistolik kan basıncı 160 mm Hg üzerinde olanlar, nabız basıncı 60 mm Hg üzerinde olanlar, total bilirubin düzeyi 1 mg/dl, AST ve ALT düzeyi 40 IU/L, hs CRP düzeyi 10 mg/L, açlık glukoz düzeyi 100 mg/dl üzerinde olanlar ve vücut kitle indeksleri yaşa uygun eğrilerde 95 persentil üzerinde olanlar çalışma dışı bırakıldı.

3.1. Boy ve Ağırlık Ölçümü

Boy ölçümü duvara monte edilmiş boy ölçme skalası ile çıplak ayakla ve dik pozisyonda yapıldı. Ağırlık ölçümü kalibre edilmiş dijital terazi ile en az 8 saatlik açlık sonrası yapıldı. Tüm çocukların yaş, boy, ağırlık ve cinsiyet verileri kaydedildi. Obezitenin değerlendirilmesinde olgularda vücut ağırlığının (kg) boyun karesine (m²) bölünmesiyle elde edilen vücut kitle indeksi (VKİ) kullanıldı. VKİ yaş ve cinsiyete göre 95 persentil altında olanlar çalışmaya dahil edildi.

3.2. Kan Basıncı Ölçümü

Kan basıncı, Nihon Kohden Life Scope N OPV-1500K (Nihon Kohden Corp. Shinjuku-ku, Tokyo, Japonya) marka cihaz kullanılarak osilometrik yöntemle dijital

olarak ölçüldü. Her çocuk için uygun boyutta manşon seçilerek, 10 dakika dinlenmeden sonra, oturur pozisyonda, manşon kalp hizasında iken sağ koldan kan basıncı ölçümleri yapıldı. Ölçümler 3 defa tekrarlanarak ortalaması alındı.

3.3. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya katılan öğrencilere önceden bilgi verilerek sabah saatlerinde gerekli sterilizasyon işlemlerinin ardından okullar tarafından tahsis edilen odalarda öğrencilerden bir gecelik (10-12 saat) açlık sonrası kan örnekleri toplandı. Antekubital fossada kalın ve derinin yüzeyine yakın olan basilik, antekübital veya sefalik venlerden jelli serum tüplerine ve EDTA'lı tüplere her çocuktan kan örnekleri alındı. Her kabın üzerine katılımcılara verilen numaralar kaydedilerek 30 dk içerisinde laboratuvara ulaştırıldı.

3.4. Laboratuvar Çalışmaları

Kan örnekleri ESOĞÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında 1500 x g'de 10 dk santrifüj edilerek serum ve plazmalarına ayrıldı. Numuneler çalışma gününe kadar ışıktan korunarak -80 °C de saklandı. Ayrılan serum örneklerinden total bilirubin, direkt bilirubin, hs CRP, trigliserit, total kolesterol, LDL-K, HDL-K, Apo AI, Apo B, glukoz, insulin, ALT, AST düzeyleri plazma örneklerinden ise oks-LDL, TNF- α düzeyleri çalışıldı.

Total bilirubin, direkt bilirubin, trigliserit, total kolesterol, LDL-K, HDL-K, glukoz, ALT, AST düzeyleri fotometrik yöntem ile Apo AI, Apo B, hsCRP düzeyleri immünotürbidimetrik yöntemle Roche Cobas 8000 c702 otoanalizör cihazında Roche marka hazır ticari kitleri kullanılarak çalışıldı. İnsulin düzeyleri elektrokemilüminesans immün ölçüm yöntemiyle Roche Cobas e 411 otoanalizöründe çalışıldı. Oks-LDL düzeyleri Immundiagnostik marka ox-LDL/MDA Adduct ELISA kitleri (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany) kullanılarak ELISA yöntemi ile; TNF- α düzeyleri Diasource marka kit (DÍASource ImmunoAssays S.A., Nivelles, Belgium) kullanılarak Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay (EASIA) yöntemi ile belirlendi. Bu ölçümler PerkinElmer Multilabel VICTOR™ X3 Plate Reader (Inc., Waltham, USA) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

Total bilirubin değerinden direkt bilirubin değeri çıkarılarak indirekt bilirubin değeri hesaplandı. İnsülin direncini yansıtan HOMA-IR değerleri “açlık insülini (U/ml) x açlık plazma glukozu (mg/dl) / 405” formülü ile hesaplandı. Ayrıca Apo B/Apo A1 oranı belirlendi ve total kolesterol değerinden HDL-K değeri çıkarılarak non HDL-K düzeyleri hesaplandı.

3.4.1. Total Bilirubin Ölçümü

Uygun bir solubilize edici maddenin varlığında total bilirubin, kuvvetli asidik ortamda 3,5-diklorofenil diazonyum (3,5-DPD) ile birleşir. Oluşan kırmızı azo boyanın renk şiddeti total bilirubin ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülebilir.

3.4.2. Direkt Bilirubin Ölçümü

Konjuge bilirubin ve δ-bilirubin (direkt bilirubin), asit tamponunda 3,5-diklorofenil diazonyum tuzu ile direkt olarak reaksiyona girerek kırmızı renkli azobilirubini oluşturur. Oluşan kırmızı azo boyanın renk şiddeti direkt (konjuge) bilirubin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülebilir.

3.4.3. hsCRP Ölçümü

İnsan CRP'si, monoklonal anti-CRP antikoru ile kaplı lateks partikülleri ile aglütinasyon gösterir. ökelti türbidimetrik olarak tayin edilir.

3.4.4. Trigliserit ölçümü

Trigliserit düzeyleri enzimatik kolorimetrik metotla çalışıldı. Bu yöntem, Wahlefeld tarafından mikroorganizmalardan alınan lipoprotein lipaz kullanılarak trigliseridlerin gliserole hızlı ve tam hidrolizi ve ardından dihidroksiaseton fosfata ve hidrojen peroksit oksidasyonu kullanılarak yapılan çalışmaya dayanır. Üretilen hidrojen peroksit bundan sonra peroksidazın katalitik etkisi altında 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile reaksiyona girerek kırmızı boyar madde oluşturur (Trinder sonlanım noktası reaksiyonu). Oluşan kırmızı boyar maddenin renk yoğunluğu trigliserid konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülebilir.

3.4.5. Total Kolesterol Ölçümü

TK düzeyleri enzimatik kolorimetrik metotla çalışıldı. Bu yöntemde başlangıçta kolesterol esterlerinin kolesterol esterazın (CE) etkisiyle bölünmesi sonucu serbest kolesterol ve yağ asitleri ortaya çıkar. Ardından, kolesterol oksidaz (CHOD) kolesterolün kolest-4-en-3-on ve hidrojen peroksida oksidasyonunu katalize eder. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidazın (POD) varlığında fenol ve 4-aminofenazonun oksidatif bağlanmasını etkileyerek kırmızı kinon-imin boya oluşmasına neden olur. Oluşan boyanın renk yoğunluğu kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılı olup absorbanstaki artış ölçülerek tayin edilir.

3.4.6. LDL-K Ölçümü

LDL-K düzeyleri enzimatik kolorimetrik yöntemiyle ölçüldü. Bu yöntemde LDL kolesterolün iyonik olmayan bir deterjan ile seçici misel çözülebilirliğinden ve bir şeker bileşiği ile lipoproteinlerin (VLDL ve şilomikronlar) etkileşiminden faydalanmaktadır. Kolesterol tayini için enzimatik yönteme bir deterjan eklendiğinde (kolesterol esteraz, kolesterol oksidaz bağlanma reaksiyonu), kolesterolün lipoprotein fraksiyonlarındaki bağıl reaktiviteleri şu sırayla artar: HDL <şilomikronlar <VLDL <LDL. Mg⁺⁺ varlığında, bir şeker bileşiği VLDL ve şilomikronlarda kolesterol ölçümünün enzimatik reaksiyonunu belirgin şekilde azaltır. Bir şeker bileşiğinin deterjan ile kombinasyonu, serumdaki LDL kolesterolün seçici tayinine izin verir. Oluşan kolesterol esterleri, kolesterol esteraz aracılığıyla serbest kolesterol ve yağ asitlerine parçalanır. Oksijen varlığında kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından oksidize olarak Δ^4 -kolestenon ve hidrojen peroksiti oluşturur. Peroksidaz varlığında, oluşan hidrojen peroksit 4-aminoantipirin ve sodyum-N (2-hidroksi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoksianilin (HSDA) ile reaksiyona girerek mor-mavi bir boya oluşturur. Bu boyanın renk yoğunluğu kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

3.4.7. HDL-K Ölçümü

HDL-K ölçümünde homojen enzimatik kolorimetrik yöntem kullanıldı. Yöntemde magnezyum sülfat ve dekstran sülfat varlığında, polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmiş enzimler kullanılır. HDL-K kolesterol içeriği PEG ile modifiye edilmiş (%40 oranında) kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından enzimatik

kataliz ile belirlenir. Kolesterol esterleri kolesterol esteraz tarafından serbest kolesterol ve yağ asitlerine yıkılır. Oksijen varlığında kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından Δ^4 -kolestenon ve H_2O_2 'ye okside olur. Hidrojen peroksit, POD tarafından 4-AAP ve sodyum-N (2-hidroksi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoksianilin (HSDA) varlığında mavi-mor pigment oluşturur. Bu pigmentin renk şiddeti kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

3.4.8. Apo A1 Ölçümü

Anti-apolipoprotein A-1 antikoru numune içindeki antijenle reaksiyona girer ve aglütinasyon sonucu oluşan antijen/antikor kompleksleri türbidimetrik olarak ölçülür.

3.4.9. Apo B Ölçümü

Anti-apolipoprotein B antikoru numune içindeki antijenle reaksiyona girer ve aglütinasyon sonucu oluşan antijen/antikor kompleksleri türbidimetrik olarak ölçülür.

3.4.10. Glukoz Ölçümü

Glukoz seviyeleri hekzokinaz enzim referans yöntemi ile fotometrik olarak ölçüldü. Hekzokinaz (HK) ATP ile glukozun glukoz 6 fosfata fosforilasyonunu katalizler. Glukoz-6- fosfat dehidrogenaz(G-6-PDH) ise NADP varlığında glukoz-6- fosfatı glukonat-6-fosfata okside eder. Reaksiyon esnasında NADPH oluşum hızı, glukoz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

3.4.11. İnsulin Ölçümü

Numunedeki insülin, insüline spesifik biyotinli monoklonal antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş insüline özgü monoklonal antikor reaksiyona girerek bir sandviç kompleksi oluşturur. Daha sonra streptavidin kaplı mikropartiküller eklenir ve biyotin-streptavidin etkileşimi aracılığıyla, kompleks katı faza bağlanmış olur. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyinde manyetik olarak tutuldukları ölçüm hücrelerine aspire edilir. Sonrasında bağlanmamış maddeler *Procell* ile uzaklaştırılır. Elektrod üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı ile ölçülür. Oluşan kemilüminesans emisyonunun şiddeti örnekteki insülin seviyesi ile orantılıdır ve

sonuçlar 2-noktalı kalibrasyon ile cihaza özel olarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir ana eğri ile tayin edilir.

3.4.12. ALT lm

ALT, L-alanin ile 2-oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize eder. Oluşan piruvat, laktat dehidrojenazın (LDH) katalize ettiği bir reaksiyonda NADH tarafından indirgenerek L-laktat ve NAD⁺ oluşturur. Katalitik ALT aktivitesi, NADH oksidasyonunun hızı ile doğru orantılıdır ve absorbanstaki azalmanın llmesiyle tayin edilir.

3.4.13. AST lm

Numunedeki AST, L-aspartat ve 2-oksoglutarat arasında bir amino grubun taşınarak oksaloasetat ve L-glutamat oluşmasını katalize eder. Ardından oksaloasetat, malat dehidrojenazın (MDH) varlığında NADH ile reaksiyona girerek NAD⁺ oluşturur. Katalitik AST aktivitesi NADH oksidasyonunun hızı ile doğru orantılıdır ve absorbanstaki azalmanın llmesiyle tayin edilir.

3.4.14. TNF- lm

Bu yöntemde TNF-'nın farklı epitoplarına karşı yönlendirilen monoklonal antikoları (MAbs) kullanılır. Kalibratörler ve numuneler mikropleyt kuyucuk üzerinde kaplanan yakalama monoklonal antikoru (MAb1) ve Horseradish Peroksidaz (HRP) ile etiketlenmiş bir monoklonal antikoru (MAb2) ile reaksiyona girer. MAb 1 - insan TNF-a-MAb2-HRP şeklinde sandviç oluşumuna izin verilen inkübasyon periyodundan sonra mikrotiterplate yıkanarak bağlanmamış enzim etiketli antikolar uzaklaştırılır. Substrat olarak kromojen madde (TMB) kuyucuklara pipetlenir ve HRP ile reaksiyona girer inkübasyon sonrası TNF alfa pozitif kuyucuklarda mavi renk oluşur. Son basamakta kuyucuklara eklenen stop zeltisi ortam pH'ını düşürerek HRP'nin katalizlediği reaksiyonu durdurur, aynı zamanda kuyucuk içindeki zeltinin rengini de maviden sarıya dönüştürür. Oluşan bu rengin yoğunluğu 450 nm'de llr. Standartlara ait absorbans değerisi kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla numunedeki TNF alfa konsantrasyonu hesaplandı.

3.4.15. Okside LDL lm

İnsan okside-LDL içeren standartlar, kontroller ve numuneler, yüksek afiniteli antikorlarla kaplanmış mikroplyet kuyulara eklenir. İlk inkübasyon süresi boyunca, mikrotiter kuyuların duvarı üzerinde hareketsiz kalan antikorlar, hasta numunelerindeki antijeni yakalar. İnkübasyon sonrası mikroplyet yıkanarak numunede bulunan ve antikora bağlanmayan bileşenler uzaklaştırılır. Daha sonra her bir kuyuya peroksidaz ile konjüğe edilmiş antikor eklenir. Peroksidaz için substrat olarak tetrametilbenzidin (TMB) kullanılır. Son olarak, tepkime sonlandırmak için asidik bir durdurma çözeltisi eklenir. Oluşan sarı rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçülür. Rengin yoğunluğu numunenin oks-LDL konsantrasyonu ile doğrudan orantılıdır. Standartlara ait absorbans değeri kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla numunedeki oks- LDL konsantrasyonu hesaplanır.

3.5. Karotis İntima-Media Kalınlığı Ölçümü

Çalışmaya dahil edilen katılımcılar önceden alınan iletişim bilgileri kullanılarak ESOGÜ Çocuk Kardiyoloji Bölümüne çağrıldı. Tüm olgular Vivid I marka renkli Doppler ultrasonografi aygıtında 12 MHz'lik lineer prob kullanılarak incelendi. İnceleme hasta sırtüstü yatıyor iken gerçekleştirildi. İncelemeyi kolaylaştırmak için olgunun boynunun altına ince bir yastık konuldu, olgunun boynu incelenecek tarafın karşı yönüne çevrildi. Cihazın renk ve gain değişkenleri artefakt oluşumunu engelleyecek ancak maksimum range bilgisini verecek biçimde ayarlandı. Ana karotis arter bulbusundan itibaren ilk 2 cm'lik distal bölge içinde 1 cm'lik bir segment belirlendi ve elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı. Bu görüntülerden özel bir intima-media kalınlığı ölçüm programı ile uzak kenar ölçüm yöntemine dayanılarak, ele alınan segmentin ortalama, maksimum ve minimum değerleri saptandı ve ölçüm her iki ana karotis arter için de uygulandı. Daha sonra, bu değerler ayrı ayrı ve ortalamaları alınarak değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n, ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdelerik değerler olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile ölçülmüştür. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlere Mann Whitney U testi yapılmış olup, değişkenler arasındaki ilişki ve ilişkinin yönü Spearman

korelasyon testi ile değerlendirilmiştir. $p < 0,05$ olasılık değerleri önemli olarak kabul edilmiştir. Tüm veri analizleri IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı ile yapılmıştır. Spearman's Rho korelasyon analizinde ise $r = 0-0.3$ arasında düşük, $r = 0.3-0.7$ arasında orta, $r > 0.7$ ise yüksek dereceli ilişki olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

14-17 yaş aralığında olan 250 çocuğun dahil edildiği kesitsel özellikli çalışmamızda serum TB düzeyleri 1 mg/dl üzerinde, glukoz düzeyleri 100 mg/dl üzerinde olan veya akut inflamasyon şüphesi taşımaları nedeniyle 10 mg/L ve üzeri hsCRP düzeylerine sahip olan 24 çocuk çalışma dışı bırakıldı ve geriye kalan 226 çocuğun verileri ile istatistiksel analizler yapıldı.

Değerlendirmeye alınan 226 çocuğun 94'ü (%41,6) kız, 132'si (%58,4) erkekti, ortalama yaş $15,51 \pm 1,03$ olarak hesaplandı. Bu çocuklar arasından karotis intima media kalınlığı ölçümüne katılan 143 çocuğun ise 70'i (%49) kız, 73'ü (%51) erkek olup yaş ortalaması $15,39 \pm 1,08$ olarak hesaplandı. Tüm çocukların antropometrik ölçümleri Tablo 4.1'de gösterildi. Kız ve erkek çocukları arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Antropometrik ölçümlere bakıldığında VKİ değerleri açısından kız çocukları ile erkek çocukları arasında anlamlı farklılık bulunmazken; vücut ağırlığı ve boy gibi diğer antropometrik ölçümlerin kız çocuklarında daha düşük olduğu görüldü ($p < 0,001$; $p < 0,001$). Erkek çocuklarının SKB değerleri kız çocuklarına göre daha yüksekti ($p = 0,021$).

Tablo 4.1. Çalışmaya katılan tüm çocukların demografik ve antropometrik değerleri*

	Tüm Grup	Kız	Erkek	p değeri[†]
Kişi sayısı (n)	226	94	132	<0.001
Yaş (yıl)	15 (14-16)	15 (14-16)	15 (15-16)	ns
Vücut Ağırlığı (kg)	60 (54-68)	56 (52-63)	62 (56-70)	<0.001
Boy (cm)	170 (164-176)	165 (162-170)	174 (168-178)	<0.001
VKİ (kg/m²)	20 (19-23)	20 (19-22.4)	20.4 (19-23)	ns
SKB (mmHg)	122 (115-129)	120 (114-127)	125 (117-130)	0.021
DKB (mmHg)	69 (64-77)	69 (64-78)	69 (64-78)	ns

* Mann Whitney U Median (%25-%75) , [†]Kız ve erkek çocukların karşılaştırma sonuçları; ns: not significant

Tüm çocukların laboratuvar test sonuçları Tablo 4.2' de gösterildi. Çocukların TB, DB, İB düzeylerinin median değerleri sırasıyla 0.43, 0.13, 0.29 mg/dl olarak bulundu ve TB, DB, İB düzeyleri açısından kız ve erkek çocukları arasında anlamlı

farklılık saptanmadı. Erkek çocuklarının anlamlı olarak daha yüksek TNF- α değerine sahip olduğu görülürken ($p=0.002$), lipid profiline bakıldığında kız çocuklarının serum TK, HDL-K, LDL-K, non HDL-K, Apo A1, Apo B düzeylerinin erkek çocuklarına göre anlamlı şekilde daha yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$, $p=0.007$, $p=0.008$, $p=0.031$, $p=0.035$, $p=0.017$).

Tablo 4.2. Çalışmaya katılan tüm çocukların laboratuvar değerleri*

Değişkenler	Tüm Grup (n=226)	Kız (n=94)	Erkek (n=132)	p değeri [†]
TB (mg/dl)	0.43 (0.26-0.62)	0.40 (0.29-0.56)	0.44 (0.30-0.65)	ns
DB (mg/dl)	0.13 (0.09-0.18)	0.13 (0.08-0.17)	0.13 (0.09-0.20)	ns
İB (mg/dl)	0.29 (0.19-0.43)	0.28 (0.18-0.40)	0.30 (0.21-0.46)	ns
Oks- LDL(ng/ml)	141 (39.6-290)	149 (53.6-387)	137 (36-260)	ns
TNF alfa(pg/ml)	3.77 (2.20-5.38)	3.21 (1.70-4.68)	4.19 (2.88-5.72)	0.002
hs CRP (mg/L)	0.53 (0.25-1.24)	0.51 (0.24-0.96)	0.55 (0.25-1.30)	ns
Glukoz (mg/dl)	86 (80-91)	85 (78.7-90)	87 (81-92)	ns
TG (mg/dl)	99.5 (74-139)	92 (70-132)	107 (77-142)	ns
TK(mg/dl)	145 (129-164)	150(137-169)	140 (126-159)	0.001
HDL-K(mg/dl)	50 (42-58)	51 (44-60)	48 (40-57)	0.007
LDL-K(mg/dl)	84 (70-97)	88 (77-102)	78 (65-96)	0.008
Non-HDL- K(mg/dl)	94 (78-109)	97 (85-114)	92 (75-107)	0.031
Apo A1(mg/dl)	135 (122-146)	137 (127-149)	132 (121-142)	0.035
Apo B(mg/dl)	69 (60-81)	73 (63-83)	67 (58-79)	0.017
Apo B/Apo A1	0.52 (0.44-0.61)	0.53 (0.46-0.61)	0.51 (0.43-0.61)	ns
İnsulin (uU/mL)	14.6 (8.85-24)	14.7(9.5-23.5)	14.58 (8.45 - 26.54)	ns
HOMA-IR	3.14 (1.83-5.10)	3.08(1.84-4.79)	3.21 (1.82-5.19)	ns

* Mann Whitney U Median (%25-%75), [†] Kız ve erkek çocukların karşılaştırma sonuçları; ns: not significant

Tüm grupta TB düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve demografik veriler arasında gözlenen ilişki Tablo 4.3 'te gösterildi. TB düzeyleri ile VKİ arasında

anlamli bir ilişki olmadığı görüldü. TB düzeyleri ile SKB değerleri arasında düşük düzeyde pozitif yönde anlamli ilişki saptanırken ($p=0.002$), DKB ile arasında ise anlamli bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4.3. TB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki*

Değişkenler		Tüm Grup	Kız	Erkek
		(n=226)	(n=94)	(n=143)
Yaş (yıl)	r	0.162	ns	ns
	p	0.015		
Vücut Ağırlığı (kg)	r	ns	ns	ns
	p			
Boy (cm)	r	0.192	ns	ns
	p	0.004		
VKİ (kg/m ²)	r	ns	ns	ns
	p			
SKB (mmHg)	r	0.202	ns	0.193
	p	0.002		0.027
DKB (mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı; ns: not significant

Tüm grupta TB düzeyleri ile laboratuvar parametreleri arasında gözlenen ilişki Tablo 4.4'te gösterildi. TB düzeyleri ile hsCRP, TG, LDL-K, non-HDL-K, Apo B, insulin düzeyleri, Apo B/Apo A1 ve HOMA-IR değerleri arasında düşük düzeyde negatif yönde ($p=0.001$, $p=0.006$, $p=0.038$, $p=0.004$, $p=0.012$, $p<0.001$, $p=0.001$, $p<0.001$) HDL-K düzeyi ile arasında ise düşük düzeyde pozitif yönde anlamli ilişki olduğu gözlendi ($p=0.009$). TB düzeyleri ile oks-LDL, TNF α , glukoz, TK, Apo A1 düzeyleri arasında anlamli bir ilişki gözlenmedi.

Sonuçlar cinsiyete göre değerlendiğinde hem kız hem de erkek ocuklarında TB düzeyleri ile trigliserit, non HDL, insulin düzeyleri ve HOMA-IR, Apo B/Apo A1 değerleri arasında tüm grupta olduğu gibi düşük düzeyde negatif yönde ilişki bulundu. Yine tüm gruptakine benzer Şekilde erkek ve kız ocuklarında TB

düzeyleri ile oks-LDL, TNF α , glukoz, TK düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 4.4).

Ayrıca kız çocuklarında tüm gruptan farklı olarak TB düzeyi ile Apo A1 düzeyi arasında anlamlı pozitif yönde ilişki bulundu ($p=0.005$)

Tablo 4.4. TB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki*

Değişkenler		TB		
		Tüm grup (n=226)	Kız (n=94)	Erkek (n=132)
Dbil(mg/dl)	r	0.770	0.808	0.744
	p	<0.001	<0.001	<0.001
İbil(mg/dl)	r	0.970	0.973	0.967
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Oks-LDL(ng/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
TNF alfa(pg/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
hs CRP (mg/L)	r	-0.223	ns	-0.307
	p	0.001		<0.001
Glukoz (mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
TG (mg/dl)	r	-0.182	-0.206	-0.193
	p	0.006	0.047	0.027
TK(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
HDL-K(mg/dl)	r	0.174	0.262	ns
	p	0.009	0.011	
LDL-K(mg/dl)	r	-0.138	ns	ns
	p	0.038		
Non-HDL-K(mg/dl)	r	-0.190	-0,218	-0.199
	p	0.004	0.033	0.022
Apo A1(mg/dl)	r	ns	0.285	ns
	p		0.005	
Apo B(mg/dl)	r	-0.168	ns	-0.183
	p	0.012		0.035
Apo B/Apo A1	r	-0.220	-0.249	-0.197
	p	0.001	0.015	0.024
İnsulin (uU/mL)	r	-0.309	-0.285	-0.323
	p	<0.001	0.005	<0.001
HOMA-IR	r	-0.313	-0.287	-0.333
	p	<0.001	0.05	<0.001

*Spearman korelasyon analizi p<0.05; r: Spearman korelasyon katsayısı ; ns: not significant

Tüm grupta DB düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve demografik veriler arasında gözlenen ilişki Tablo 4.5 'te gösterildi. DB düzeyleri ile VKİ arasında

anlamli bir ilişki bulunmadı. DB düzeyleri ile SKB değerleri arasında duşuk düzeyde pozitif yönde anlamli ilişki saptanırken (p=0.030), DKB ile arasında ise anlamli bir ilişki görülmedi.

Tablo 4.5. DB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölümler arasındaki ilişki*

Değişkenler		Tüm Grup (n=226)	Kız(n=94)	Erkek(n=143)
Yaş	r	0.183	0.213	ns
	p	0.006	0.039	
Vücut Ağırlığı(kg)	r	0.160	ns	ns
	p	0.016		
Boy(cm)	r	0.173	ns	ns
	p	0.009		
VKİ(kg/	r	ns	ns	ns
	p			
SKB(mmHg)	r	0.144	ns	ns
	p	0.030		
DKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi p<0.05; r: Spearman korelasyon katsayısı ; ns: not significant

DB düzeyleri ile oks-LDL, hsCRP, TG, LDL-K, non-HDL-K, Apo B düzeyleri, ve Apo B/Apo A1 değerleri arasında duşuk düzeyde negatif yönde anlamli ilişki olduğu saptandı (p=0.009, p=0.007, p=0.014, p=0,016, p=0.002, p=0,003, p<0.001). DB düzeyleri ile TNF α , glukoz, TK, Apo A1, insulin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri arasında ise anlamli ilişki saptanmadı. DB düzeyleri ile HDL-K düzeyleri arasında anlamli duşuk düzeyde pozitif yönde ilişki (p=0.032) olduğu görüldü (Tablo 4.6).

Hem kız hem de erkek ocuklarında DB düzeyleri ile non HDL-K ve Apo B/Apo A1 değerleri arasında tüm gruptakine benzer şekilde duşuk düzeyde negatif yönde anlamli ilişki gözlenirken kız ocuklarında DB düzeyi ile Apo A1 düzeyi arasında anlamli pozitif ilişki (p=0.011); erkek çocuklarında ise DB düzeyleri ile TK düzeyleri arasında anlamli negatif yönlü ilişki (p=0.049) saptandı. Ayrıca tüm grupta gözlendiği gibi erkek çocuklarında da DB düzeyleri ile oks-LDL düzeyleri arasında negatif yönde ilişki saptandı (p=0.007). Kız ve erkek çocuklarında da tüm grupta

olduğu gibi DB düzeyleri ile TNF α , glukoz, insulin düzeyleri ve HOMA-IR değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. DB düzeyleri ile ölçölen parametreler arasındaki ilişki*

Değişkenler		DB		
		Tüm grup (n=226)	Kız (n=94)	Erkek (n=132)
Tbil(mg/dl)	r	0.770	0.808	0.744
	p	<0.001	<0.001	<0.001
İbil(mg/dl)	r	0.621	0.675	0.586
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Oks-LDL(ng/ml)	r	-0.172	ns	-0.234
	p	0.009		0.007
TNF alfa(pg/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
hs CRP (mg/L)	r	-0.179	ns	-0.196
	p	0.007		0.024
Glukoz (mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
TG (mg/dl)	r	-0.164	-0.258	-0.120
	p	0.014	0.012	0.170
TK(mg/dl)	r	ns	ns	-0.172
	p			0.049
HDL-K(mg/dl)	r	0.142	0.265	ns
	p	0.032	0.010	
LDL-K(mg/dl)	r	-0.160	ns	-0.176
	p	0.016		0.043
Non-HDL-K(mg/dl)	r	-0.208	-0.257	-0.213
	p	0.002	0.011	0.014
Apo A1(mg/dl)	r	ns	0.261	ns
	p		0.011	
Apo B(mg/dl)	r	-0.195	ns	-0.204
	p	0.003		0.019
Apo B/Apo A1	r	-0.245	-0.274	-0.229
	p	<0.001	0.008	0.008
İnsulin (uU/mL)	r	ns	ns	ns
	p			
HOMA-IR	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı, ns: not significant

Tüm grupta İB düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve demografik veriler arasında gözlenen ilişki Tablo 4.7 'de gösterildi. İB düzeyleri ile vücut ağırlığı ve VKİ arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. İB düzeyleri ile SKB değerleri arasında anlamlı pozitif yönde ilişki saptanırken ($p=0.003$), DKB ile arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Tablo 4.7. İB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki*

Değişkenler		Tüm Grup (n=226)	Kız(n=94)	Erkek(n=143)
Yaş	r	ns	ns	ns
	p			
Vücut Ağırlığı(kg)	r	ns	ns	ns
	p			
Boy(cm)	r	0.180	ns	ns
	p	0.007		
VKİ(kg/	r	ns	ns	ns
	p			
SKB(mmHg)	r	0.199	ns	0.181
	p	0.003		0.038
DKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı ; ns: not significant

İB düzeyleri ile hs CRP, TG, non-HDL-K, insulin düzeyleri, Apo B/Apo A1 ve HOMA-IR değerleri arasında düşük düzeyde negatif yönde anlamlı ilişki ($p=0.001$, $p=0,029$, $p=0,035$, $p<0.001$, $p=0.010$, $p<0.001$) olduğu saptandı. İB düzeyleri ile HDL-K düzeyleri arasında düşük düzeyde pozitif yönde anlamlı ilişki ($p=0.025$) bulundu. İB düzeyleri ile oks-LDL, TNF α , glukoz, TK, LDL-K, Apo A1 ve Apo B düzeyleri arasında ise anlamlı ilişki saptanmadı. Hem kız hem de erkek çocuklarında İB düzeyleri ile insulin, HOMA-IR değerleri arasında düşük düzeyde anlamlı negatif yönlü ilişkinin olduğu saptandı. Ayrıca kız çocuklarında tüm gruptan farklı olarak İB düzeyi ile Apo A1 düzeyi arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu($p=0.011$). Her iki cinsiyette tüm gruptakine benzer şekilde İB düzeyleri ile oks-LDL, TNF-alfa, glukoz, TK, LDL-K, Apo B düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. İB düzeyleri ile ölçülen laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki*

Değişkenler		İB		
		Tüm grup (n=143)	Kız (n=70)	Erkek (n=73)
Tbil(mg/dl)	r	0.970	0.973	0.967
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Dbil(mg/dl)	r	0.621	0.675	0.586
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Oks-LDL(ng/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
TNF alfa(pg/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
hs CRP (mg/L)	r	-0.215	ns	-0.315
	p	0.001		<0.001
Glukoz (mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
TG (mg/dl)	r	-0.145	ns	-0.176
	p	0.029		0.044
TK(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
HDL-K(mg/dl)	r	0.149	0.222	ns
	p	0.025	0.031	
LDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Non-HDL-K(mg/dl)	r	-0.140	ns	ns
	p	0.035		
Apo A1(mg/dl)	r	ns	0.260	ns
	p		0.011	
Apo B(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B/Apo A1	r	-0.170	ns	ns
	p	0.010		
İnsulin (uU/mL)	r	-0.333	-0.300	-0.359
	p	<0.001	0.03	<0.001
HOMA-IR	r	-0.335	-0.297	-0.367
	p	<0.001	0.004	<0.001

*Spearman korelasyon analizi p<0.05; r: Spearman korelasyon katsayısı ; ns: not significant

226 çocuk arasında KİMK'sı ölçülen 143 çocuğun demografik ve antropometrik değerleri Tablo 4.9'da verildi. Bu grupta da kız ve erkek çocukları arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. VKİ değerleri açısından kız çocukları ile erkek çocukları arasında anlamlı farklılık saptanmazken; vücut ağırlığı ve boy gibi diğer antropometrik ölçümlerin kız çocuklarında daha düşük olduğu görüldü ($p<0,001$; $p<0,001$). Erkek çocuklarının SKB değerleri de kız çocuklarına göre daha yüksekti ($p<0.001$).

Tablo 4.9. KİMK'sı ölçülen çocukların demografik ve antropometrik değerleri*

	Tüm Grup	Kız	Erkek	p değeri[†]
Kişi sayısı(n)	143	70	73	ns
Yaş(yıl)	15 (14-16)	15(14- 16)	15 (15-16)	ns
Vücut Ağırlığı(kg)	60 (54-69)	56 (52-63)	67 (59-72)	<0.001
Boy(cm)	170 (165-176)	166 (162-169)	174 (169-179)	<0.001
VKİ(kg/m²)	21 (19-23)	20 (19-23)	21 (19-23)	ns
SKB(mmHg)	122 (115-129)	119 (111-126)	126 (119-130)	<0.001
DKB(mmHg)	68 (64-75)	63 (63-75)	69 (65-75)	ns

*Mann Whitney U Median (%25-%75), [†]Kız ve erkek çocukların karşılaştırma sonuçları.ns: not significant

KİMK'sı ölçülen çocukların laboratuvar test sonuçları Tablo 4.10' da gösterildi. TB, DB, İB düzeylerinin median değerleri sırasıyla 0.40, 0.13, 0.27 mg/dl olarak bulundu. TB, İB düzeyleri açısından kız ve erkek çocukları arasında anlamlı farklılık saptanmazken, erkeklerde DB düzeylerinin kız çocuklara göre daha yüksek olduğu görüldü ($p=0.026$). Kız çocuklarının serum TK, LDL-K, Apo B düzeylerinin erkek çocuklarına göre anlamlı şekilde daha yüksek olduğu saptandı ($p=0.016$, $p=0.014$, $p=0.026$).

Tablo 4.10. KİMK'sı ölçülen çocukların laboratuvar değerleri*

Değişkenler	Tüm Grup	Kız	Erkek	p değeri [†]
	(n=226)	(n=94)	(n=132)	
TB (mg/dl)	0.40 (0.29-0.57)	0.39 (0.26-0.52)	0.42 (0.31-0.65)	ns
DB (mg/dl)	0.13 (0.09-0.17)	0.12 (0.08-0.15)	0.13 (0.10-0.19)	0.026
İB (mg/dl)	0.27 (0.19-0.41)	0.27 (0.18-0.38)	0.27 (0.20-0.46)	ns
Oks-LDL (ng/ml)	109 (29.5-268)	132 (48,5-384)	92 (24,5-225)	ns
TNF alfa (pg/ml)	3.92 (2.56-5.63)	3.51 (1.94-5.57)	4.19 (3.13-5.75)	ns
hs CRP (mg/L)	0.59 (0.26-1.36)	0.51 (0.26-1.21)	0.66 (0.22-1.57)	ns
Glukoz (mg/dl)	86 (80-91)	85 (79.7-90)	87 (81-93)	ns
TG (mg/dl)	104 (74-141)	96 (69-139)	114 (77-153)	ns
TK (mg/dl)	148 (132-167)	152 (137-170)	142 (126-163)	0.016
HDL-K (mg/dl)	49 (42-57)	51 (44-59)	48 (40-57)	ns
LDL-K (mg/dl)	86 (72-102)	89 (77-103)	78 (63-98)	0.014
Non-HDL-K (mg/dl)	97 (83-115)	99 (88-118)	92 (75-109)	ns
Apo A1 (mg/dl)	132 (119-144)	136 (126-145)	130 (117-143)	ns
Apo B (mg/dl)	72 (63-83)	75 (65-85)	68 (58-81)	0.026
Apo B/Apo A1	0.52 (0.44-0.61)	0.54 (0.48-0.62)	0.51 (0.44-0.63)	ns
İnsulin (uU/mL)	14.6 (8.85-24)	14 (9.5-23)	18 (10-28)	ns
HOMA-IR	3.14 (1.83-5.10)	3.08 (1.89-5.06)	3.80 (2.07-6.59)	ns

*Mann Whitney U Median (%25-%75), [†]Kız ve erkek çocukların karşılaştırma sonuçları; ns: not significant

KİMK'sı ölçülen çocukların TB düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve demografik veriler arasında gözlenen ilişki Tablo 4.11'de, DB düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve demografik veriler arasında gözlenen ilişki Tablo 4.13'te, İB düzeyleri ile antropometrik ölçümler ve demografik veriler arasında gözlenen ilişki Tablo 4.15'te gösterildi.

Tablo 4.11. KİMİK'sı ölçülen çocukların TB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki*

Değişkenler		Tüm Grup (n=226)	Kız(n=94)	Erkek(n=143)
Yaş	r	0.198	ns	ns
	p	0.018		
Vücut Ağırlığı(kg)	r	ns	ns	ns
	p			
Boy(cm)	r	0.189	ns	ns
	p	0.024		
VKİ(kg/	r	ns	ns	ns
	p			
SKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			
DKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi $p < 0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı; ns: not significant

Tablo 4.12. KİMİK'sı ölçülen çocukların DB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki*

Değişkenler		Tüm Grup (n=226)	Kız(n=94)	Erkek(n=143)
Yaş	r	0.262	0.271	ns
	p	0.002	0.023	
Vücut Ağırlığı(kg)	r	ns	ns	ns
	p			
Boy(cm)	r	0.181	ns	ns
	p	0.031		
VKİ(kg/	r	ns	ns	ns
	p			
SKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			
DKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi $p < 0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı; ns: not significant

Tablo 4.13. KİMK'sı ölçülen çocukların İB düzeyleri ile demografik veriler ve antropometrik ölçümler arasındaki ilişki*

Değişkenler		Tüm Grup (n=143)	Kız(n=70)	Erkek(n=73)
Yaş	r	ns	ns	ns
	p			
Vücut Ağırlığı(kg)	r	ns	ns	ns
	p			
Boy(cm)	r	0.169	ns	ns
	p	0.044		
VKİ(kg/	r	ns	ns	ns
	p			
SKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			
DKB(mmHg)	r	ns	ns	ns
	p			

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı; ns: not significant

KİMK'sı ölçülen çocukların TB düzeyleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki Tablo 4.12'de, DB düzeyleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki Tablo 4.14'te, İB düzeyleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki ise Tablo 4.16'da gösterildi. TB, DB, İB düzeylerinin hsCRP, TG, insulin düzeyleri ve HOMA-IR, Apo B/Apo A1 değerleri ile arasında düşük düzeyde negatif yönde anlamlı ilişki olduğu saptandı. TB ve DB düzeylerinin İB düzeylerinden farklı olarak non HDL-K düzeyleri ile düşük düzeyde negatif yönde anlamlı ilişki gösterdiği saptandı. DB düzeylerinin, TB ve İB'den farklı olarak glukoz düzeyleri ile arasında düşük düzeyde negatif yönde anlamlı ilişki olduğu görüldü. Bilirubin her üç formunun düzeyleri ile oks-LDL, TNF α , TK, HDL-K, LDL-K, Apo A1, Apo B düzeyleri arasında anlamlı ilişki olmadığı görüldü (Tablo 4.12, Tablo 4.14, Tablo 4.16).

Tablo 4.14. KİMK'sı ölçülen çocukların TB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki*

Değişkenler		TB		
		Tüm grup (n=226)	Kız (n=70)	Erkek (n=73)
DB(mg/dl)	r	0.829	0.756	0.889
	p	<0.001	<0.001	<0.001
İB(mg/dl)	r	0.969	0.964	0.971
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Oks-LDL(ng/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
TNF alfa(pg/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
hs CRP (mg/L)	r	-0.244	ns	-0.442
	p	0.003		<0.001
Glukoz (mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
TG (mg/dl)	r	-0.224	-0.236	-0.236
	p	0.007	0.049	0.031
TK(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
HDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
LDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Non-HDL-K(mg/dl)	r	-0.172	ns	ns
	p	0.040		
Apo A1(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B/Apo A1	r	-0.194	-0.258	ns
	p	0.020	0.031	
İnsulin (uU/mL)	r	-0.360	-0.257	-0.505
	p	<0.001	0.032	<0.001
HOMA-IR	r	-0.374	-0.284	-0.504
	p	<0.001	0.017	<0.001

*Spearman korelasyon analizi p<0.05; r: Spearman korelasyon katsayısı ; ns: not significant

Tablo 4.15. KİMİK'sı ölçülen çocukların DB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki*

Değişkenler		DB		
		Tüm grup (n=143)	Kız (n=70)	Erkek (n=73)
TB(mg/dl)	r	0.829	0.756	0.889
	p	<0.001	<0.001	<0.001
İB(mg/dl)	r	0.689	0.585	0.780
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Oks-LDL(ng/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
TNF alfa(pg/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
hs CRP (mg/L)	r	-0.200	ns	-0.334
	p	0.016		0.004
Glukoz (mg/dl)	r	-0.172	-0.246	ns
	p	0.040	0.040	
TG (mg/dl)	r	-0.201	-0.306	ns
	p	0.016	0.010	
TK(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
HDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
LDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Non-HDL-K(mg/dl)	r	-0.191	ns	ns
	p	0.022		
Apo A1(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B/Apo A1	r	-0.193	-0.245	ns
	p	0.021	0.041	
İnsulin (uU/mL)	r	-0.184	ns	-0.336
	p	0.027		0.004
HOMA-IR	r	-0.202	ns	-0.330
	p	0.016		0.004

*Spearman korelasyon analizi p<0.05; r: Spearman korelasyon katsayısı

Tablo 4.16. KİMİK'sı ölçülen çocukların İB düzeyleri ile ölçülen parametreler arasındaki ilişki*

Değişkenler		İB		
		Tüm grup (n=143)	Kız (n=70)	Erkek (n=73)
TB(mg/dl)	r	0.969	0.964	0.971
	p	<0.001	<0.001	<0.001
DB(mg/dl)	r	0.689	0.585	0.780
	p	<0.001	<0.001	<0.001
Oks-LDL(ng/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
TNF alfa(pg/ml)	r	ns	ns	ns
	p			
hs CRP (mg/L)	r	-0.243	ns	-0.471
	p	0.030		<0.001
Glukoz (mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
TG (mg/dl)	r	-0.185	ns	-0.247
	p	0.027		0.035
TK(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
HDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
LDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Non-HDL-K(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo A1(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B(mg/dl)	r	ns	ns	ns
	p			
Apo B/Apo A1	r	-0.193	ns	ns
	p	0.021		
İnsulin (uU/mL)	r	-0.376	-0.271	-0.516
	p	<0.001	0.023	<0.001
HOMA-IR	r	-0.389	-0.289	-0.519
	p	<0.001	0.015	<0.001

*Spearman korelasyon analizi p<0.05; r: Spearman korelasyon katsayısı

143 kişide ölçülen TB, DB, İB düzeyleri ile sağ ve sol KİMK arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 4.17, Tablo 4.18, Tablo 4.19). Sonuçlar cinsiyete göre değerlendirildiğinde ise sadece erkeklerde DB düzeyleri ile sol KİMK arasında düşük düzeyde negatif yönde anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur($p=0.022$) (Tablo 4.18).

Tablo 4.17. Total bilirubin düzeyleri ile KİMK kalınlığı arasındaki ilişki*

Değişkenler		TB		
		Tüm Grup	Kız	Erkek
		(n=143)	(n=70)	(n=73)
Sağ KİMK(mm)	r	0.049	0.140	-0.035
	p	0.561	0.248	0.771
Sol KİMK(mm)	r	0.010	0.222	-0.203
	p	0.901	0.065	0.085

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı

Tablo 4.18. Direkt bilirubin düzeyleri İle KİMK kalınlığı arasındaki ilişki*

Değişkenler		DB		
		Tüm Grup	Kız	Erkek
		(n=143)	(n=70)	(n=73)
Sağ KİMK(mm)	r	0.021	0.139	-0.091
	p	0.806	0.252	0.441
Sol KİMK(mm)	r	-0.006	0.232	-0.268
	p	0.942	0.053	0.022

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı

Tablo 4.19. İndirekt bilirubin düzeyleri ile KİMK kalınlığı arasındaki ilişki*

Değişkenler		İB		
		Tüm Grup	Kız	Erkek
		(n=143)	(n=70)	(n=73)
Sağ KİMK(mm)	r	0.060	0.142	0.004
	p	0.479	0.240	0.973
Sol KİMK(mm)	r	-0.021	0.204	-0.150
	p	0.804	0.090	0.204

*Spearman korelasyon analizi $p<0.05$; r: Spearman korelasyon katsayısı

5. TARTIŞMA

Hem katabolizmasının son ürünü olan bilirubin uzun yıllar toksik bir metabolit olarak değerlendirilmiş (101) ve sadece karaciğer ile ilgili patolojilerle veya hemolitik durumlarla ilişkilendirilmiştir (39). Daha sonra yapılan birçok çalışma ile antioksidan, antiinflamatuvar özelliklerinin olduğu gösterilen bilirubinin bu özellikleri sayesinde ateroskleroz gelişimine karşı koruyucu olabileceği belirtilmiştir (101). Bilirubinin ateroprotektif etkilerinin olduğunu destekler nitelikte bir çalışmada genel popülasyonda % 12.1 bulunan koroner kalp hastalığı (KKH) prevalansının Gilbert sendromlu hastalarda sadece %2 olduğu tespit edilmiştir (102). Bazı çalışmalarda bilirubin ile KAH arasındaki ilişkinin , HDL-K ile KAH arasında gözlenen ilişkiye benzer olduğu belirtilmiştir (101). Düşük serum bilirubin düzeylerinin KVH riskini arttıran DM ve MS gibi hastalıkların varlığı ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (14).

Erişkinlerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda TB düzeylerinin LDL-K, TG, açlık glikozu gibi birçok kardiyometabolik risk faktörü ile de bağımsız bir ilişkiye sahip olduğu saptanmıştır (5). Sağlıklı erişkinlerde bilirubin ile aterosklerozun erken bulgusu olarak gösterilen KİMK arasında negatif yönde ilişkinin olduğu gösterilmiştir (11).

Yetişkinlerde bilirubin ile KVH ve ateroskleroz gelişimiyle ilişkili bazı parametreler arasındaki ilişkinin incelendiği çok sayıda çalışma bulunmakta olup 14-17 yaş arasındaki sağlıklı çocuklarda yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan otopsi çalışmalarında aterosklerotik sürecin çocukluk çağında başladığı gösterilmiş, çocuklarda ateroskleroz gelişimi ile yetişkinlerde kardiyovasküler hastalıklar açısından iyi bilinen risk faktörleri (obezite, dislipidemi, hipertansiyon, sigara dumanına maruziyet gibi) arasında ilişki olduğu ortaya konmuştur(103)

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda bilirubin ile bazı kardiyometabolik parametreler ve KİMK arasındaki ilişkinin sağlıklı çocuklarda incelenmesi amaçlanmıştır.

Bilirubinin ateroprotektif etkilerinin nedeni olarak gösterilen mekanizmaların içerisinde en yaygın kabul göreni lipid oksidasyonunun bilirubin aracılı inhibisyonudur (39).

Okside LDL köpük hücre oluşumunu kolaylaştırmakla birlikte, monosit, T lenfositleri ve düz kas hücreleri için kemotaktiktir. Ayrıca sitotoksik etkileri de bulunmaktadır. Bu biyolojik özelliklere dayanarak, LDL oksidasyonu, aterosklerozun gelişimi ile ilgili oldukça önemli bir faktör olarak görülmektedir (104). Ailesel hiperkolesterolemili akrabaları olan asemptomatik kişilerde, orta yaşlı erkeklerde ve çocuklarda dolaşımdaki artmış oks-LDL düzeylerinin KİMK artışı ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (105-108).

Bilirubinün hem konjuge olmamış hem de konjuge formlarının, LDL'yi reaktif oksijen türleriyle meydana gelen oksidasyona karşı koruduğu gösterilmiştir (109). Gilbert sendromu (GS) olan bireylerin incelenmesi, bilirubinün fizyolojik koruyucu etkilerinin araştırılmasına büyük ölçüde yardımcı olmuş olup (110), GS'li hastalarda yapılan birçok çalışmada okside LDL düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük düzeyde olduğu saptanmıştır (111-113). Çalışmamızda oks-LDL düzeyleri ile DB düzeyleri arasında düşük düzeyde negatif yönde anlamlı ilişkinin olduğu görülmüştür. Stojanov ve ark.nın (114) 18-22 yaş aralığındaki gençlerde yaptıkları çalışmada yüksek total bilirubin düzeyine sahip olan erkeklerin daha düşük oks-LDL düzeyine sahip olduğu gösterilmiştir. 11-18 yaş aralığındaki obez çocuklarda yapılan bir başka çalışmada ise yüksek oks-LDL düzeyine sahip çocukların daha düşük TB düzeyine sahip oldukları görülmüştür (115). LDL oksidasyonu bilirubin dışında albumin, askorbik asit, ürik asit, transferrin gibi birçok antioksidan tarafından engellenmektedir (104). Bu nedenle oks-LDL düzeyleri ile bilirubin düzeyleri arasındaki ilişkiyi diğer antioksidanların konsantrasyonu da etkilemiş olabilir. Çocuklarda oks-LDL ve bilirubin düzeyleri arasındaki ilişkinin daha net ortaya konması için bu antioksidanların da değerlendirildiği kapsamlı bir çalışmanın yapılması gerekebilir. Çalışmamızda çocukların bilirubin düzeylerinin önceki çalışmalarda bildirilen düzeyler kadar yüksek olmaması oks-LDL ve bilirubin arasında bir ilişkinin olmasını engellemiş olabilir. Aynı zamanda obez çocuklarda olduğu gibi patolojik durumlarda bilirubin ile oks-LDL düzeyleri arasında gözlenen negatif yönlü ilişki antioksidan olarak bilirubinün tüketilmesine bağlı olarak daha güçlü düzeyde ortaya çıkmış olabilir ve sağlıklı çocuklarda bu ilişki gözlenmeyebilir. DB'nin kanda albuminden kolayca ayrılması nedeniyle İB'ye göre daha aktif fonksiyon gösterdiği belirtilmekte olup (116), bu durum Oks-LDL düzeylerinin

bilirubin formları içerisinde sadece DB düzeyleri ile ilişki göstermesinin nedeni olabilir.

Çalışmalarda bilirubinin; ateroskleroz gelişiminde rolü olan ve adezyon moleküllerinin sentezini arttıran TNF α 'yı inhibe ederek ateroskleroza karşı koruyucu rol oynayabileceği belirtilmiştir (5). Makrofajlar, köpük hücreleri ve mast hücreleri tarafından üretilen ve proinflatuar bir sitokin olan TNF α 'nın aterosklerotik plak oluşumunda etkili olduğu insanlarda ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (117).

Obez farelerde yapılan bir çalışmada bilirubin ile tedavi sonrası farelerdeki TNF α ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (55). Diyabetik rat modellerinde yapılan bir çalışmada da intraperitoneal olarak uygulanan bilirubinin TNF α düzeylerini azalttığı ortaya konmuştur (118). Bir başka çalışmada ise TNF α ile in vitro olarak fare endotel hücrelerinde oluşturulan endoteliyal disfonksiyonunun fizyolojik düzeylerde konjuge olmamış bilirubin verilmesi ile önlenebileceği gösterilmiştir (119). İnsan umbilikal ven endoteliyal hücrelerine TNF α ve ankonjuge bilirubinin uygulandığı bir çalışmada ise TNF α aracılığıyla gerçekleşen VCAM-1 ve ICAM-1 gen upregülasyonunun baskılandığı gözlenmiştir (41).

Çalışmamızda bilirubin düzeyleri ile TNF α arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamış olup, çocuklarda TNF α düzeyleri ile bilirubin arasındaki ilişkinin incelendiği başka çalışmaya da rastlanmamıştır. Çalışmalarda TNF α konsantrasyonunun aterosklerozun derecesi ve aterosklerozun belirteci olarak kullanılan KİMK ile korele olduğu belirtilmiştir [124]. Çalışmamızda bilirubin ile TNF α düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulunmaması; sağlıklı çocuklarda aterosklerozun derecesinin çok düşük düzeylerde olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca in vitro çalışmalarda gösterildiği gibi TNF α ile bilirubin arasında gözlenen ilişki doku düzeyinde daha güçlü ortaya çıkabilir (41).

Mevcut kanıtlar, kronik subklinik inflamasyonun, ateroskleroz oluşumunda ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceğine işaret etmiş olup birçok çalışmada CRP seviyeleri ile ateroskleroz arasındaki ilişki araştırılmıştır (120).

CRP özellikle IL-6'ya, daha az oranda IL-1'e ve TNF α 'ya yanıt olarak karaciğer tarafından üretilen bir akut faz proteindir (121). Deneysel çalışmalarla, CRP'nin vasküler duvar üzerinde proaterojenik etkileri olduğu ortaya konulmuş, CRP

seviyelerinin, sadece kardiyovasküler hastalığı olan hastalarda değil, aynı zamanda sağlıklı olan kişilerde de akut koroner olayları öngörebileceği gösterilmiştir (122).

Günümüzde yüksek duyarlıklı test teknikleri CRP'yi 0.01-10 mg /l hassasiyet aralığında tespit edebilmektedir. Bu yüksek duyarlıklı testler, belirgin sistemik inflamatuvar veya immünolojik bozuklukların bulunmadığı düşük dereceli sistemik inflamasyonun miktarını belirlemeye yardımcı olmaktadır. hsCRP, KVH risk tahmininde ideal bir biyolojik belirteç anlamında en çok değerlendirilen belirteçtir (123).

Yüksek bilirubin düzeylerinin antiinflamatuvar etkilerinin olduğu ve sistemik inflamasyonda azalmaya katkıda bulunabileceği fikri, yetişkinlerde serum bilirubin düzeyleri ile hs-CRP düzeyleri arasında negatif yönde ilişki olduğunu gösteren çalışmalarla daha da güçlenmiştir (5, 11, 13)

Wang ve Kim'in (124) yetişkinlerde yaptığı bir çalışmada bilirubinin tüm formları ile hsCRP arasında negatif yönde ilişkinin olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda da yetişkinlerde gözlenen sonuçlarla uyumlu olarak her üç bilirubin formu ile hsCRP düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı korelasyon olduğu gözlenmiştir.

Güncel kanıtlar; oksidatif stresin, aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde önemli rolü olduğunu göstermiştir. Normalde oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizması tam bir denge halinde çalışırken bu dengenin radikallerin lehine bozulmasıyla oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri pro-oksidan enzimlerin aktivitesini arttırarak ya da sitokinlerin üretimini uyararak inflamasyonu tetikleyebilmektedir. Çalışmamızda bilirubin ile hsCRP arasında negatif yönde korelasyonun gözlenmesi bilirubinin antioksidan özelliklerinin etkisi aracılığıyla olmuş olabilir (124).

Gilbert sendromlu hastalarda da hsCRP düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (125). Gilbert sendromlu kişilerde yapılan başka çalışmalarda CRP'nin karaciğerden sentezini uyaran IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür (8, 126). Çalışmamızda IL-6 düzeyleri ile bilirubin arasındaki ilişki incelenmemiş olup bilirubinin hsCRP düzeylerine etkisi Gilbert sendromlu kişilerde olduğu gibi IL-6 üzerinden de gerçekleşmiş olabilir.

Sağlıklı çocuklarda yüksek CRP düzeylerinin, geleneksel risk belirteçlerinden bağımsız olarak endotel bağımlı vazodilatatör yanıtın azalışı gibi fonksiyonel ve KİMK artışı gibi yapısal erken aterosklerotik vasküler değişikliklerle ilişkili olduğu belirtilmiş olup (127), çalışmamızda hsCRP düzeyleri ile bilirubin arasında gözlenen negatif yönde ilişkinin önemli olduğu ve bilirubinün erken dönemde olası ateroprotektif etkilerine aracılık edebileceği düşünülmüştür. Bu konunun aydınlatılması için bilirubin ile hsCRP arasındaki ilişkinin incelendiği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yetişkinlerde düşük bilirubin düzeylerinin açlık glukozu, trigliserit, LDL-K, kan basıncı ve insülin direnci gibi kardiyometabolik risk faktörleri ve bu risk faktörleriyle ilişkili arteriyel hipertansiyon, DM, MS ve obezite gibi KVH gelişimine yol açtığı bilinen durumlarla ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (5, 14).

12-17 yaş aralığındaki çocuk ve adolesanlarda yapılan bir çalışmada da serum TB düzeylerinin MS prevalansı ile ters orantılı olduğu bulunmuş; düşük serum bilirubin düzeylerinin artmış insülin direnci (HOMA-IR) ve insülin seviyeleri ile kuvvetli ilişkisi olduğu gösterilmiştir. MS ile total bilirubin arasında bulunan bu ilişkinin, bilirubinün insülin direnci üzerine etkisinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (15).

Çalışmamızda TB, İB düzeyleri ile insülin seviyeleri ve HOMA-IR değerleri arasında negatif yönde anlamlı ilişki saptanırken TB, DB, İB ile glukoz düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır

5-17 yaş aralığındaki çocukların yer aldığı, serum TB düzeyleri ile KVH risk faktörleri arasındaki ilişkinin incelendiği bir başka çalışmada sadece siyah ırktaki kız çocuklarında bilirubin ile glukoz düzeyleri arasında, siyah ırktaki kız çocukları dışındaki çocuklarda ise bilirubin ile insülin düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır (128). Belo ve ark.nın (129) çocuk ve adolesanlarda yaptığı bir çalışmada TB düzeyleri ile insülin direnci (HOMA-IR) arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Hwang ve arkadaşlarının yetişkinlerde yaptığı bir çalışmada hem erkeklerde hem de kadınlarda çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde TB, İB düzeyleri ile HOMA-IR değerleri ve açlık insülin düzeyleri arasında negatif yönlü ilişki olduğu saptanmış, bizden farklı olarak DB düzeyleri ile de bu parametreler arasında ilişki

olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada DB düzeylerinin daha yüksek olmasının bu farklılığa neden olabileceği düşünülmüştür (124).

Guzek ve arkadaşlarının yetişkinlerde yaptığı çalışmada da çalışma bulgularımıza benzer şekilde TB düzeylerinin insülin direnci ile ters orantılı olduğu gösterilirken; TB ile glukoz düzeyleri arasında anlamlı ilişki olmadığı tespit edilmiştir (130). Yetişkinlerde yapılan bir başka çalışmada da TB düzeyleri ile açlık glukoz düzeyleri arasında ilişki olmadığı gözlenmiştir (131).

Wu ve ark.nın (132) yetişkinlerde yaptığı bir çalışmada fizyolojik aralıktaki TB düzeylerinin insülin direnci ve hiperinsülinemi ile ters yönde ilişkisinin olduğu gösterilmiştir.

İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışmada insülin direnci oksidatif stres ile ilişkili bulunmuş, oksidatif strese maruz kalan hücrelerde insülin sinyal iletimi komponentlerinin inhibe olduğu gösterilmiştir (133). Hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar ile bilirubinin; beta hücrelerini oksidatif hasardan koruyabileceği (134, 135), oksidatif stres ve inflamasyonu azaltarak insülin duyarlılığını arttırabileceği ortaya konulmuştur (54, 55, 136). Çalışmamızda bilirubin ile insülin düzeyleri ve HOMA-IR düzeyleri arasında gözlenen ilişki bilirubinin antioksidan özelliğinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca çalışmamızda bilirubin düzeyleri ile hsCRP düzeyleri arasında da negatif yönde ilişki bulunmuş olup bilirubinin antiinflamatuvar etkilerinin de bu sonuçların ortaya çıkmasında rolü olabilir.

Hayvan çalışmalarında bilirubinin insülin direncini ve glukoz düzeylerini PPAR γ geninin ekspresyonunu arttırarak (55) ya da endoplazmik retikulum stresini azaltarak düşürebileceği gösterilmiştir (54). Bilirubinin insülin duyarlılığı ile ilişkisinde bu çalışmalarda belirtilen mekanizmalar da etkili olmuş olabilir.

Ergenlik döneminde çocukların patolojik olmayan geçici bir insülin direnci durumu geliştirmekte olduğu belirtilmiş olup; ergenlik döneminin başlangıcında insülin direncinin artmaya başladığı, her iki cinsiyette 12-14 yaş arasında (Tanner evre 3) pik yaptığı, 16 yaş üzerinde pubertenin sonunda (Tanner evre 5) ise prepubertal seviyelere geri döndüğü gösterilmiştir (137). Bu dönemde artan insülin direnci insülin sekresyon artışı ile telafi edilmekte olup, insülin hipersekresyonunun puberteye bağlı dolaşımdaki büyüme hormonu miktarındaki artıştan

kaynaklanabileceği belirtilmiş ya da vücut kompozisyonundaki değişikliklerle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Bu dönemde kan basıncı, lipid profili ve vücut yağ kompozisyonunda da değişiklikler olabileceği belirtilerek; bu dönemin metabolik sendrom gelişimi için kritik bir dönem olduğu ifade edilmiştir (138).

Çalışmamızda çocukların pubertal gelişimlerine göre buldukları evre ortaya konmamıştır. Bu durum da dikkate alınarak adolesanlarda bilirubin düzeyleri ile insulin direnci arasındaki ilişkinin incelenmesi bilirubinin bu dönemdeki olası koruyucu etkilerinin ortaya konması açısından önemli olabilir. Ateroskleroza yol açan risk faktörleri arasında metabolik sendromun, kardiyovasküler olayların güçlü ve yaygın bir öngörücüsü olduğuna dair kanıtlar artmakta olup, bilirubinin metabolik sendromun en önemli nedeni olan insulin direnci ile arasındaki ilişkisinin ortaya konması çocuklarda düşük bilirubin düzeylerinin metabolik sendrom gelişiminde risk faktörü olarak değerlendirilip değerlendirilmemesi konusunda faydalı bilgiler sağlayabilir. Bilirubin ile glukoz, insulin, insulin direnci arasında gözlenen ilişkiden hem oksijenaz enzim sisteminin de sorumlu olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bir çalışmada diyabetik ratlara HO enzim sistemini aktive eden "hemin" molekülü verilmesiyle ratların kas dokusundaki GLUT-4 mRNA ekspresyonunun ve insülin duyarlılığını arttırıcı etki gösteren plazma adiponektin düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (139). Ratlarda yapılan bir başka çalışmada yüksek glukoz düzeylerinin; pankreatik beta hücrelerinde hiperglisemiye bağlı adacık hücrelerinde artan intraselüler peroksit seviyelerine paralel bir şekilde HO-1 gen ekspresyonunda artış sağladığı gösterilmiştir (140, 141).

Çalışmamızda yer alan çocuklar sağlıklı olup, patolojik düzeylerdeki glukoz düzeylerine sahip çocuklar çalışma dışı bırakılmıştır. Patolojik glukoz düzeyleri artışında gözlenen HO-1 cevabı ve bunun bilirubine etkisi çalışmamızda gözlenmemiş olabileceğinden bilirubin düzeyleri ile glukoz düzeyleri arasında bir ilişki ortaya çıkmamış olabilir. Çalışmalardaki değişik sonuçlar HO-1 enzim sisteminin bireyler arası farklılığından da kaynaklanabilir.

Çalışmamızda bilirubinin herhangi bir formu ile VKİ arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. 4-18 yaş aralığındaki çocuklarda yapılan bir çalışmada hem obez hem de normal kilolu çocukların TB düzeyleri ile VKİ ve hemoglobin düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. VKİ'deki artışın vücut

dokularına yeterli oksijenasyon sağlamak için eritropoezi tetikleyebileceği ve bunun sonucunda bilirubin düzeylerinde artış olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada hemoglobin düzeyinin obezlerde kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen bilirubin düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark olmayışı obezite durumunda artmış oksidatif stres ve inflamatuvar durumla ilişkili olarak, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler gösteren bilirubinin tüketilmesi ile açıklanmıştır (129).

Andersson ve ark.nın (142) yaptığı bir çalışmada aşırı kilolu veya obez kişilerde sibutraminle tedavi uygulanması sonucu gerçekleşen kilo kaybına bilirubin konsantrasyonlarının orantılı olarak artarak eşlik ettiği gözlemlenmiş ve kilo kaybı sonucu obezite ile ilişkili inflamasyonun ve oksidatif stresin azalmasının kısmen bilirubin seviyelerinin yükselişine neden olabileceği belirtilmiştir.

Bilirubin düzeyleri ile vücut ağırlığı, VKİ arasındaki ilişki obezite gibi patolojik durumlarda farklılıklar gösterebilir. Bireylerin vücut ağırlığı ile oksidatif stres durumu arasındaki denge bilirubin düzeyleri VKİ gibi parametreler arasında farklı sonuçların çıkmasında etkili olabilir. Çalışmamızda obez çocuklar dışlanmış olduğundan obezite gibi risk faktörüne sahip çocuklarda daha farklı sonuçlar bulunabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda her üç bilirubin formunun düzeyleri ile sistolik kan basıncı arasında anlamlı pozitif yönde ilişki olduğu gözlenmiş, bilirubin düzeyleri ile diyastolik kan basıncı arasında ise anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalarla, bilirubinin kan basıncını azaltabileceği belirtilmiştir. Örneğin, HO-1 knockout farelerin tek taraflı nefrektomi ve deoksikortikosteron asetat (DOCA) uygulaması sonrası sistolik hipertansiyon geliştirdiği gözlenirken HO-1 intakt farelerin normotansif kaldıkları gözlenmiştir(143). Ayrıca Gunn ratların anjiyotensin II (ANG II) ile indüklenen hipertansiyona daha dirençli olduğu gösterilmiştir(110). Yetişkinlerde yapılan bir çalışmada yüksek serum bilirubin düzeylerinin düşük sistolik kan basıncı ile ilişkili olduğu saptanırken diyastolik kan basıncı açısından böyle bir ilişki tespit edilmemiştir. Oksidatif stres hipertansiyon gelişiminde rol oynayan ana mekanizmalardan biri olduğu için bilirubinin kan basıncı üzerindeki koruyucu etkisinin antioksidan özelliklerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Nitrik oksit (NO) ile etkileşime girerek, peroksinitrit oluşturan ve NO'nun vazodilatatör etkisinin

yok olmasına neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) bilirubin tarafından nötralize edilmesinin bilirubin ile kan basıncı arasındaki ilişkide etkili olabileceği belirtilmiştir (34).

Bilirubin kan basıncı üzerine etkisi olmadığına dair çalışmalar da bulunmaktadır. GS'li hastaların kontrol grubuna göre sistolik ve diyastolik kan basıncı değerlerinde belirgin bir farklılık olmadığı gösterilmiştir(111).

Serum bilirubin düzeyleri ile kardiyovasküler hastalık risk faktörleri arasındaki ilişkinin incelendiği 5-17 yaş aralığındaki çocuklarda yapılan çalışmada da bilirubin düzeyleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncı arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (128).

Bilirubin KVKH'ya karşı olası koruyucu etkileri araştırılırken KVKH patogeneğinde yer alan lipid parametreleri ile bilirubin arasındaki ilişki de incelenmiştir.

Bilirubin ve lipid düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen ve erkeklerde yapılan ilk çalışmada yüksek bilirubin düzeyine sahip olan kişilerin daha yüksek HDL-K, daha düşük TK düzeyine sahip oldukları gösterilmiştir (12) Daha sonra yapılan çalışmaların bazılarında TB düzeylerinin total kolesterol (56, 57, 144) ve non-HDL-K kolesterol (57, 145) ile negatif yönde, HDL-K ile ise pozitif yönde ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (5, 56, 58, 145, 146). Sağlıklı yetişkinlerin incelendiği bu çalışmaların çoğunda yüksek bilirubin düzeylerine sahip olan kişilerin daha düşük trigliserit düzeyine sahip oldukları gözlenmiştir (56-58, 145, 146). Yetişkinlerde yapılan bir başka çalışmada ise TB düzeyleri ile lipid parametreleri arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (65).

Wallner ve ark.nın [8] yaptığı çalışmada GS'li kişilerin kontrol grubuna göre daha düşük TG, TK ve LDL-K düzeyine sahip oldukları gösterilmiştir.

Bilirubin ile lipid parametreleri arasındaki ilişki hayvan çalışmalarıyla da incelenmiştir. Bilirubin konjugasyonunun tamamen bozuk olduğu hiperbilirubinemik rat modeli olan Gunn ratların daha düşük TK ve non-HDL-K düzeyine sahip oldukları gösterilmiştir (135, 147).

Çocuklarda bilirubin düzeyleri ile lipid parametreleri arasındaki ilişkinin incelendiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan birisi olan ve daha önce bahsettiğimiz beyaz ve siyah ırktan 5-17 yaş aralığındaki çocukların yer aldığı

çalışmada sadece siyah ırktaki erkek çocukların TB düzeyleri ile TK ve LDL-K düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur. Siyah ırktaki kız çocukları hariç diğer çocuklarda TB düzeyleri ile trigliserit düzeyleri arasında anlamlı negatif yönde ilişki olduğu gözlenirken, siyah ırktaki erkek çocukları dışında diğer çocukların TB düzeyleri ile HDL-K düzeyleri arasında anlamlı pozitif yönde ilişki olduğu saptanmıştır (128).

12-17 yaş aralığındaki çocuklarda yapılan bir çalışmada ise yüksek TB düzeylerinin metabolik sendrom parametreleri içinde yer alan düşük HDL-K düzeyleri ile negatif yönde anlamlı korelasyon gösterdiği bulunmuş ancak trigliserit düzeylerinin yüksekliği ile herhangi bir ilişkisinin olmadığı saptanmıştır (15).

Bu çalışmaların bazıları ile uyumlu olarak çalışmamızda da TB düzeyleri ile trigliserit, LDL ve non HDL-K düzeyleri arasında negatif; HDL-K düzeyleri ile arasında ise pozitif yönde anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca DB ve İB düzeyleri ile de trigliserit düzeyleri arasında negatif, HDL-K düzeyleri ile arasında pozitif yönde ilişki bulunmuştur. Ancak hem TB hem de DB ve İB düzeyleri ile TK düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

İnsanlarda total kolesterolün en büyük bileşenini oluşturan LDL-K düzeylerinde görülen azalmanın Gilbert sendromlularında görülen düşük kolesterol düzeylerinin ortaya çıkmasında etkili olabileceği düşünülmüştür (111). Çalışmamızda LDL-K ile bilirubin düzeyleri arasında gözlenen düşük düzeydeki ilişkiye paralel olarak bilirubin düzeyi ile TK düzeyi arasında ilişki ortaya çıkmamış olabilir. Ayrıca çocukların GS olan kişilerde olduğu gibi yüksek bilirubin düzeyine sahip olmayışı TK ile bilirubin arasında ilişkinin gözlenmemesindeki bir başka neden olabilir.

Çalışmamızda olduğu gibi yukarıda bahsettiğimiz birçok çalışmada bilirubin düzeyleri ile trigliserit düzeyleri arasında anlamlı negatif ilişki olduğu ortaya konmuştur. VLDL, karaciğerde sentezlenen trigliseriti ekstrahepatik dokulara taşıyan lipoprotein olup bilirubinün VLDL metabolizması üzerindeki olası etkisinin bu ilişkinin ortaya çıkmasında rol oynayabileceği belirtilmiştir (148). Dullaart ve ark.nın(149) çalışmasında tip 2 DM'li olan hastaların sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük TB düzeyine ve daha yüksek VLDL konsantrasyonuna sahip olduğu gösterilmiştir. GS 'li hastalarda yapılan bir çalışmada da; VLDL, VLDL

katabolizması sonucu oluşan ara yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve trigliserit düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir(150). VLDL, IDL gibi diğer lipoproteinlerin de değerlendirildiği çalışmalar bilirubin lipidler üzerindeki etkisini açıklamaya yardımcı olabilir. İnsulin direnci durumunda düşük HDL-K, yüksek TG düzeyleri genellikle gözlenmekte olup(151) çalışmamızda bilirubin ile insulin direnci arasında negatif yönlü ilişkinin gözlenmesi bilirubin ile bu lipid parametreleri arasında gözlenen ilişkinin ortaya çıkmasında etkili olmuş olabilir. Bilirubin ayrıca safraya kolesterol atılımını ya da intestinal yoldan kolesterol salgılanmasını arttırarak da lipid düzeyleri üzerinde etkili olabileceği belirtilmiştir (70).

25-40 yaş aralığındaki sağlıklı yetişkinlerde yapılan çalışmada TB düzeylerinin TK, TG, non HDL düzeyleri ile birlikte Apo B/Apo A1 değerleri arasında da negatif yönde anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur (63). Wallner ve ark.nın(8) yaptığı çalışmada GS'li kişilerin kontrol grubuna göre daha düşük TG, TC ve LDL, Apo B düzeyine ve Apo B/Apo A1 değerine sahip oldukları saptanmıştır

Çalışmamızda da TB, DB, İB düzeyleri ile Apo B/Apo A1 düzeyleri arasında negatif yönde ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca TB ve DB düzeyleri ile Apo B düzeyleri arasında da negatif yönde anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur. TB, DB, İB ile Apo A1 düzeyleri arasında ise anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Bogalusa Kalp Çalışması ve PDAY çalışmaları gibi postmortem çalışmalarda erken aterosklerotik lezyonların (yağ çizgileri) ve ileri lezyonların (fibröz plaklar), yüksek TK, LDL-K, non HDL-K ve düşük HDL-K seviyeleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Çocukluk ve ergenlik döneminde aterojenik lipidlerin ve lipoproteinlerin anormal seviyelerinin , endotel disfonksiyonu ile de ilişkili olduğu belirtilmiştir(152). Ayrıca yüksek Apo B düzeyi ve Apo B/Apo A1 oranı ile düşük Apo A1 düzeylerinin yetişkin dönemdeki KİMK artışı açısından prediktif olduğu gösterilmiştir (153). Bu nedenle çalışmamızda olduğu gibi bilirubin ile lipid parametreleri arasında gözlenen ilişkinin erken dönemde bilirubin ateroskleroza karşı koruyucu olmasında etkili olabileceği düşünülmüştür.

Kardiyovasküler olaylar çocuklarda nadiren görülmekle beraber kardiyovasküler sistemde meydana gelen değişiklikler erken yaşta tanımlanabilir. Örneğin yüksek çözünürlüklü vasküler ultrasonografi ile ölçülen KİMK'nın obezite,

hipertansiyon ve kronik böbrek hastalığı gibi geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerine sahip çocuklarda artmış olduğu gösterilmiştir (154).

Karotis intima media kalınlığındaki artış subklinik aterosklerozun erken bir bulgusu olarak kabul edilmekte olup (155) KİMK ölçümü KVH için risk faktörlerine sahip çocuklar ve genç yetişkinlerde de kullanılmaktadır (99). Yetişkinlerde 10 mm. ve üzeri ölçüm değerleri artmış karotis intima media değeri olarak kabul edilmiş, ancak çocukluk ve gençlik çağında KİMK için kritik bir değer belirtilmemiştir(155) Çocuklarda KİMK'daki artışın, aşırı kilo, dislipidemi ve hipertansiyonu içeren geleneksel kardiyovasküler risk faktörleri ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunun dışında, KİMK 'nın ailesel hiperlipidemisi olan adolesanlarda ve erken yaşta miyokard infarktüsü geçmişi olan ebeveyne sahip çocuklarda arttığı belirtilmiştir (99).

Bilirubin düzeylerinin KİMK üzerine etkisi de çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Erdoğan ve ark.nın yetişkinlerde yaptığı bir çalışmada sağlıklı kişilerde TB düzeyleri ile KİMK arasında negatif yönde ilişki olduğu görülmüş ve düşük serum bilirubin konsantrasyonunun KAH için bağımsız bir risk faktörü olarak düşünülebileceği belirtilmiştir (11). Dullaart ve ark.(13) tarafından yapılan başka bir çalışmada da kardiyovasküler risk faktörleri için ayarlama yapıldıktan sonra hem diyabetik olmayan hem de diyabetik kişilerde total bilirubin ile KİMK arasında negatif bir ilişki olduğu görülmüştür. Vitek ve ark. (10) UCB düzeyleri yüksek olan kişilerin düşük olanlara göre daha düşük intima media kalınlığına sahip olduklarını göstermiştir. 8 yaşındaki sağlıklı çocuklarda yapılan bir çalışmada ise KİMK ile TB düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (156). Çalışmamızda da TB,DB, İB düzeyleri ile KİMK arasında ilişki bulunmamıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda çocukluk döneminde KİMK ile arasında ilişki saptanmayan bazı parametrelerin, ilerleyen yaşlarda örneğin puberte sonrasında ilişkisinin ortaya çıktığı görülmüştür(153). Bir çalışmada çocukluk döneminde non HDL-K, LDL-K değerleri yüksek seyreden bireylerin yetişkinlikte artmış KİMK'ya sahip olma olasılığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir(157).

Bilirubinün hem direkt hem de bazı kardiyometabolik parametrelerle olası ilişkisi nedeniyle dolaylı olarak KİMK üzerine olan etkisi daha sonra ortaya çıkabilir. Diğer taraftan sağlıklı çocuklarda ateroskleroza bağlı vasküler değişiklikler çok az

düzye de olabileceğinden daha ileri yaşlarda bilirubin düzeyleri ile KİMK arasında yetişkinlerde gözleendiği gibi bir ilişki gözlenebilir. Tüm bu nedenlerden dolayı çocuklarda bilirubin düzeyinin KİMK üzerine etkisi prospektif çalışmalarla değerlendirilmelidir.

Çalışma sonuçlarımız arasında sadece erkeklerde DB düzeyleri ile KİMK arasında negatif yönde anlamlı ilişki gözlenmesi dikkat çekmiştir. Bu durum DB'nin suda çözünür olması ve albumine zayıf şekilde bağlanması nedeniyle aktif form olarak fonksiyon göstermesinden kaynaklanabilir. Bu ilişkinin sadece erkek çocuklarda görülmesinde ise; KİMK'sı ölçülen çocuklar içerisinde erkeklerin DB düzeylerinin kızlara göre anlamlı olarak daha yüksek olmasının ya da kız çocuklarında bilirubinün ateroprotektif etkilerinin anti aterojenik etkileri olduğu bilinen östrojen(158) ile karşılaşmış olma ihtimalinin etkisi olabilir. Ancak sonuçlar cinsiyete göre bu şekilde değerlendirildiğinde gruplarda yer alan kişi sayısının düşmesiyle çalışmanın gücü de zayıflamıştır. Bu nedenle daha fazla kişinin yer aldığı ve bilirubinün tüm formları ile parametreler arasındaki ilişkinin cinsiyete göre değerlendirildiği çalışmaların daha faydalı bilgiler sağlayacağı düşünülmüştür.

Yetişkinlerde yapılan bazı çalışmalarda düşük bilirubin düzeylerinin ateroskleroz gelişimi açısından risk faktörü sayılabileceği belirtilmiştir(159).

KVH'nın temel nedeni olan aterosklerozisin çocukluk çağında başladığına dair birçok kanıt bulunmakta olup; aterosklerozun ilk lezyonu sayılan yağlı çizgilenmelerin erken çocukluktan itibaren görüldüğü, plak prevalansının ve yaygınlığının ise 15-34 yaş aralığında hızla arttığı gösterilmiştir. Fibröz plaklar da dahil olmak üzere ileri aterosklerotik lezyonların adolesanlarda ve genç yetişkinlerde bulunduğu tespit edilmiştir. Risk faktörlerinin varlığı ve şiddeti, aterosklerozun derecesi ve ciddiyeti ile yüksek oranda ilişkilidir. Risk faktörleri biraraya geldiğinde ateroskleroz oluşumunda gösterdikleri etki tek başına gösterdikleri etkiden çok daha fazladır. Risk faktörleri ve risk durumu çocukluk döneminde sıklıkla kazanılmakta ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalık gelişimini hızlandırabilmektedir. Ayrıca, çocukluk ve ergenlik döneminde ölçülen risk faktörlerinin ateroskleroz şiddetini genç erişkinlerde ölçülen risk faktörlerinden daha iyi öngörebildiği gösterilmiştir (160). Bu nedenle düşük bilirubin düzeylerinin KVH açısından risk faktörü olarak değerlendirilmesi konusunda çocuklarda yapılacak çalışmalarda oldukça önemlidir.

Biz de çalışmamızda sağlıklı adolesanlarda fizyolojik düzeylerdeki bilirubin düzeyleri ile ateroskleroz gelişiminde rolü olduğu düşünülen bazı parametreler ve subklinik aterosklerozun değerlendirilmesinde önemli bir belirteç olan KİMK arasındaki ilişkiyi araştırdık. Literatürde yetişkinlerde yapılan çalışmamıza benzer nitelikte çalışmalar bulunmasına rağmen olup 14-17 yaş grubundaki sağlıklı çocukların yer aldığı benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız TB düzeyleri dışında DB ve İB düzeylerinin ölçülmesi açısından da diğer çalışmalardan farklılık göstermektedir.

Çalışmamızda bazı kardiyometabolik parametreler ile bilirubin arasında anlamlı ilişki bulunmuş olup bu sonuçların yetişkinlerde ve çocuklarda yapılan birçok çalışma ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bazı parametrelerle diğer çalışmalardan farklı sonuçların gözlenmesinde, çalışmaya katılan kişilerin cinsiyetindeki ve yaşındaki farklılıkların ve çocukların sağlıklı oluşunun etkili olabileceği düşünülmüştür. Çok yüksek seviyelerde bilirubinün nörotoksik olduğu bilinmekle beraber, çok sayıda araştırma, hafif yükselmiş bilirubin seviyelerinin faydalı olabileceğini göstermiştir(56). Çalışmamızda fizyolojik düzeylerdeki bilirubinün ölçülen parametrelerden bazıları ile ilişkisinin olduğu görülmüş olup, bilirubinün bu parametrelerle ilişkisi bilirubinün düzeylerinin KVH riskini göstermesi açısından değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ergenlik dönemi, genetik ve çevresel faktörlerin de etkisiyle yağlı çizgilerin plağa dönüşebileceği kritik bir dönem olarak görülmektedir. Çalışmamızda adolesanlarda bilirubin düzeylerinin KVH gelişim riskini arttıran MS gibi bazı hastalıklar veya KVH açısından önemli parametrelerle ilişkisinin olduğu gösterilmiştir. Çocuklarda düşük bilirubin düzeylerinin olası proaterojenik etkilerinin veya aterosklerotik değişiklikler ve KVH risk faktörlerinin varlığı ve şiddeti açısından prediktif değerinin anlaşılabilmesi için geniş popülasyonda prospektif nitelikteki çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Horsfall LJ, Nazareth I, Petersen I. Cardiovascular events as a function of serum bilirubin levels in a large, statin-treated cohort. *Circulation*. 2012;126(22):2556-64.
2. Wu T-W, Fung K-P, Yang C-C. Unconjugated bilirubin inhibits the oxidation of human low density lipoprotein better than Trolox. *Life Sciences*. 1994;54(25):PL477-PL81.
3. Mazzone GL, Rigato I, Ostrow JD, Tiribelli C. Bilirubin effect on endothelial adhesion molecules expression is mediated by the NF-kappaB signaling pathway. *Bioscience Trends*. 2009;3(4):151-7.
4. Vitek L, Malikova I, Kvasnicka J, Benakova H, Novotny L, editors. Relationship between serum bilirubin and markers of inflammation and oxidative stress. In: *Journal Of Gastroenterology And Hepatology*. 9600 Garsington Rd, Oxford Ox4 2dq, Oxon, England: Blackwell Publishing, 2007. p. A235-A235.
5. Hwang H-J, Lee S-W, Kim S-H. Relationship between bilirubin and C-reactive protein. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2011;49(11):1823-8.
6. Yoshino S, Hamasaki S, Ishida S, Kataoka T, Yoshikawa A, Oketani N, et al. Relationship between bilirubin concentration, coronary endothelial function, and inflammatory stress in overweight patients. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2011;18(5):403-12.
7. Kalkan GY, Gür M, Baykan AO, Koyunsever NY, Kaypaklı O, Sen O, et al. Serum bilirubin level and aortic intima-media thickness in patients without clinical manifestation of atherosclerotic cardiovascular disease. *Angiology*. 2014;65(4):308-12.
8. Wallner M, Marculescu R, Doberer D, Wolzt M, Wagner O, Vitek L, et al. Protection from age-related increase in lipid biomarkers and inflammation contributes to cardiovascular protection in Gilbert's syndrome. *Clinical Science*. 2013;125(5):257-64.
9. Lin J-P, O'Donnell CJ, Schwaiger JP, Cupples LA, Lingenhel A, Hunt SC, et al. Association between the UGT1A1* 28 allele, bilirubin levels, and coronary heart disease in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2006;114(14):1476-81.

10. Vitek L, Novotný L, Šperl M, Holaj R, Spáčil J. The inverse association of elevated serum bilirubin levels with subclinical carotid atherosclerosis. *Cerebrovascular Diseases*. 2006;21(5-6):408-14.
11. Erdogan D, Gullu H, Yildirim E, Tok D, Kirbas I, Ciftci O, et al. Low serum bilirubin levels are independently and inversely related to impaired flow-mediated vasodilation and increased carotid intima-media thickness in both men and women. *Atherosclerosis*. 2006;184(2):431-7.
12. Breimer LH, Wannamethee G, Ebrahim S, Shaper AG. Serum bilirubin and risk of ischemic heart disease in middle-aged British men. *Clinical Chemistry*. 1995;41(10):1504-8.
13. Dullaart RP, Kappelle PJ, de Vries R. Lower carotid intima media thickness is predicted by higher serum bilirubin in both non-diabetic and Type 2 diabetic subjects. *Clinica Chimica Acta*. 2012;414:161-5.
14. Vitek L. The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases. The role of bile pigments in health and disease: effects on cell signaling, cytotoxicity and cytoprotection. *Frontiers in Pharmacology* 2012:192.
15. Lin L-Y, Kuo H-K, Hwang J-J, Lai L-P, Chiang F-T, Tseng C-D, et al. Serum bilirubin is inversely associated with insulin resistance and metabolic syndrome among children and adolescents. *Atherosclerosis*. 2009;203(2):563-8.
16. Eikendal AL, Groenewegen KA, Bots ML, Peters SA, Uiterwaal CS, den Ruijter HM. Relation Between Adolescent Cardiovascular Risk Factors and Carotid Intima-Media Echogenicity in Healthy Young Adults: The Atherosclerosis Risk in Young Adults (ARYA) Study. *Journal of the American Heart Association*. 2016;5(5):e002941.
17. Halamek L, Stevenson D. Neonatal jaundice and liver disease. *Neonatal-Perinatal Medicine: Diseases of The Fetus and Infant*. 2002;2:1345-89.
18. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(8):581-90.
19. Gürsoy T, Yigit S. Yenidoğan sarılığı *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2004;35:143-53.

20. Franchini M, Targher G, Lippi G. Serum bilirubin levels and cardiovascular disease risk: a Janus Bifrons? *Advances In Clinical Chemistry*. 2010;50:47-63.
21. Vitek L, Schwertner HA. The heme catabolic pathway and its protective effects on oxidative stress-mediated diseases. *Advances In Clinical Chemistry*. 2007;43:1-57.
22. Fevery J. Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver International*. 2008;28(5):592-605.
23. Ostrow J, Mukerjee P, Tiribelli C. Structure and binding of unconjugated bilirubin: relevance for physiological and pathophysiological function. *Journal of Lipid Research*. 1994;35(10):1715-37.
24. Bosma PJ, Seppen J, Goldhoorn B, Bakker C, Elferink RO, Chowdhury JR, et al. Bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 is the only relevant bilirubin glucuronidating isoform in man. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(27):17960-4.
25. Kuntz, E., & Kuntz, H.-D. *Hepatology, Principles and practice: history, morphology, biochemistry, diagnostics, clinic, therapy*: Springer Science & Business Media. (2006)
26. Dağoğlu T. Ovalı F. İndirekt hiperbilirubinemi. Dağoğlu T. *Neonataloji İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri Ltd* 2000 (50); 453. 2000;455.
27. Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC. *Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine E-Book: Diseases of the Fetus and Infant*. 10 ed: Elsevier Health Sciences; 2014.
28. Arumalla VK, Gopal N, Rao B. Role of Serum Bilirubin in Coronary Artery Disease. *International Journal of Medical and Health Sciences*. 2012;1(1):56-62.
29. Ovalı F. *İndirekt Hiperbilirubinemi*. 2 ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi 2007. p.517-36 .
30. Morita T. Heme oxygenase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005;25(9):1786-95.
31. Bauer I, Pannen BH. Bench-to-bedside review: carbon monoxide—from mitochondrial poisoning to therapeutic use. *Critical Care*. 2009;13(4):220.

32. Mayer M. Association of serum bilirubin concentration with risk of coronary artery disease. *Clinical Chemistry*. 2000;46(11):1723-7.
33. Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiological Reviews*. 2006;86(2):583-650.
34. Wang L, Bautista LE. Serum bilirubin and the risk of hypertension. *International Journal of Epidemiology*. 2015;44(1):142-52.
35. Neuzil J, Stocker R. Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for alpha-tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(24):16712-9.
36. Wu T-W, Fung K, Wu J, Yang C-C, Weisel RD. Antioxidation of human low density lipoprotein by unconjugated and conjugated bilirubins. *Biochemical Pharmacology*. 1996;51(6):859-62.
37. Stocker R. Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2004;6(5):841-9.
38. Barañano DE, Rao M, Ferris CD, Snyder SH. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. *Proceedings of The National Academy of Sciences*. 2002;99(25):16093-8.
39. Yesilova Z, Serdar M, Ercin CN, Gunay A, Kilciler G, Hasimi A, et al. Decreased oxidation susceptibility of plasma low density lipoproteins in patients with Gilbert's syndrome. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2008;23(10):1556-60.
40. Vogel ME, Zucker SD. Bilirubin acts as an endogenous regulator of inflammation by disrupting adhesion molecule-mediated leukocyte migration. *Inflammation and Cell Signaling*. 2016;3(1).
41. Mazzone GL, Rigato I, Ostrow JD, Bossi F, Bortoluzzi A, Sukowati CH, et al. Bilirubin inhibits the TNF α -related induction of three endothelial adhesion molecules. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2009;386(2):338-44.
42. Kawamura K, Ishikawa K, Wada Y, Kimura S, Matsumoto H, Kohro T, et al. Bilirubin from heme oxygenase-1 attenuates vascular endothelial activation and

- dysfunction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005;25(1):155-60.
43. Basiglio CL, Arriaga SM, Pelusa HF, Almará AM, Roma MG, Mottino AD. Protective role of unconjugated bilirubin on complement-mediated hepatocytolysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2007;1770(7):1003-10.
 44. Lee M, Jung C, Kang Y, Hwang J, Jang J, Leem J, et al. Serum bilirubin as a predictor of incident metabolic syndrome: a 4-year retrospective longitudinal study of 6205 initially healthy Korean men. *Diabetes & Metabolism*. 2014;40(4):305-9.
 45. Grundy S. American Heart Association, National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004;109:433-8.
 46. Köksal NHNG. Çocuklarda Metabolik Sendromun Tedavisinde Beslenme Yönetimi,. *J Curr Pediatr*.2012;10(3).
 47. Güldal Altunoğlu E. İnsülin Direnci. *Istanbul Medical Journal*. 2012;13(3).
 48. Satoh T. Molecular mechanisms for the regulation of insulin-stimulated glucose uptake by small guanosine triphosphatases in skeletal muscle and adipocytes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014;15(10):18677-92.
 49. Dunder K. Clinical Manifestations of Coronary Heart Disease and the Metabolic Syndrome: A Population-based Study in Middle-aged Men in Uppsala: *Acta Universitatis Upsaliensis*; 2004.
 50. O'Neill HM. AMPK and exercise: glucose uptake and insulin sensitivity. *Diabetes & Metabolism Journal*. 2013;37(1):1-21.
 51. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005;26(2):19-39.
 52. Tfayli H, Arslanian S. The challenge of adolescence: Hormonal changes and sensitivity to insulin. *Diabetes Voice*. 2007;52:28-30.
 53. Reusch JE. Current concepts in insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and the metabolic syndrome. *The American Journal of Cardiology*. 2002;90(5):19-26.

54. Dong H, Huang H, Yun X, Kim D-s, Yue Y, Wu H, et al. Bilirubin increases insulin sensitivity in leptin-receptor deficient and diet-induced obese mice through suppression of ER stress and chronic inflammation. *Endocrinology*. 2014;155(3):818-28.
55. Liu J, Dong H, Zhang Y, Cao M, Song L, Pan Q, et al. Bilirubin increases insulin sensitivity by regulating cholesterol metabolism, adipokines and PPAR γ levels. *Scientific Reports*. 2015;5.
56. Choi S, Yun K, Choi H. Relationships between serum total bilirubin levels and metabolic syndrome in Korean adults. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2013;23(1):31-7.
57. McArdle PF, Whitcomb BW, Tanner K, Mitchell BD, Shuldiner AR, Parsa A. Association between bilirubin and cardiovascular disease risk factors: using Mendelian randomization to assess causal inference. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2012;12(1):16.
58. Ko GT, Chan JC, Woo J, Lau E, Yeung VT, Chow C-C, et al. Serum bilirubin and cardiovascular risk factors in a Chinese population. *Journal of Cardiovascular Risk*. 1996;3(5):459-63.
59. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. 2011;473(7347):317-25.
60. Barış Buğan TÇ. Risk Factors for Coronary Artery Disease. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 2014; 5(2):159-63.
61. Assmann G, Gotto AM. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(23 suppl 1):III-8-III-14.
62. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and cardiovascular disease. *Circulation*. 2011;123(20):2292-333.
63. Bergmann K, Pachota E, Sypniewska G. Association of serum total bilirubin with traditional and novel cardiovascular risk factors in apparently healthy subjects. *Folia Medica Copernicana*. 2015;3(1):26-31.

64. Levinson SS. Relationship between bilirubin, apolipoprotein B, and coronary artery disease. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 1997;27(3):185-92.
65. Yavuz Ö, Şükrü A. Serum bilirubin düzeyi ve lipid profili arasındaki ilişki. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2002;22(3):276-80.
66. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA).2015
67. Alev Eroğlu Altınova MA, Füsün Törüner, Nuri Çakır, Metin Arslan. Evaluation of Apo B, Non-HDL Cholesterol Levels and Apo B/Apo A1 Ratio in Patients with Type 2 Diabetes. *GMJ*. 2013;24:78-80.
68. Lima LM, Carvalho MdG, Sousa MO. Apo B/Apo A1 ratio and cardiovascular risk prediction. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*. 2007;88(6):e187-e90.
69. Kumar VB, Guntakalla YR, Thomas Z, Rajasekaran UR, Gnanasekaran P. Role of Non High Density Lipoprotein Cholesterol (Non HDL-C) in Predicting Coronary Artery Disease. *Indian Journal of Pharmacy Practice*. 2015;8(4):167.
70. Bulmer AC, Verkade H, Wagner K-H. Bilirubin and beyond: a review of lipid status in Gilbert's syndrome and its relevance to cardiovascular disease protection. *Progress in Lipid Research*. 2013;52(2):193-205.
71. Ohnaka K, Kono S, Inoguchi T, Yin G, Morita M, Adachi M, et al. Inverse associations of serum bilirubin with high sensitivity C-reactive protein, glycated hemoglobin, and prevalence of type 2 diabetes in middle-aged and elderly Japanese men and women. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2010;88(1):103-10.
72. Hopkins PN, Wu LL, Hunt SC, James BC, Vincent GM, Williams RR. Higher serum bilirubin is associated with decreased risk for early familial coronary artery disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1996;16(2):250-5.
73. Rodrigues C, Costa E, Vieira E, Santos R, De Carvalho J, Rocha-Pereira P, et al. Bilirubin dependence on UGT1A1 polymorphisms, hemoglobin, fasting time and body mass index. *The American Journal of The Medical Sciences*. 2012;343(2):114-8.

74. Warboys CM, Amini N, de Luca A, Evans PC. The role of blood flow in determining the sites of atherosclerotic plaques. *F1000 Medicine Reports*. 2011;3(5).
75. Mohammad Madjid IA, Samuel Ward Casscells, Renu Virmani & James T Willerson. *The Vulnerable Atherosclerotic Plaque Strategies for Diagnosis and Management*. Renu Virmani, Jagat Narula, Martin B. Leon, James T. Willerson ed. Blackwell Publishing, Oxford 2007.
76. Zengin H. Ateroskleroz patogenezi. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012;29(3s).
77. Stocker R, Kearney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiological Reviews*. 2004;84(4):1381-478.
78. Stary HC. *Atlas of atherosclerosis progression and regression*. 2nd ed. London, UK: The Parthenon Publishing Group: CRC Press; 2003.
79. Insull W. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *The American Journal of Medicine*. 2009;122(1):S3-S14.
80. Gonzalez MA, Selwyn AP. Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine*. 2003;115(8):99-106.
81. Cullen PJ, Lorkowski S. The pathogenesis of atherosclerosis. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2005;170:3-70.
82. Chen G, Wang J-J, Xu C-B, Cao L, Lin J, Qing X-P, et al. Minimally Modified LDL-Induced Impairment of Endothelium-Dependent Relaxation in Small Mesenteric Arteries of Mice. *Journal of Vascular Research*. 2016;53(1-2):58-71.
83. Itabe H, Mori M, Fujimoto Y, Higashi Y, Takano T. Minimally modified LDL is an oxidized LDL enriched with oxidized phosphatidylcholines. *The Journal of Biochemistry*. 2003;134(3):459-65.
84. Levitan I, Volkov S, Subbaiah PV. Oxidized LDL: diversity, patterns of recognition, and pathophysiology. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2010;13(1):39-75.
85. Özlem Kurnaz HYA. LDL Reseptörü-1 (LOX-1) ve Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkisi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 2014; 12(3):145-52.

86. Can Ü. Okside-LDL ve Reseptörü Lektin Benzeri Okside-LDL Reseptör-1. Genel Tıp Dergisi.2016;26(4):121-6.
87. Bobrowski K. Free radicals in chemistry, biology and medicine: contribution of radiation chemistry. Nukleonika. 2005;50:67-76.
88. Özlem Kurnaz HYA. Okside LDL Reseptörü-1 (LOX-1) ve Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkisi. Tıp Araştırmaları Dergisi.2014: 12(3):145-52.
89. Ökçün B, Küçükoğlu S. Karotis intima-media kalınlığı. Turkiye Klinikleri Journal of Cardiology. 2003;16(6):532-40.
90. O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. The American Journal of Cardiology. 2002;90(10):L18-L21.
91. Urbina EM, Williams RV, Alpert BS, Collins RT, Daniels SR, Hayman L, et al. Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in children and adolescents. Hypertension. 2009;54(5):919-50.
92. Turğut L, Ergün E, Neşe A, Yılmaz Ö, Turan A, Koşar U. Koroner Arter Hastalığı ile Karotis İntima-Media Kalınlığı Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Kocatepe Tıp Dergisi. 2013;14(3):140-6.
93. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force endorsed by the Society for Vascular Medicine. Journal of the American Society of Echocardiography. 2008;21(2):93-111.
94. Levent E. Çocuklarda Karotis intima media kalınlığı. The Journal of Pediatric Research.2014;1(3):127-9.
95. Yurdakul S, Aytekin S. Karotis ve vertebral arterlerin Doppler ultrasonografi ile görüntülenmesi. Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi. 2011;39(6):508-17.
96. Csiba L. Carotid intima-media thickness measured by ultrasonography: effect of different pharmacotherapies on atherosclerosis progression. Orvosi Hetilap. 2005;146(23):1239-44.

97. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness. *Circulation*. 2007;115(4):459-67.
98. Kang SJ, Lee C, Kruzliak P. Effects of serum bilirubin on atherosclerotic processes. *Annals of Medicine*. 2014;46(3):138-47.
99. Hong YM. Atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Korean Circulation Journal*. 2010;40(1):1-9.
100. Oliveira FLC, Patin RV, Escrivão MAMS. Atherosclerosis prevention and treatment in children and adolescents. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2010;8(4):513-28.
101. Yilmaz N, Cicek H, Celik A, Meram I, Kocabas R, Davutoglu V. Diagnostic value of homocysteine, C-reactive protein and bilirubin for coronary artery disease. *East Mediterr Health J*. 2007;13(3):522-35.
102. Vitek L, Jirsa M, Brodanová M, Kaláb M, Mareček Z, Danzig V, et al. Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis*. 2002;160(2):449-56.
103. McMahan CA, Gidding SS, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP, McGill HC. Pathobiological determinants of atherosclerosis in youth risk scores are associated with early and advanced atherosclerosis. *Pediatrics*. 2006;118(4):1447-55.
104. Hatta AI FB. Oxidative modification and antioxidant protection of human low density lipoprotein at high and low oxygen partial pressures. *Journal of Lipid Research*. 1995;36(11):2383-93.
105. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2002;22(7):1162-7.
106. Liu M-L, Ylitalo K, Salonen R, Salonen JT, Taskinen M-R. Circulating oxidized low-density lipoprotein and its association with carotid intima-media thickness in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004;24(8):1492-7.

107. Zhang B, Bai H, Liu R, Kumagai K, Itabe H, Takano T, et al. Serum high-density lipoprotein-cholesterol levels modify the association between plasma levels of oxidatively modified low-density lipoprotein and coronary artery disease in men. *Metabolism*. 2004;53(4):423-9.
108. Järvisalo MJ, Lehtimäki T, Raitakari OT. Determinants of arterial nitrate-mediated dilatation in children. *Circulation*. 2004;109(23):2885-9.
109. Sameiro-Faria Md, Kohlova M, Ribeiro S, Rocha-Pereira P, Teixeira L, Nascimento H, et al. Potential cardiovascular risk protection of bilirubin in end-stage renal disease patients under hemodialysis. *BioMed Research International*. 2014;2014.
110. Boon A-C, Bulmer AC, Coombes JS, Fassett RG. Circulating bilirubin and defense against kidney disease and cardiovascular mortality: mechanisms contributing to protection in clinical investigations. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2014;307(2):F123-F36.
111. Boon A-C, Hawkins CL, Bisht K, Coombes JS, Bakrania B, Wagner K-H, et al. Reduced circulating oxidized LDL is associated with hypocholesterolemia and enhanced thiol status in Gilbert syndrome. *Free Radical Biology and Medicine*. 2012;52(10):2120-7.
112. Maruhashi T, Soga J, Fujimura N, Idei N, Mikami S, Iwamoto Y, et al. Hyperbilirubinemia, Augmentation of Endothelial Function, and Decrease in Oxidative Stress in Gilbert SyndromeClinical Perspective. *Circulation*. 2012;126(5):598-603.
113. Vitek L, Novotný L, Žák A, Staňková B, Zima T, Polito A, et al. Relationship between serum bilirubin and uric acid to oxidative stress markers in Italian and Czech populations. *Journal of Applied Biomedicine*. 2013;11(4):209-21.
114. Stojanov M, Stefanovic A, Dzingalasevic G, Ivanisevic J, Miljkovic M, Mandic-Radic S, et al. Total bilirubin in young men and women: association with risk markers for cardiovascular diseases. *Clinical Biochemistry*. 2013;46(15):1516-9.
115. Nascimento H, Alves AI, Coimbra S, Catarino C, Gomes D, Bronze-da-Rocha E, et al. Bilirubin is independently associated with oxidized LDL levels in young obese patients. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2015;7(1):4.

116. Nakagami T, Toyomura K, Kinoshita T, Morisawa S. A beneficial role of bile pigments as an endogenous tissue protector: anti-complement effects of biliverdin and conjugated bilirubin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1993;1158(2):189-93.
117. Jefferis BJ, Whincup PH, Welsh P, Wannamethee SG, Rumley A, Lennon LT, et al. Circulating TNF α levels in older men and women do not show independent prospective relations with MI or stroke. *Atherosclerosis*. 2009;205(1):302-8.
118. Ram M, Singh V, Kumawat S, Kant V, Tandan SK, Kumar D. Bilirubin modulated cytokines, growth factors and angiogenesis to improve cutaneous wound healing process in diabetic rats. *International Immunopharmacology*. 2016;30:137-49.
119. Mazzone GL, Rigato I, Tiribelli C. Unconjugated bilirubin modulates nitric oxide production via iNOS regulation. *Bioscience Trends*. 2010;4(5):244-8.
120. Roh EJ, Lim JW, Ko KO, Cheon EJ. A useful predictor of early atherosclerosis in obese children: serum high-sensitivity C-reactive protein. *Journal of Korean Medical Science*. 2007;22(2):192-7.
121. Harris MT, Davis WW, Le N-A, Eggleston B, Austin GE, Moussa M, et al. Free oxygen radicals in whole blood correlate strongly with high-sensitivity C-reactive protein. *Journal of Clinical Lipidology*. 2007;1(6):593-8.
122. Guran O, Akalin F, Ayabakan C, Dereli FY, Haklar G. High-sensitivity C-reactive protein in children at risk for coronary artery disease. *Acta Paediatrica*. 2007;96(8):1214-9.
123. Kamath DY, Xavier D, Sigamani A, Pais P. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) & cardiovascular disease: an Indian perspective. *The Indian Journal of Medical Research*. 2015;142(3):261.
124. Hwang H-J, Kim S-H. Inverse relationship between fasting direct bilirubin and metabolic syndrome in Korean adults. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411(19):1496-501.
125. Cho HS, Lee SW, Kim ES, Shin J, Moon SD, Han JH, et al. Serum bilirubin levels are inversely associated with PAI-1 and fibrinogen in Korean subjects. *Atherosclerosis*. 2016;244:204-10.

126. Wallner M, Bulmer AC, Mölzer C, Müllner E, Marculescu R, Doberer D, et al. Haem catabolism: a novel modulator of inflammation in Gilbert's syndrome. *European Journal of Clinical Investigation*. 2013;43(9):912-9.
127. Järvisalo MJ, Harmoinen A, Hakanen M, Paakkunainen U, Viikari J, Hartiala J, et al. Elevated serum C-reactive protein levels and early arterial changes in healthy children. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2002;22(8):1323-8.
128. Madhavan M, Wattigney WA, Srinivasan SR, Berenson GS. Serum bilirubin distribution and its relation to cardiovascular risk in children and young adults. *Atherosclerosis*. 1997;131(1):107-13.
129. Belo L, Nascimento H, Kohlova M, Bronze-da-Rocha E, Fernandes J, Costa E, et al. Body fat percentage is a major determinant of total bilirubin independently of UGT1A1* 28 polymorphism in young obese. *PloS One*. 2014;9(6):e98467.
130. Guzek M, Jakubowski Z, Bandosz P, Wyrzykowski B, Smoczyński M, Jabłoiska A, et al. Inverse association of serum bilirubin with metabolic syndrome and insulin resistance in Polish population. *Przegląd Epidemiologiczny*. 2011;66(3):495-501.
131. Kawamoto R, Ninomiya D, Hasegawa Y, Kasai Y, Kusunoki T, Ohtsuka N, et al. Mildly elevated serum bilirubin levels are negatively associated with carotid atherosclerosis among elderly persons. *PloS One*. 2014;9(12):e114281.
132. Wu Y, Li M, Xu M, Bi Y, Li X, Chen Y, et al. Low serum total bilirubin concentrations are associated with increased prevalence of metabolic syndrome in Chinese. *Journal of Diabetes*. 2011;3(3):217-24.
133. Brady E, Webb D, Morris D, Khunti K, Talbot DS, Sattar N, et al. Investigating endothelial activation and oxidative stress in relation to glycaemic control in a multiethnic population. *Experimental Diabetes Research*. 2012;2012.
134. Li M, Peterson S, Husney D, Inaba M, Guo K, Terada E, et al. Interdiction of the diabetic state in NOD mice by sustained induction of heme oxygenase: possible role of carbon monoxide and bilirubin. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2007;9(7):855-63.
135. Fu YY, Kang KJ, Ahn JM, Kim H-R, Na KY, Chae D-W, et al. Hyperbilirubinemia reduces the streptozotocin-induced pancreatic damage through attenuating the

- oxidative stress in the Gunn rat. *The Tohoku journal of Experimental Medicine*. 2010;222(4):265-73.
136. Ndisang JF, lane N, Jadhav A. The heme oxygenase system abates hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats by potentiating insulin-sensitizing pathways. *Endocrinology*. 2009;150(5):2098-108.
 137. Lee JM. Insulin resistance in children and adolescents. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2006;7(3):141-7.
 138. Jessup A, Harrell JS. The metabolic syndrome: look for it in children and adolescents, too! *Clinical Diabetes*. 2005;23(1):26-32.
 139. Ndisang JF, Jadhav A. Heme oxygenase system enhances insulin sensitivity and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;296(4):E829-E41.
 140. Jonas J, Guiot Y, Rahier J, Henquin J. Haeme-oxygenase 1 expression in rat pancreatic beta cells is stimulated by supraphysiological glucose concentrations and by cyclic AMP. *Diabetologia*. 2003;46(9):1234-44.
 141. Won KC, Moon JS, Eun MJ, Yoon JS, Chun KA, Cho IH, et al. A protective role for heme oxygenase-1 in INS-1 cells and rat islets that are exposed to high glucose conditions. *Journal of Korean Medical Science*. 2006;21(3):418-24.
 142. Andersson C, Weeke P, Fosbøl EL, Brendorp B, Køber L, Coutinho W, et al. Acute effect of weight loss on levels of total bilirubin in obese, cardiovascular high-risk patients: an analysis from the lead-in period of the Sibutramine Cardiovascular Outcome trial. *Metabolism*. 2009;58(8):1109-15.
 143. Nath KA, d'Uscio LV, Juncos JP, Croatt AJ, Manriquez MC, Pittock ST, et al. An analysis of the DOCA-salt model of hypertension in HO-1^{-/-} mice and the Gunn rat. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2007;62(1):H333.
 144. Temme EH, Zhang J, Schouten EG, Kesteloot H. Serum bilirubin and 10-year mortality risk in a Belgian population. *Cancer Causes and Control*. 2001;12(10):887-94.

145. Bhuiyan AR, Srinivasan SR, Chen W, Sultana A, Berenson GS. Association of serum bilirubin with pulsatile arterial function in asymptomatic young adults: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism*. 2008;57(5):612-6.
146. Kwon K-M, Kam J-H, Kim M-Y, Kim M-Y, Chung CH, Kim J-K, et al. Inverse association between total bilirubin and metabolic syndrome in rural Korean women. *Journal of Women's Health*. 2011;20(6):963-9.
147. Sakamoto S, Kusuhara H, Miyata K, Shimaoka H, Kanazu T, Matsuo Y, et al. Glucuronidation converting methyl 1-(3, 4-dimethoxyphenyl)-3-(3-ethylvaleryl)-4-hydroxy-6, 7, 8-trimethoxy-2-naphthoate (S-8921) to a potent apical sodium-dependent bile acid transporter inhibitor, resulting in a hypocholesterolemic action. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2007;322(2):610-8.
148. Zhang Y, Zhao Y, Zhang T, Xu Q, He J. Cross-sectional associations between serum bilirubin and dyslipidemia in a population-based sample of Chinese. *International Journal Of Clinical And Experimental Medicine*. 2016;9(2):4291-9.
149. Dullaart RP, de Vries R, Lefrandt JD. Increased large VLDL and small LDL particles are related to lower bilirubin in Type 2 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry*. 2014;47(16):170-5.
150. Očadlík I, Hlinštáková S, Oravec S. Relationship between unconjugated hyperbilirubinemia and lipoprotein spectrum. *Neuro Endocrinology Letters*. 2010;32(3):360-4.
151. Jo J, Yun JE, Lee H, Kimm H, Jee SH. Total, direct, and indirect serum bilirubin concentrations and metabolic syndrome among the Korean population. *Endocrine*. 2011;39(2):182-9.
152. Daniels SR, Pratt CA, Hayman LL. Reduction of risk for cardiovascular disease in children and adolescents. *Circulation*. 2011;124(15):1673-86.
153. Juonala M, Viikari JS, Kähönen M, Solakivi T, Helenius H, Jula A, et al. Childhood levels of serum apolipoproteins B and AI predict carotid intima-media thickness and brachial endothelial function in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;52(4):293-9.

154. Doyon A, Kracht D, Bayazit AK, Deveci M, Duzova A, Krmar RT, et al. Carotid Artery Intima-Media Thickness and Distensibility in Children and Adolescents: Novelty and Significance. *Hypertension*. 2013;62(3):550-6.
155. Aparci M, Arslan Z, Kardesoglu E, Buyukkaya E, Yiginer O, Celik T. Karotis intima-media kalinliginin genclerde cografi bolgelere gore degisimi. *TAF Preventive Medicine Bulletin*. 2009;8:119-24.
156. Ayer JG, Harmer JA, Nakhla S, Xuan W, Ng MK, Raitakari OT, et al. HDL-cholesterol, blood pressure, and asymmetric dimethylarginine are significantly associated with arterial wall thickness in children. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009;29(6):943-9.
157. Frontini MG, Srinivasan SR, Xu J, Tang R, Bond MG, Berenson GS. Usefulness of childhood non-high density lipoprotein cholesterol levels versus other lipoprotein measures in predicting adult subclinical atherosclerosis: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 2008;121(5):924-9.
158. Nofer J-R. Estrogens and atherosclerosis: insights from animal models and cell systems. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2012;48(2):R13-R29.
159. Vitek L. Bilirubin and Atherosclerotic Diseases. *Physiological Research*. 2017;66.
160. Wilson DP. Is Atherosclerosis a Pediatric Disease. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA). 2016.

