



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**BYPASS OPERASYONU GEÇİREN HASTALARDA PERİKARDİYAL SIVI VE
KAN PLAZMASINDA METABOLİT PROFİLİNİN DEĞİŞİMİ**

**İsmail KOYUNCU
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ**

**ŞANLIURFA
2026**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**BYPASS OPERASYONU GEÇİREN HASTALARDA PERİKARDİYAL SIVI VE
KAN PLAZMASINDA METABOLİT PROFİLİNİN DEĞİŞİMİ**

**İsmail KOYUNCU
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ**

DANIŞMAN: Prof. Dr. Mehmet Salih AYDIN

**ŞANLIURFA
2026**



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mehmet Salih AYDIN danışmanlığında, İsmail KOYUNCU'nun hazırladığı “Bypass Operasyonu Geçiren Hastalarda Perikardiyal Sıvı ve Kan Plazmasında Metabolit Profilinin Değişimi” konulu bu çalışma 24/04/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

☒ Oybirliğiyle / ☐ Oy çokluğu ile

Danışman : Prof. Dr. Mehmet Salih AYDIN
Üye : Prof. Dr. Mahmut Alp KARAHAN
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KAYA
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Reşat DİKME
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mahmut PADAK

İmza

Bu tezin Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalında yapıldığını ve enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Sabri AKIN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilimsel bilgi ve deneyimlerini cömertçe paylaşarak her adımda bana rehberlik eden, eleştirel bakış açılarıyla araştırmamı zenginleştiren değerli danışmanım Prof. Dr. Salih AYDIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar olanaklarının temininden, analizlerin yapılmasından yöntem tartışmalarına kadar her alanda bana destek veren Baş asistanım Uzm. Biolog Özgür YÜKSEKDAĞ'a teşekkür ederim.

Hayatıma anlam katan ve en zor anlarımda bile motivasyonumu kaybetmememi sağlayan canım eşime teşekkür ederim. Ayrıca, akademik süreç boyunca vakitlerini çaldığım, neşeleri ve meraklarıyla bana ilham veren sevgili evlatlarım Fatma Zehra, Zeynep, M. Mustafa, Betül ve Ada'ya; varlıklarıyla hayatıma anlam kattıkları ve her gün yüzümü güldürdükleri için minnettarım. Bu tezi canım eşim ve çocuklarıma ithaf ediyorum.

İsmail KOYUNCU

2026

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
SİMGELER DİZİNİ	vii
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar.....	4
2.1.1. Kardiyovasküler Risk Faktörleri	5
2.1.2. Patofizyolojisi	6
2.1.3. Epidemiyolojisi.....	8
2.1.4. Tedavisi ve Ülke Ekonomisi Üzerine Etkileri.....	11
2.1.5. Tanıya Yönelik AR-GE Çalışmaları.....	14
2.2. Kardiyovasküler Hastalıklar ve Koroner Arter Hastalığı.....	16
2.3. Koroner Arter Hastalığında Metabolik Yeniden Programlanma	16
2.4. Metabolomik Yaklaşımın KAH Araştırmalarındaki Önemi	17
2.5. Serum, Plazma ve Perikardiyal Sıvının Metabolomik Açıdan Değeri	17
2.6. Amino Asit Metabolizması ve KAH	18
2.7. Karnitin ve Açıl karnitin Metabolizması.....	19
2.8. Organik Asitler, Laktat ve Redoks Dengesi	20
2.9. LC-MS/MS Tabanlı Hedefli Metabolomik Analiz	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Araştırma ve Etik Onay	22
3.2. Çalışma Grubunun Oluşturulması	22
3.3. Dahil Edilme Kriterleri.....	23
3.4. Dışlanma Kriterleri.....	23
3.5. Kullanılan Araç, Gereç ve Kitler.....	24
3.6. Kan Örneklerinin Alınması ve Plazmaların Elde Edilmesi.....	24

3.7. Perikardiyal Sıvı Örneklerinin Alınması	25
3.8. Rutin Biyokimya ve Hemogram Örneklerinin Alınması	26
3.9. LC-MS/MS Analizlerine Genel Yaklaşım	26
3.10. Serbest Amino Asit Profilinin LC-MS/MS ile İncelenmesi.....	26
3.11. Karnitin ve Açilkarnitin Profilinin LC-MS/MS ile İncelenmesi.....	28
3.12. Organik Asit Profilinin LC-MS/MS ile İncelenmesi	30
3.13. Kitlerin Çalışma Matrisine Uyarlanması.....	31
3.14. Kalibrasyon ve Kalite Kontrol	32
3.15. Biyokimyasal ve Hemogram Parametrelerinin Analizi.....	32
3.16. Verilerin Düzenlenmesi.....	33
3.17. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	36
4.1. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Amino Asit Profillerinin Analizi.....	36
4.2. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Karnitin Profillerinin Analizi	47
4.3. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Organik Asit Profillerinin Analizi	55
4.4. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Total Metabolit Analizi	66
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇLAR.....	93
7. ÖNERİLER.....	93
KAYNAKLAR.....	94
ÖZGEÇMİŞ	105
ETİK KURUL	106
TEZ VERİ GİRİŞ FORMU	107

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1. Amino Asit Sonuçlarının Üç Farklı Grup (Kontrol, Hasta Serum ve Hasta Perikardiyal Sıvısı) Arasında Gerçekleştirilen Varyans Analizi	40
Şekil 4.2. Amino Asit Sonuçlarının Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA).....	41
Şekil 4.3. Amino Asit Sonuçlarının Üç Boyutlu PCA grafiği.....	41
Şekil 4.4. Amino Asit Sonuçlarının PLS (Partial Least Squares) analizi	42
Şekil 4.5. Amino Asit Sonuçlarının Üç Boyutlu PLS Skor Grafiği	43
Şekil 4.6. Amino Asit Sonuçlarının VIP (Variable Importance in Projection) yük grafiği	44
Şekil 4.7. Amino Asit Sonuçlarının Korelasyon Haritası	45
Şekil 4.8. Amino Asit Sonuçlarının ROC (Receiver Operating Characteristic) Analizi	46
Şekil 4.9. Karnitin Sonuçlarının Renk Ölçeği.....	49
Şekil 4.10. Karnitin Sonuçlarının İki Boyutlu PCA Skor Grafiği	50
Şekil 4.11. Karnitin Sonuçlarının Üç Boyutlu PCA Grafiği	50
Şekil 4.12. Karnitin Sonuçlarının İki Boyutlu PLS Skor Grafiği	51
Şekil 4.13. Karnitin Sonuçlarının Üç Boyutlu PLS Skor Grafiği.....	51
Şekil 4.14. Karnitin Sonuçlarının VIP Grafiği	52
Şekil 4.15. Karnitin Sonuçlarının Korelasyon Grafiği.....	53
Şekil 4.16. Karnitin Sonuçlarının ROC Analizi	54
Şekil 4.17. Organik Asit Sonuçlarının Renk Dağılım Grafiği	57
Şekil 4.18. Organik Asit Sonuçlarının PCA Grafiği.....	58
Şekil 4.19. Organik Asit Sonuçlarının Üç Boyutlu PCA Grafiği	58
Şekil 4.20. Organik Asit Sonuçlarının PLS Grafiği.....	59
Şekil 4.21. Organik Asit Sonuçlarının PLS Grafiği.....	60
Şekil 4.22. Organik Asit Sonuçlarının VIP Grafiği	61
Şekil 4.23. Organik Asitlerin Yer Aldığı KEGG Metabolik Yolakları.....	63
Şekil 4.24. Organik Asit Sonuçlarının Korelasyon Haritası.....	64
Şekil 4.25. Organik Asit Sonuçlarının Üç Farklı Organik Asit İçin ROC Eğrileri	65

Şekil 4.26. Total Metabolit Sonuçlarının Renk Dağılım Grafiği.....	66
Şekil 4.27. Total Metabolit Sonuçlarının PCA Grafiği.....	68
Şekil 4.28. Total Metabolit Sonuçlarının Üç Boyutlu PCA Grafiği.....	68
Şekil 4.29. Total Metabolit Sonuçlarının PLS Analizi Grafiği.....	70
Şekil 4.30. Total Metabolit Sonuçlarının PLS Analizi Grafiği.....	71
Şekil 4.31. Total Metabolit Sonuçlarının VIP Skor Grafiği.....	72
Şekil 4.32. Total Metabolit Sonuçlarının Yer Aldığı KEGG Metabolik Yolakları.....	73
Şekil 4.33. Total Metabolit Sonuçlarının Pathway Impact Analysis Grafiği.....	75
Şekil 4.34. Total Metabolit Sonuçlarının Korelasyon Grafiği.....	76

TABLÖLER LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1. Çalışmada değerlendirilen amino asit ve amino asit ilişkili parametreler	28
Tablo 3.2. Karnitin ve açilkarnitin parametreleri	29
Tablo 3.3. Organik asit parametreleri	31
Tablo 4.1. Amino Asit Sonuçlarının ANOVA Test Analizi.....	37
Tablo 4.2. Karnitin Sonuçlarının ANOVA Test Analizi.....	47
Tablo 4.3. Organik Asit Sonuçlarının ANOVA Test Analizi	56
Tablo 4.4. Öne Çıkan Metabolitler	80

SİMGELER DİZİNİ

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
CVD	Cardiovascular Disease
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
İKH	İskemik Kalp Hastalığı
KY	Kalp Yetersizliği
KB	Kan Basıncı
MI	Miyokard İnfarktüsü
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
ApoA1	Apolipoprotein A1
ApoB	Apolipoprotein B
apoE	Apolipoprotein E
PAH	Periferik Arter Hastalığı
İK	İntermittent Klaudikasyon
MACE	Majör Advers Kardiyak Olaylar
ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
PKG	Perkütan Koroner Girişim
KABG	Koroner Arter Bypass Graft
TAVİ	Transkateter Aort Kapak İmplantasyonu
ICD	İmplant Edilebilir Kardiyoverter Defibrilatör
CRT	Kardiyak Resenkronizasyon Tedavisi
BNP	B Tipi Natriüretik Peptid
HFpEF	Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetersizliği
HFrfEF	Azalmış Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetersizliği
SGLT2	Sodyum-Glukoz Kotransporter 2

BCAA	Dallanmış Zincirli Amino Asitler
BCKA	Dallanmış Zincirli α -ketoasitler
T2D	Tip 2 Diyabet
TCA	Trikarboksilik Asit Döngüsü
TMA	Trimetilamin
TMAO	Trimetilamin N-oksit
PS	Perikardiyal Sıvı
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi
MS	Kütle Spektrometrisi
MS/MS	Tandem Kütle Spektrometrisi
MS1	Birinci Kütle Spektrometresi Aşaması
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
MRM	Çoklu Reaksiyon İzleme
HILIC	Hidrofilik Etkileşim Kromatografisi
FT-IR	Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik Asit
ATP	Adenozin Trifosfat
PCA	Principal Component Analysis
PLS	Partial Least Squares
PLS-DA	Partial Least Squares Discriminant Analysis
VIP	Variable Importance in Projection
ROC	Receiver Operating Characteristic
AUC	Area Under the Curve
ANOVA	Analysis of Variance
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
BT	Bilgisayarlı Tomografi
MR	Manyetik Rezonans
NGS	Yeni Nesil Dizileme

EQTL	Ekspresyon Kantitatif Özellik Lokusları
AR-GE	Araştırma ve Geliştirme
BKİ	Beden Kitle İndeksi

ÖZET

Bypass Operasyonu Geçiren Hastalarda Perikardiyal Sıvı ve Kan Plazmasında Metabolit Profiline Değişimi

İsmail KOYUNCU

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Kardiyovasküler hastalıklar, küresel morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenleri arasında yer almasına rağmen, özellikle koroner arter hastalığının erken teşhisi hâlen karşılanmamış kritik bir klinik ihtiyaçtır. Mevcut moleküler testlerin sınırlı spesifikasyonu ve maliyet etkinliği, yeni biyobelirteçlerin keşfini zorunlu kılmaktadır. Bu çalışma, metabolomik analizler aracılığıyla kardiyak hasara ilişkin metabolik göstergeleri belirlemeyi ve erken tanıya yönelik yenilikçi biyobelirteç adaylarını ortaya koymayı amaçlamaktadır. Metabolomik, fenotipik değişiklikleri yansıtan metabolit profillerinin sistematik analizine dayanarak, kardiyak metabolizmadaki bozuklukların dinamik bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanır. Çalışmamızda, koroner arter bypass cerrahisi uygulanan 40 hastadan alınan preoperatif plazma ve intraoperatif perikardiyal sıvı örnekleri, 40 sağlıklı bireyin plazma örnekleri ile karşılaştırıldı. Amino asit, organik asit, karnitin ve açilkarnitin profilleri, LC-MS/MS ile analiz edilerek SPSS ve MetaboAnalyst 5.0 ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Bulgular, hasta grubunda amino asit metabolizmasında belirgin değişiklikler olduğunu gösterdi: Ornitin, triptofan, serin ve aspartik asit düzeyleri plazmada kontrollere göre anlamlı artış gösterirken, perikardiyal sıvıda bu artış daha belirgindi. Karnitin metabolizmasında ise serbest karnitin (C0) ve orta zincirli açilkarnitinler (C6, C8) hasta plazmasında yükselmiş, perikardiyal sıvıda ise lokalize bir metabolik stres işareti olarak dikkat çekici seviyelere ulaşmıştır. Organik asit profillerinde, 3-hidroksipropiyonik asit (3-HP), laktik asit ve piroglutamik asit gibi 10 metabolitin hasta gruplarında anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Perikardiyal sıvı, özellikle 3-HP ve 3-hidroksibütirik asit (3-HB) gibi metabolitler açısından kardiyak dokuya özgü bir metabolik ortamı yansıttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma, perikardiyal sıvının kardiyovasküler metabolik bozuklukların değerlendirilmesinde plazmadan daha spesifik bilgi sağlayabileceğini ortaya koymuştur. Tespit edilen metabolitler, protein katabolizması, enerji metabolizması disfonksiyonu ve oksidatif stres ile ilişkili patofizyolojik süreçlere ışık tutarak, KAH'nın erken teşhisi ve prognoz tahmini için yenilikçi biyobelirteç adayları sunmaktadır. Ayrıca metabolomik tabanlı yaklaşımların klinik translasyon potansiyelini vurgulamakta ve kişiselleştirilmiş kardiyoloji stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyovasküler, LC-MS/MS, Metabolomik, Bypass, Serbest Amino Asit, Karnitin

ABSTRACT

Changes in Metabolite Profile in Pericardial Fluid and Blood Plasma in Patients Undergoing Bypass Operation

İsmail KOYUNCU

Department of Cardiovascular Surgery

PhD Thesis

Despite being a leading cause of global morbidity and mortality, cardiovascular diseases (CVDs) still face a critical unmet clinical need, particularly in the early diagnosis of coronary artery disease (CAD). The limited specificity and cost-effectiveness of current molecular tests underscore the necessity for discovering novel biomarkers. This study aims to identify metabolic signatures associated with cardiac injury through metabolomic analyses and propose innovative biomarker candidates for early diagnosis. Metabolomics, grounded in the systematic analysis of metabolite profiles reflecting phenotypic changes, enables dynamic evaluation of disruptions in cardiac metabolism. In our study, preoperative plasma and intraoperative pericardial fluid samples from 40 patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG) were compared with plasma samples from 40 healthy controls. Amino acid, organic acid, carnitine, and acylcarnitine profiles were analyzed using LC-MS/MS and statistically evaluated with SPSS and MetaboAnalyst 5.0. The findings revealed significant alterations in amino acid metabolism in the patient cohort: Ornithine, tryptophan, serine, and aspartic acid levels were markedly elevated in plasma compared to controls, with even more pronounced increases observed in pericardial fluid. In carnitine metabolism, free carnitine (C0) and medium-chain acylcarnitines (C6, C8) were elevated in patient plasma, while pericardial fluid exhibited striking levels, indicative of localized metabolic stress. Among organic acids, 10 metabolites, including 3-hydroxypropionic acid (3-HP), lactic acid, and pyroglutamic acid, showed significant differences in patient groups. Pericardial fluid specifically reflected a cardiac tissue-specific metabolic milieu, particularly through metabolites such as 3-HP and 3-hydroxybutyric acid (3-HB). This study demonstrates that pericardial fluid may provide more specific insights into cardiovascular metabolic disorders than plasma. The identified metabolites illuminate pathophysiological processes linked to protein catabolism, energy metabolism dysfunction, and oxidative stress, offering novel biomarker candidates for early CAD diagnosis and prognosis prediction. The results emphasize the clinical translation potential of metabolomics-based approaches and suggest their utility in advancing personalized cardiology strategies.

Keywords: Cardiovascular, LC-MS/MS, Metabolomics, Bypass, Free amino acid, Carnitine

1. GİRİŞ

Koroner arter hastalığı (KAH), dünyada ve ülkemizde en önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre kardiyovasküler hastalıklar her yıl yaklaşık 17,9 milyon insanın ölümüne yol açmakta, bu ölümlerin büyük çoğunluğu kalp krizi (miyokard enfarktüsü) ve inme gibi aterosklerotik olaylar nedeniyle gerçekleşmektedir (Yu vd., 2022). KAH, kalbi besleyen koroner arterlerin ateroskleroz adı verilen süreçle daralması veya tıkanması sonucu ortaya çıkan klinik durumların bütünüdür.

Ateroskleroz, damar duvarında kolesterol ve lipoprotein birikimiyle başlayan, kronik enflamasyon ve fibrozisin eşlik ettiği kompleks bir patofizyolojik süreçtir (Amin, 2021). KAH'nın tanısında günümüzde kullanılan yöntemler hastalığın doğası gereği bazı kısıtlılıklara sahiptir. Özellikle subklinik aterosklerozu ve yüksek riskli bireyleri henüz belirti vermeden tespit edebilecek yeni tanı araçlarına ihtiyaç vardır. Bu bağlamda, kan örneklerinden çalışılabilecek biyobelirteçler erken teşhis için ideal adaylardır (Fan vd., 2016).

Son yıllarda omik teknolojilerindeki gelişmeler, kardiyovasküler hastalıkların tanı ve patogenezeine ilişkin önemli bilgiler sunmuştur. Özellikle metabolomik yaklaşımlar, küçük moleküllü metabolitlerin profillenmesini mümkün kılmıştır (Shmet vd., 2025). KAH'da metabolomik çalışmalar, yeni biyobelirteçlerin belirlenmesine katkı sağlayabilecek bir alan oluşturmaktadır (Amin vd., 2019). Özellikle açıl-karnitinlerin enerji metabolizmasındaki rolü, bu bileşikleri tanısall biyobelirteç adayları hâline getirmiştir (Hosseinkhani vd., 2022).

Dallanmış zincirli amino asitlerin (BCAA) düzeylerinin artışı, insülin direnci, obezite, diyabet ve KAH ile ilişkilendirilmiştir (Moreno-Vedia vd., 2023). Bu amino asitlerin metabolizması, KAH gelişiminde önemli bir rol oynayabilir (McGarrah ve White, 2023). Amino asit metabolizmasındaki değişimler, endotel fonksiyonu, nitrik

oksit biyoyararlanımı, oksidatif stres ve inflamasyon gibi aterosklerotik süreçlerle bağlantılıdır (Zaric vd., 2020).

Organik asit düzeylerinde gözlemlenen değişiklikler, kardiyak enerji metabolizmasındaki değişimlerle açıklanabilir (Laaksonen, 2016). Örneğin, hipoksi koşullarında biriken süksinat gibi TCA ara ürünleri, KAH'nın ilerlemesiyle ilişkilidir (Chen vd., 2021).

Karnitin ve açilkarnitin metabolizmasındaki bozulmalar, KAH ciddiyetiyle pozitif korelasyon göstermektedir. Özellikle butirilkarnitin (C4) ve oktanoilkarnitin (C8:1) gibi türler, yüksek koroner kalsifikasyon ile ilişkilidir (Zhong vd., 2019). Perikardiyal sıvı (PS)'nin biyokimyasal içeriği, kalbin lokal durumunu yansıtabilir. Bu sıvıda yapılan metabolomik analizler, miyokardiyal strese verilen yanıtı ortaya çıkarabilir (Yannell vd., 2018).

Bu çalışmada hem PS hem de plazma örneklerinin incelenmesiyle, kalp çevresine ait ve sistemik düzeydeki metabolit değişimlerinin birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır. KAH'nın yüksek prevalansı ve mortalitesi, henüz klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce hastalığı tespit edebilecek yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Mevcut tanı yöntemlerinin erken evre hastalığı saptamadaki yetersizlikleri ve invaziv tanı araçlarının kısıtları göz önüne alındığında, kan örneklerinde saptanabilecek özgün biyobelirteç adaylarının belirlenmesi büyük önem taşır. Metabolomik profil analizleri, KAH'nın erken döneminde meydana gelen biyokimyasal değişimleri kapsamlı biçimde ortaya koyarak bu ihtiyaca yanıt verebilecek güçlü bir araçtır. Özellikle KAH'da enerji metabolizması, amino asit döngüleri ve yağ asidi oksidasyonunda görülen bozulmalar, plazma ve kalp çevresindeki PS'de izlenebilen metabolit değişimleriyle ilişkilidir. Bu bilimsel gerekçeden hareketle, çalışmamızda KAH'lı hastaların metabolit profillerini derinlemesine inceleyerek potansiyel biyobelirteçleri ortaya çıkarmayı hedefledik.

Bu doktora araştırmasının temel amacı, koroner arter hastalığı olan bireylerde PS ve kan plazmasındaki amino asit, organik asit ve karnitin profillerindeki değişimleri

belirlemek ve bu değişimleri sağlıklı bireylerin plazma örnekleriyle karşılaştırarak KAH'ya özgü metabolik örüntüleri ortaya koymaktır. KAH'lı hastaların PS ve plazmalarındaki belirli amino asit, organik asit ve karnitin düzeyleri, sağlıklı bireylerin plazmasına kıyasla anlamlı derecede farklılık göstermektedir; bu metabolit değişimleri, KAH'nın erken tanısında kullanılabilecek biyobelirteçleri gösterebilir.

Ayrıca bu çalışmada; KAH'lı bireylerin PS ve kan plazmasındaki metabolit profilleri, sağlıklı bireylerin plazmasına göre ne gibi farklılıklar göstermektedir ve bu farklılıklar içerisinde KAH'nın erken teşhis ve tedavisinde yeni biyobelirteçler olarak kullanılabilecek adaylar belirlenebilir mi sorusuna yanıt aranacak, elde edilecek bulgular ile KAH'nın erken tanısına ve hastalığın daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilecek metabolik belirteçlerin literatüre kazandırılması hedeflenmiştir.

Böylece, ileride daha geniş çaplı doğrulama çalışmaları ile desteklendiğinde, söz konusu biyobelirteçlerin klinik pratiğe kazandırılması ve KAH'lı hastalarda tanı, izlem ve tedavi süreçlerinin iyileştirilmesi mümkün olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), kalp ve kan damarlarının yapısını ve işlevini etkileyen çeşitli bozuklukları tanımlayan geniş bir kavramdır. Bu gruba koroner kalp hastalığı (kalbi besleyen koroner arterlerin daralması veya tıkanması sonucu oluşan anjina pectoris ve miyokard enfarktüsü), serebrovasküler hastalık (inme gibi beyin damarlarını etkileyen hastalıklar), periferik arter hastalığı (kol ve bacaklardaki damar hastalıkları), romatizmal kalp hastalığı (romatizmal ateşin kalp kapaklarına zarar vermesi) ve konjenital kalp hastalıkları (doğumsal kalp bozuklukları) gibi alt tipler dahildir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre KVH, küresel düzeyde en önemli ölüm nedenidir; 2019 yılında yaklaşık 17,9 milyon kişi kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetmiştir ve bu rakam toplam ölümlerin %32'sine karşılık gelmektedir. (World Health Organization, 2021). Bu KVH kaynaklı ölümlerin %85'ini miyokard enfarktüsü ve inme gibi akut vasküler olaylar oluşturmaktadır (World Health Organization, 2021). KVH ölümlerinin coğrafi dağılımına bakıldığında, üçte birden fazlasının düşük ve orta gelirli ülkelerde gerçekleştiği dikkat çekmektedir (World Health Organization, 2021). Gelişmiş ülkelerde son yıllarda kardiyovasküler mortalitede görece azalma eğilimleri görülse de gelişmekte olan ülkelere yüksek risk faktörlerinin yaygınlığı nedeniyle KVH halen artış göstermektedir.

Türkiye'de de benzer şekilde kardiyovasküler hastalıklar başlıca ölüm nedenidir. Ülkemizdeki resmî istatistiklere göre toplam ölümlerin %40'a yakını kalp ve damar hastalıklarından kaynaklanmaktadır (Kayıkçıoğlu ve Oto, 2020). Örneğin, 2018 yılında Türkiye'de ölümlerin %39,7'si KVH nedeni olarak kaydedilmiştir (Kayıkçıoğlu ve Oto, 2020). Bu oranlar, kardiyovasküler hastalıkların ülke çapında halk sağlığı ve sağlık hizmetleri üzerinde ciddi bir yük oluşturduğunu göstermektedir. Bu yükün altında yatan temel etmen, KVH gelişiminde rol oynayan risk faktörlerinin toplumda yaygın olmasıdır.

2.1.1. Kardiyovasküler Risk Faktörleri

KVH gelişimine yol açan birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bu faktörler, değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörleri olarak sınıflandırılabilir. Değiştirilemez risk faktörleri arasında ileri yaş, erkek cinsiyet ve aile öyküsü sayılabilir. Buna karşın, büyük ölçüde önlenabilir ya da kontrol altına alınabilir olan değiştirilebilir risk faktörleri, KVH'nin önlenmesi açısından kritik önem taşımaktadır. Hipertansiyon, dislipidemi, sigara kullanımı, diyabetes mellitus, obezite ve fiziksel hareketsizlik en önemli değiştirilebilir risk faktörleri arasında yer almaktadır (Yusuf vd., 2004). Bunlara ek olarak aşırı alkol tüketimi, sağlıksız beslenme, kronik stres ve hava kirliliği gibi faktörler de KVH riskini artırmaktadır (World Health Organization, 2021). INTERHEART çalışması, miyokard infarktüsü riskinin %90'ından fazlasının dokuz önemli değiştirilebilir risk faktörüyle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Yusuf vd., 2004). Bu risk faktörleri arasında anormal kan lipid düzeyleri, özellikle yüksek ApoB/ApoA1 oranı, sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet, abdominal obezite, psikososyal stres, yetersiz meyve-sebze tüketimi, fiziksel hareketsizlik ve aşırı alkol alımı yer almaktadır (Yusuf vd., 2004). Dolayısıyla KVH'nin gelişiminde yaşam tarzı ve çevresel faktörler önemli rol oynamakta; bu faktörlerin kontrol altına alınmasıyla hastalık yükünün önemli ölçüde azaltılabileceği düşünülmektedir.

KVH, başlangıçta genellikle sessiz seyreden ve yıllar boyunca ilerleyen kronik süreçler sonucunda ortaya çıkar. Örneğin ateroskleroz, çocukluk veya ergenlik döneminden itibaren damar duvarında yağ birikimiyle başlayıp onlarca yıl sonra klinik olarak belirgin kardiyovasküler olaylara yol açabilir. Bu nedenle, risk faktörlerine maruziyetin mümkün olduğunca erken dönemde azaltılması ve toplum düzeyinde koruyucu önlemlerin alınması, KVH yükünü azaltmanın en etkili yoludur. Nitekim gelişmiş ülkelerde sigara kullanımının azaltılması, hipertansiyon ve hiperlipidemi tedavilerinin yaygınlaşması gibi halk sağlığı tedbirleri sayesinde son yarım yüzyılda KVH'ye bağlı ölüm hızlarında belirgin düşüşler kaydedilmiştir (Lauer, 2012). Ancak, buna rağmen kardiyovasküler hastalıklar halen dünyada birinci sıradaki ölüm nedeni olmaya devam etmektedir ve özellikle yaşlanan nüfus yapısıyla birlikte toplam hasta sayısı yüksek kalmaktadır (Hansson, 2005). Kardiyovasküler hastalıklar, toplum sağlığı

üzerinde büyük bir yük oluşturan, yaygın ve büyük ölçüde önlenabilir hastalıklardır. Bu hastalıklar ve risk faktörleriyle mücadele, günümüzde hem ulusal sağlık politikalarının hem de bilimsel araştırmaların en öncelikli alanlarından birini oluşturmaktadır.

2.1.2. Patofizyolojisi

KVH'nin patofizyolojisi, altta yatan spesifik hastalığa göre değişebilmekle birlikte, çoğu KVH'nin temelinde ateroskleroz adı verilen patolojik süreç önemli yer tutar. Ateroskleroz, atardamarların iç yüzeyinde yağ ve kolesterol birikimine bağlı olarak plak oluşumu ile karakterize kronik bir damar duvarı hastalığıdır. Bu süreç, genellikle çocukluk veya genç erişkinlik döneminde endotel hücre disfonksiyonu ile başlar. Endotel tabakası, kan damarlarının iç yüzünü döşeyen ve normalde pürüzsüz bir yüzey ile damar tonusunun ve homeostazının korunmasını sağlayan hücre tabakasıdır. Yüksek tansiyon, sigara dumanındaki toksik maddeler, uzun süreli yüksek kan şekeri düzeyleri veya yüksek LDL kolesterol gibi risk faktörleri damarlardaki endotelin bütünlüğünü ve işlevini bozar. Endotel bütünlüğünün bozulması ve permeabilitesinin artmasıyla birlikte, dolaşımdaki LDL kolesterol partikülleri damar duvarının iç tabakası olan intima tabakasına sızar. Burada LDL partikülleri oksidasyona uğrayarak okside LDL haline gelir ve bu modifiye lipid partikülleri bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak algılanır.

Vücut savunmasında görev alan monosit adlı beyaz kan hücreleri, hasarlı endotel bölgesine göç ederek dokuya geçer ve makrofajlara dönüşür. Makrofajlar okside LDL'i fagosit etmeye çalışır; ancak aşırı lipid yükü altında makrofajların sitoplazması yağ damlacıkları ile dolar ve köpük hücreler oluşur. Köpük hücreler, aterosklerotik plağın erken lezyonu olan yağlı çizgilenme alanlarını oluşturur. Zamanla, biriken lipidler ve hücre artıkları, damarın düz kas hücrelerinin de intima tabakasına göç etmesini uyarır. Düz kas hücreleri kollajen ve fibroz doku üretimiyle plağın fibroz kapağını oluşturur. Böylece damarın iç yüzeyinde aterom plağı gelişir. Plağın merkezinde hücre artıkları, kolesterol kristalleri ve köpük hücrelerinden içeren nekrotik bir çekirdek bulunurken, çevresi fibrotik bir kılıf ile çevrilidir.

Ateroskleroz ilerledikçe plak boyutu artar ve damar lümenini daraltmaya başlar. Koroner arterler gibi hayati organlara kan götüren damarlarda lümen çapının %50'yi aşan oranlarda daralması, dokunun kanlanması azaltarak miyokard iskemisine, yani kalp kasının yeterli oksijen alamadığı bir duruma, neden olabilir. Sonuçta eforla ortaya çıkan göğüs ağrısı gibi koroner arter hastalığının klinik belirtileri ortaya çıkabilir. Aterosklerotik plakların yüzeyi genellikle stabil bir fibrotik kapakla örtülüdür; ancak iltihabi süreç plağın yapısını zayıflatabilir. Araştırmalar, aterosklerozun yalnızca pasif bir yağ birikimi olmadığını, aksine aktif bir enflamatuvar süreç olduğunu göstermiştir (Hansson, 2005; Libby, 2002). Aterosklerotik lezyonlarda, başta T lenfositleri olmak üzere bağışıklık sistemi hücreleri ve bunların ürettiği sitokinler bulunur; bu hücreler ve mediyatörler plağın oluşumunu ve ilerlemesini hızlandırır (Libby, 2002). Enflamasyon aynı zamanda plakların kararsız hale gelmesine ve komplikasyon gelişmesine yol açabilir. Özellikle plak içinde enflamatuvar aktivitenin artması, plağın fibroz kapağını incelterek yırtılmaya meyilli hale getirir. Plak rüptürü denilen bu olay gerçekleştiğinde, plak içindeki trombojenik, yani pıhtı oluşumuna neden olabilen, içerik kan ile temas eder ve ani pıhtı oluşumunu tetikler. Koroner arter içinde oluşan büyük bir pıhtı, damarı aniden tıkayarak kalp kasının ilgili bölgesine kan akışını tamamen kesebilir. Bu durum akut miyokard enfarktüsü, yani kalp krizi, olarak bilinir ve kalp kasında geri dönüşümsüz nekroza yol açar. Benzer şekilde, beyin damarlarında bir aterosklerotik plağın yırtılması veya kalpten atılan bir pıhtının beyin damarını tıkaması iskemik inme ile sonuçlanabilir. Dolayısıyla ateroskleroz ve enflamasyon, koroner kalp hastalığı ve iskemik inme gibi en yaygın KVVH'lerin patofizyolojisinin temelinde yer alır (Hansson, 2005).

Ateroskleroz dışında, KVVH patofizyolojisinde farklı mekanizmalar da rol oynamaktadır. Kalp yetersizliği (KY), genellikle kalbin yapısal veya fonksiyonel hasarı sonrasında pompa fonksiyonunun bozulmasıyla ortaya çıkar. Uzun süreli hipertansiyona bağlı gelişen sol ventrikül hipertrofisi ve fibrozisi ya da geçirilmiş yaygın miyokard infarktüsleri sonucunda kalp kasının zayıflaması, sistolik KY'ye yol açabilir. Ayrıca diyastolik dolumun bozulduğu KY alt tipleri, özellikle hipertansif kalp hastalığı ve restriktif kardiyomiyopatilerde görülmektedir. KY'nin patofizyolojisinde nöro hormonal aktivasyonun artması, özellikle sempatik sinir sistemi ve renin-anjiyotensin-aldosteron

sistemi aktivasyonu önemli rol oynamakta; bu durum kalpte yapısal yeniden şekillenmeyi hızlandırmaktadır. Aritmilerin patofizyolojisi ise elektriksel ileti sistemindeki bozukluklarla ilişkilidir; örneğin atriyal fibrilasyon sıklıkla atriyum duvarındaki fibrozis ve yapısal değişikliklerle tetiklenirken, ventriküler aritmiler çoğunlukla enfarktüs skarı çevresindeki yeniden giriş yollarından kaynaklanır.

Özetle, kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisi çok yönlüdür ve genellikle aterosklerotik süreç etrafında şekillenir. Aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde hiperlipidemi, hipertansiyon ve sigara gibi risk faktörleri metabolik ve enflamatuvar yollarla etkili olurken, hastalığın klinik hale gelmesi çoğunlukla aterosklerotik plağın kararsızlaşıp yırtılması ve ani damar tıkanıklığı oluşturmasıyla ortaya çıkar. Bu bilgiler ışığında, KVVH'nin önlenmesinde risk faktörlerinin etkin biçimde kontrol altına alınması, örneğin kolesterol ve tansiyon düşürücü tedavilerin uygulanması ile sigaranın bırakılması, ayrıca enflamasyonu azaltmaya yönelik stratejiler önem kazanmıştır. Nitekim, enflamasyonun KVVH'deki rolünün anlaşılmasıyla birlikte anti-enflamatuvar tedavilerin etkinliği de araştırılmaya başlanmıştır. Örneğin, interleukin-1 β inhibitörü bir ajanla yürütülen CANTOS çalışması, enflamasyonu azaltmanın kalp krizi geçirmiş hastalarda tekrarlayan kalp krizi riskini anlamlı ölçüde azalttığını göstererek bu yeni tedavi yaklaşımının potansiyelini ortaya koymuştur (Ridker vd., 2017).

Sonuç olarak, KVVH karmaşık patofizyolojik mekanizmalara sahip olmakla birlikte, ortak paydada sıklıkla hiperlipidemi ve diyabet gibi metabolik bozukluklar ile damar duvarında inflamasyon ve tromboz eğilimi yer almaktadır. Bu süreçlerin daha iyi anlaşılması, KVVH'nin önlenmesi ve tedavisi için yeni hedeflerin belirlenmesine ve yenilikçi tedavi stratejilerinin geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır.

2.1.3. Epidemiyoloji

KVVH, dünya genelinde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde mortalite ve morbiditenin başlıca nedenleri arasında yer almaktadır. Küresel epidemiyolojik verilere göre, 2020 itibarıyla dünya çapında tüm ölümlerin üçte birinden fazlası KVVH nedeniyle gerçekleşmiştir (World Health Organization, 2021). Dünya Sağlık

Örgütü'nün 2019 verilerine göre 17,9 milyon kişi KVVH nedeniyle hayatını kaybetmiştir (World Health Organization, 2021). Bu ölümlerin büyük kısmını başta miyokard enfarktüsü olmak üzere iskemik kalp hastalığı ve inme oluşturmaktadır. KVVH, 50 yaş üzerindeki bireylerde sağlıklı yaşam süresinin kısalmasına yol açan en önemli nedenlerden biri olmaya devam etmektedir. Dünyada 369 hastalık arasında kardiyovasküler hastalıklar, özellikle ileri yaş gruplarında, en yüksek ölüm ve sakatlık yüküne neden olan hastalık grubu olarak öne çıkmaktadır.

KVVH yükü, coğrafi bölgeler ve ülkelerin gelir düzeylerine göre farklılık göstermektedir. Yüksek gelirli ülkelerde son 50 yılda koroner kalp hastalığı ve inme kaynaklı ölüm oranlarında belirgin düşüşler gerçekleşmiştir. Bu düşüşte tütün kontrol politikaları, sağlıklı beslenme farkındalığının artması, kan basıncı ve kolesterol düzeylerinin ilaç tedavileriyle kontrol altına alınması, akut koroner sendromların tedavisindeki ilerlemeler ve koruyucu kardiyoloji uygulamalarının yaygınlaşması etkili olmuştur (Lauer, 2012). Nitekim 20. yüzyılın ikinci yarısından günümüze, özellikle Kuzey Amerika ve Batı Avrupa başta olmak üzere pek çok bölgede yaşa standardize edilmiş KVVH ölüm hızlarında belirgin azalmalar kaydedilmiştir (Lauer, 2012). Örneğin, ABD'de 1950'lerden 2000'li yıllara kadar koroner kalp hastalığına bağlı ölüm oranlarında %60'ı aşan azalma kaydedilmiştir (Lauer, 2012). Bununla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde ve düşük gelirli bölgelerde KVVH yükü artma eğilimindedir. Özellikle Güney Asya, Orta Doğu ve Sahra Altı Afrika'nın bazı bölgelerinde sigara kullanımı, yüksek tuz tüketimi, hipertansiyon, sağlıksız beslenme ve sağlık hizmetlerine erişimdeki kısıtlılıklar nedeniyle KVVH kaynaklı ölümler önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya genelinde KVVH ölümlerinin %75'inden fazlası düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmektedir (World Health Organization, 2021). Bu durum, küresel sağlık eşitsizlikleri bağlamında KVVH'nin önemini ortaya koymaktadır.

Türkiye'de epidemiyoloji: Türkiye'de KVVH uzun yıllardır başlıca ölüm nedenleri arasında yer almaktadır.

1990'lı yıllarda Türkiye'de toplam ölümlerin yaklaşık %45'i KVVH'ye bağlı iken, 2000'li yıllarda bu oran %40 civarına gerilemiş; son yıllarda ise %35-40 bandında seyretmiştir (Kayıkçıoğlu ve Oto, 2020; T.C. Sağlık Bakanlığı ve World Health

Organization, 2018). TÜİK ölüm istatistiklerine göre 2022 yılında Türkiye’de gerçekleşen ölümlerin %35,4’ü dolaşım sistemi hastalıkları nedeniyle meydana gelmiştir. Bu oranın yıllar içinde kademeli bir düşüş göstermesi, ülkemizde de koruyucu sağlık önlemlerinin ve tedavi olanaklarının zamanla etkisini gösterdiğine işaret edebilir. Ancak yine de her yıl yaklaşık yarım milyon insanımızın yaşamını yitirdiği ülkemizde, bu ölümlerin üçte birinden fazlasının kalp-damar hastalıklarından olması ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Ayrıca, KVVH yalnızca mortaliteye yol açmakla kalmayıp; KY ve inme sonrası gelişen kalıcı nörolojik sekeller gibi kronik sağlık sorunlarına da neden olarak önemli bir morbidite yükü oluşturmaktadır. Türkiye’de KY prevalansı erişkin nüfusta %2’nin üzerinde olup (Virani vd., 2020) bu da giderek daha fazla sayıda hastanın yaşam kalitesini düşüren ve sağlık sistemine maliyet getiren bir tablo ortaya koymaktadır.

Demografik değişimler: Hem dünya genelinde hem de Türkiye özelinde nüfusun yaşlanması, KVVH epidemiyolojisini etkilemektedir. Yaşlı popülasyonun artmasıyla birlikte, kronik kalp-damar hastalıklarının toplam vaka sayısı artış göstermektedir. Her ne kadar primer korunma ve tedaviyle her bir bireyin KVVH’den ölme riski azalsada, daha fazla insan ileri yaşlara ulaştığı için toplam KVVH vaka sayıları ve buna bağlı sağlık hizmeti ihtiyacı yüksek seyretmektedir. Örneğin, 1990’da dünyada iskemik kalp hastalığından ölen kişi sayısı yaklaşık 5,7 milyon iken 2021’de bu sayı 9 milyona yaklaşmıştır (World Health Organization, 2021). Bu artış büyük ölçüde nüfus artışı ve yaşlanmasına bağlıdır. Benzer şekilde, Türkiye’de de 2030 yılına gelindiğinde kardiyovasküler ölümlerin mutlak sayısında artış olacağı öngörülmektedir (Yusuf vd., 2004).

KVVH’nin toplum üzerindeki etkileri: KVVH yalnızca sağlık göstergelerini değil, aynı zamanda ekonomik ve sosyal göstergeleri de olumsuz etkileyen önemli bir hastalık grubudur. Çalışma çağındaki bireylerde kalp krizi veya inme sonucunda meydana gelen erken ölümler ya da kalıcı sakatlıklar, toplumun üretken nüfusunda kayıplara yol açmaktadır. Ayrıca KVVH’nin tedavisi için yapılan sağlık harcamaları, uzun süreli bakım giderleri ve iş gücü kaybı nedeniyle ülkeler ciddi ekonomik yüklerle karşı karşıya kalmaktadır. Epidemiyolojik veriler, KVVH’nin ülkelerin sağlık sistemleri üzerinde en

fazla harcama yapılan hastalık gruplarından biri olduğunu göstermektedir. Örneğin, Avrupa Birliği genelinde KVH'nin yıllık maliyetinin 282 milyar Euro düzeyinde olduğu, bunun sağlık harcamalarının %11'ine karşılık geldiği ve ayrıca gayri resmi bakım ve üretkenlik kaybı gibi dolaylı maliyetlerin de bu yükün önemli bir parçasını oluşturduğu rapor edilmiştir (Luengo-Fernandez vd., 2023). ABD'de de kardiyovasküler hastalıkların yıllık toplam maliyetinin 2020'de yaklaşık 400 milyar dolar olduğu ve mevcut trendler devam ederse 2030'lu yıllarda trilyon dolar seviyesine ulaşabileceği öngörülmektedir (Heidenreich vd., 2011).

Türkiye'de KVH'in ve diğer kronik hastalıkların ekonomik etkisine ilişkin yapılan bir ortak çalışma, 2016 yılı itibarıyla bulaşıcı olmayan hastalıkların (kalp-damar hastalıkları, diyabet, kanserler ve kronik akciğer hastalıkları dahil) Türkiye ekonomisine yıllık maliyetinin 69,7 milyar TL olduğunu belirtmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı ve World Health Organization, 2018). Bu tutar, o yılın gayri safi yurt içi hasılasının yaklaşık %3,6'sına denk gelmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı ve World Health Organization, 2018). Bu toplam maliyetin sadece üçte birini doğrudan sağlık harcamaları oluştururken, geri kalanı iş gücü verimliliği kaybı ve erken emeklilik gibi dolaylı etkilerden kaynaklanmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı ve World Health Organization, 2018). KY gibi kronik KVH'lerin de ülke ekonomisine önemli yük bindirdiği; örneğin KY olan bir hastanın yıllık ortalama sağlık maliyetinin 800-1000 dolar aralığında olduğu ve Türkiye'de KY'nin toplam yıllık maliyetinin 7-8 milyar TL düzeyine ulaştığı bildirilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı ve World Health Organization, 2018). Tüm bu veriler, kardiyovasküler hastalıkların etkin kontrolünün sadece sağlık alanında değil, ekonomik ve sosyal alanlarda da kazanımlar sağlayacağını göstermektedir.

2.1.4. Tedavisi ve Ülke Ekonomisi Üzerine Etkileri

KVH'nin tedavisi, hastalığın türü ve ciddiyetine göre değişiklik gösteren çok disiplinli bir yaklaşımı gerektirir. Koruyucu tedbirler ve tıbbi tedavi: KVH'nin yönetiminde birincil hedef, risk faktörlerinin kontrol altına alınmasıdır. Bu amaçla yaşam tarzı değişiklikleri (tütün kullanımının bırakılması, sağlıklı beslenme, düzenli egzersiz, tuz ve alkol alımının kısıtlanması, kilo kontrolü) temel taşı oluşturur. Bunların

yanı sıra kan basıncının kontrolü için antihipertansif ilaçlar, dislipidemi yönetimi için statin grubu lipid düşürücü tedaviler, diyabet kontrolü için antidiyabetik ajanlar kullanılır. Özellikle statin grubu ilaçların kullanımı, LDL kolesterolü düşürerek aterosklerotik plak ilerlemesini yavaşlatmada ve kardiyovasküler olay riskini azaltmada büyük başarılar sağlamıştır. Hipertansiyon tedavisinde anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, beta-blokerler, kalsiyum kanal blokerleri ve diüretikler gibi ajanların uygun kombinasyonlarıyla kan basıncı hedef değerlerde tutulmaya çalışılır. Kan sulandırıcı antiplatelet tedaviler ise özellikle koroner arter hastalığı veya serebrovasküler hastalığı olan hastalarda, yeni bir kalp krizi veya inme riskini azaltmak için yaygın biçimde kullanılmaktadır (örneğin aspirin veya çift antiplatelet tedavi).

Girişimsel ve cerrahi tedaviler: İlerlemiş KAH'da perkütan koroner girişimler (PKG) ve koroner arter bypass greft (KABG) ameliyatları sık uygulanan tedavi yöntemleridir. Akut miyokard enfarktüsünde, tıkanan koroner damarın hızlı bir şekilde açılması için primer anjiyoplasti (balon anjiyoplasti veya stent uygulaması) hayat kurtarıcı bir girişimdir. Stabil koroner hastalıkta ise yaygın üç damar hastalığı ya da sol ana koroner darlığı varlığında KABG ameliyatı tercih edilebilir. Bypass ameliyatı, hastanın kol veya bacak damarlarından alınan greftlerle tıkanık koroner bölgelerine alternatif kan yolu oluşturulması prensibine dayanır. KABG sonrası hastalarda yaşam kalitesinde ve semptomlarda belirgin iyileşme görülürken, uzun vadede hayatta kalım avantajı da sağlanabilmektedir. Bu avantaj özellikle sol ana koroner arter hastalığı olan olgularda daha belirgin olabilmektedir. Kalp kapak hastalıklarında ise bozulmuş kapakların cerrahi onarımı veya kapak replasmanı uygulanmaktadır. Son yıllarda transkateter yöntemle yapılan aort kapak implantasyonu (TAVI) gibi yenilikçi girişimler, yüksek riskli hastalarda cerrahiye alternatif bir seçenek hâline gelmiştir. İleri KY vakalarında ise ilaç tedavilerine ek olarak implante edilebilir kardiyoverter defibrilatör (ICD), kardiyak resenkronizasyon tedavisi (CRT), kalp nakli veya mekanik destek cihazları gündeme gelebilmektedir.

Tedavideki gelişmelerin etkisi: Son yarım yüzyılda KAH'ın tedavisinde yaşanan önemli gelişmeler, toplum düzeyinde bu hastalıklara bağlı ölüm ve morbidite oranlarını belirgin ölçüde azaltmıştır. Özellikle akut koroner sendromların yönetiminde yoğun

bakım uygulamaları, trombolitik tedaviler ve primer anjiyoplasti gibi yöntemlerin kullanıma girmesiyle miyokard enfarktüsüne bağlı erken dönem ölüm oranlarında belirgin bir düşüş sağlanmıştır. Ayrıca, kronik KAH'da ikili antiagregan tedavi, yüksek doz statin ve beta-bloker gibi tedavi yaklaşımları ile ikinci bir kardiyak olay geçirme riski azaltılmaktadır. KY tedavisinde ise nöro hormonal blokaj sağlayan ACE inhibitörleri, beta-blokerler ve daha yeni ajanlar olan anjiyotensin reseptör-neprilisin inhibitörleri ile SGLT2 inhibitörleri sayesinde hastaların prognozunda iyileşme sağlanmıştır. Atrial fibrilasyon gibi ritim bozukluklarında antikoagülan ilaçlarla inme riskinin azaltılması, invaziv ablasyon tedavileriyle ritmin düzeltilmesi mümkün olabilmektedir. Tüm bu gelişmelerin sonucunda, örneğin ABD'de 1960'larda bir yıl içinde kalp krizi geçiren hastaların yaklaşık %30'u ilk yıl içinde ölürken, günümüzde modern tedaviler sayesinde bu oran %10'un altına inmiştir (Lauer, 2012). Bu kazanımlar, kardiyovasküler alandaki tanı ve tedavi yaklaşımlarındaki araştırma ve geliştirme çalışmalarının doğrudan bir sonucudur.

Ülke ekonomisi üzerine etkileri: KVH tedavisi; pahalı ileri teknolojilerin ve uzun süreli bakımın kullanıldığı bir alan olduğu için, ülkelerin sağlık harcamalarında büyük bir pay tutmaktadır. Özellikle kalp cerrahisi, girişimsel kardiyoloji, yoğun bakım ve ileri görüntüleme yöntemleri gibi maliyetli uygulamalar, KVH yükünün ekonomik boyutunu artırır. Örneğin, tek bir koroner bypass ameliyatının sağlık sistemi maliyeti on binlerce TL'yi bulabilmektedir. KY olan bir hastanın sık hastane yatışları, cihaz implantasyonları ve ilaç giderleri düşünüldüğünde, tedavi masrafları kişi başı oldukça yüksektir. Avrupa'da yapılan bir çalışmada, KVH ile ilişkili sağlık harcamalarının kişi başına yıllık ortalama 630 Euro olduğu ve bu değer in ülkeden ülkeye kadar çıkabildiği rapor edilmiştir (Luengo-Fernandez vd., 2023). Türkiye'de toplam sağlık harcamalarının da önemli bir kısmı kalp-damar hastalıkları ve bunların komplikasyonlarının yönetimine gitmektedir. Bunun yanı sıra, KVH nedeniyle erken yaşta emekli olan, çalışamaz hale gelen bireylerin ülke ekonomisine dolaylı maliyeti de büyüktür. Hesaplamalara göre Türkiye'de kronik hastalıklara bağlı iş gücü ve üretkenlik kaybı, GSYİH'nin yaklaşık %1,5-2'si oranında bir yük oluşturabilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı ve World Health Organization, 2018).

Tüm bu nedenlerle, KVH'nin etkin tedavisi kadar önlenmesi de ülke ekonomisi üzerinde olumlu etki yapacaktır. Önlenmiş her kalp krizi, hem bir insanın hayat kalitesini ve yaşamını kurtaracak hem de maliyetli bir yoğun bakım ve girişimsel tedavinin gerekliliğini ortadan kaldıracaktır. Dünya Bankası ve Dünya Sağlık Örgütü raporlarında, kalp-damar sağlığına yapılan yatırımların maliyet-etkinliğinin yüksek olduğu, çünkü sağlıklı nüfusun daha üretken ve sağlık harcamalarının daha düşük olacağı vurgulanmaktadır (Gaziano vd., 2020). Bu bağlamda, ulusal düzeyde tütün kontrol programları, tuz azaltma girişimleri, hareketli yaşam kampanyaları ve risk faktörlerinin taranması gibi halk sağlığı politikaları, uzun vadede ülke ekonomisine pozitif yansımaları olacak adımlar olarak değerlendirilebilir.

2.1.5. Tanıya yönelik AR-GE Çalışmaları

KVH yükünün büyüklüğü, bu alanda tanı ve tedaviyi iyileştirmeye yönelik araştırma ve geliştirme çalışmalarının da yoğunlaşmasına neden olmuştur. Son yarım yüzyılda kardiyovasküler bilim ve klinik uygulamalarında görülmemiş ilerlemeler kaydedilmiştir (Lauer, 2012). Bu ilerlemeler sayesinde kalp hastalığı ve inme nedeniyle yaşanan mortalite oranlarında belirgin düşüşler gerçekleşmiştir (Lauer, 2012). Ancak KVH hâlâ küresel ölçekte önde gelen ölüm sebebi olmaya devam ettiği için, araştırmacılar ve klinisyenler hastalığın önlenmesi, erken tanısı ve etkin tedavisi konularında yeni yaklaşımlar geliştirmeye devam etmektedir.

Tanıda yenilikçi yaklaşımlar: KVH'nin tanısında son yıllarda hem görüntüleme teknolojilerinde hem de biyobelirteç keşfinde önemli Ar-Ge çalışmaları yürütülmektedir. Görüntüleme alanında, örneğin yüksek çözünürlüklü koroner BT anjiyografi ve manyetik rezonans görüntüleme (MR), koroner arter hastalığının non-invaziv olarak tespitinde yaygınlaşmıştır. Fonksiyonel görüntüleme testleri (nükleer tıp perfüzyon sintigrafileri, stres ekokardiyografi, PET-MR hibrit görüntüleme) iskeminin saptanmasında geliştirilmiştir. İntravasküler ultrason ve optik koherens tomografi gibi yenilikçi yöntemler, damar içinden plak özelliklerini değerlendirerek riskli plakların belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Tanısal alanda bir diğer önemli gelişme, kan biyobelirteçlerindeki ilerlemedir. Örneğin, kalp krizi tanısında devrim yaratan troponin

testi, yüksek duyarlılığa sahip versiyonlarıyla artık çok daha erken dönemde ve düşük düzeydeki hasarı bile saptayabilir hâle gelmiştir. Bu sayede akut koroner sendrom tanısı daha hızlı ve güvenilir konulabilmektedir. Benzer şekilde KY tanısında NT-proBNP gibi peptit biyobelirteçler günlük pratiğin ayrılmaz bir parçası olmuştur. Ar-Ge çalışmaları, bu geleneksel biyobelirteçlerin yanı sıra yeni moleküler belirteçler arayışına odaklanmaktadır. Örneğin, damar duvarındaki enflamasyonun bir göstergesi olan yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein (hs-CRP) düzeylerinin kardiyovasküler risk öngörüsündeki yeri araştırılmış ve CRP yüksekliğinin gelecekteki kardiyovasküler olaylar için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Libby, 2002). Bu bulgu, aterosklerozun enflamatuvar doğasını desteklemiş ve yeni tedavi stratejilerine ilham vermiştir.

Kardiyovasküler araştırmalarda son 20 yılda devrim yaratan bir gelişme de yüksek çıktılı “-omik” teknolojilerin kullanıma girmesidir. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi alanlardaki teknolojik atılımlar sayesinde hastalıkların altta yatan moleküler mekanizmaları çok daha kapsamlı biçimde incelenebilmektedir. Örneğin genomik çalışmalar, koroner arter hastalığı ile ilişkilendirilebilecek yüzlerce genetik varyant tespit etmiş ve bireylerin genetik risk skorları hesaplanarak yüksek riskli kişilerin daha erken dönemde yakalanması hedeflenmiştir. Metabolomik çalışmalar ise, KVH riskini yansıtabilecek yeni metabolit biyobelirteçlerinin keşfine olanak tanımıştır. Bu sayede klasik risk faktörleri dışında, örneğin trimetilamin-N-oksit (TMAO) gibi bağırsak mikrobiyom kökenli bir metabolitin yüksek düzeylerinin ateroskleroz riskini artırdığı saptanmış ve bu bulgu beslenme ve mikrobiyota düzenlemesi alanında yeni stratejiler doğurmuştur (Wang vd., 2011). Modern yüksek çıktılı teknolojiler, hastalıkların karmaşık yapısını daha bütüncül biçimde anlamamızı sağlamakta; aynı zamanda kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımlarını da mümkün kılmaktadır. Artık hastalar genetik profillerine, kanlarındaki biyobelirteç kombinasyonlarına ve hatta bağırsak florası yapısına göre alt gruplara ayrılarak, en uygun tedavi stratejisi belirlenmeye çalışılmaktadır (Wang vd., 2021). Örneğin, bir hasta grubunda enflamasyon belirteçleri yüksek seyrediyorsa, bu grupta antiinflamatuvar tedaviler ön plana çıkarılabilir. Benzer şekilde, lipoprotein(a) düzeyi yüksek olan bireylerde, bu molekülü hedefleyen spesifik antisens oligonükleotid tedavileri gibi yeni ajanlar değerlendirilebilir.

2.2. Kardiyovasküler Hastalıklar ve Koroner Arter Hastalığı

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), kalp ve damar sistemini etkileyen, dünya genelinde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenleri arasında yer alan geniş bir hastalık grubudur. Bu grup içinde koroner arter hastalığı (KAH), miyokardın oksijen ve besin gereksinimini karşılayan koroner arterlerin çoğunlukla aterosklerotik süreçlerle daralması veya tıkanması sonucunda gelişen klinik bir tablodur (World Health Organization; 2025). KAH; stabil anjina pectoris, akut koroner sendromlar, miyokard enfarktüsü, kalp yetersizliği ve ani kardiyak ölüm gibi farklı klinik sonuçlara yol açabilmesi nedeniyle hem erken tanı hem de risk öngörüsü açısından kritik öneme sahiptir (World Health Organization; 2025. Hansson GK, 2005).

KAH patofizyolojisinin temelinde endotelial disfonksiyon, lipid birikimi, kronik inflamasyon, oksidatif stres, düz kas hücresi proliferasyonu ve aterosklerotik plak gelişimi yer alır (Hansson GK, 2005. Libby P, 2002). Plak ilerlemesi yalnızca damar lümeninin daralmasına neden olmaz; aynı zamanda miyokardiyal kan akımını, oksijen sunumunu ve hücrel enerji metabolizmasını da etkiler. Bu nedenle KAH, yalnızca anatomik bir damar hastalığı değil, aynı zamanda sistemik ve lokal metabolik bozukluklarla karakterize karmaşık bir kardiyometabolik hastalık olarak değerlendirilmelidir (Taegtmeyer H vd., 2016).

2.3. Koroner Arter Hastalığında Metabolik Yeniden Programlanma

Kalp dokusu, sürekli kasılma işlevini sürdürebilmek için yüksek enerji gereksinimine sahip bir organdır. Normal koşullarda miyokard enerjisinin büyük bölümü yağ asidi oksidasyonundan sağlanırken, glukoz, laktat, amino asitler ve keton cisimcikleri de enerji metabolizmasına katkı sağlar (Taegtmeyer H vd., 2016). KAH ve miyokardiyal iskemi durumlarında oksijen sunumunun azalması, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulması ve substrat kullanımında değişiklikler meydana gelir. Bu süreçte yağ asidi oksidasyonu, amino asit metabolizması, organik asit döngüsü ve karnitin/açılıkarnitin dengesi etkilenebilir (Taegtmeyer H vd., 2016, Wishart DS. 2019).

Miyokardiyal enerji metabolizmasındaki bu değişimler, dolaşımdaki veya kardiyak dokuya yakın biyolojik sıvılardaki metabolit profillerine yansıyabilir. Bu nedenle amino asitler, organik asitler, serbest karnitin ve açilkarnitinler; KAH'da enerji yetersizliği, mitokondriyal stres, protein katabolizması, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtların değerlendirilmesinde önemli moleküler göstergeler olarak ele alınmaktadır (Wishart DS. 2019, Amin AM, 2021, Fan Y vd., 2016).

2.4. Metabolomik Yaklaşımın KAH Araştırmalarındaki Önemi

Metabolomik, biyolojik sistemlerdeki düşük moleköl ağırlıklı metabolitlerin nitel ve nicel olarak incelenmesini sağlayan omik temelli bir analiz yaklaşımıdır. Genomik ve proteomik veriler biyolojik potansiyeli ve moleküler düzenlenmeyi ortaya koyarken, metabolomik veriler hücre, doku veya organizmanın mevcut fenotipik durumunu daha doğrudan yansıtır (Wishart DS. 2019). Bu yönüyle metabolomik, KAH gibi çok faktörlü hastalıklarda hastalığın yalnızca varlığını değil, metabolik şiddetini ve biyokimyasal yönelimini de değerlendirme potansiyeline sahiptir (Amin AM, 2021, Fan Y vd., 2016).

KAH alanında yapılan metabolomik çalışmalar, plazma ve serum örneklerinde lipidler, amino asitler, açilkarnitinler, organik asitler ve enerji metabolizmasıyla ilişkili birçok metabolitin hastalık varlığı ve hastalık derecesi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (Fan Y vd., 2016, Zhang L vd., 2018, Hosseinkhani S vd., 2022). Özellikle hedefli metabolomik yaklaşımlar, önceden belirlenmiş metabolit gruplarının kantitatif olarak ölçülmesine olanak sağladığı için klinik biyobelirteç adaylarının değerlendirilmesinde avantajlıdır (Wishart DS. 2019, Hosseinkhani S vd., 2022). Bu tez kapsamında amino asit, organik asit, karnitin ve açilkarnitin profillerinin incelenmesi, KAH'da sistemik ve kardiyak dokuya yakın metabolik değişimlerin birlikte değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

2.5. Serum, Plazma ve Perikardiyal Sıvının Metabolomik Açıdan Değeri

Klinik metabolomik çalışmalarda serum ve plazma, kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle en sık kullanılan biyolojik örneklerdir. Bu örnekler, sistemik dolaşımdaki

metabolik durumu yansıtır ve hastalıkla ilişkili genel metabolik değişikliklerin değerlendirilmesinde önemlidir (Wishart DS. 2019, Rhee EP vd., 2012]. Ancak serum veya plazmada saptanan metabolit değişimleri yalnızca kalp dokusuna özgü olmayabilir; karaciğer, böbrek, kas, bağırsak mikrobiyotası, beslenme durumu, ilaç kullanımı ve eşlik eden metabolik hastalıklar gibi birçok faktörden etkilenebilir (Wishart DS. 2019, Amin AM, 2021).

Perikardiyal sıvı ise kalbi çevreleyen perikardiyal boşlukta yer alması nedeniyle kardiyak mikroçevreye daha yakın bir biyolojik sıvıdır. Perikardiyal sıvının kalp dokusundan salınan proteinleri, metabolitleri, inflamatuvar mediyatörleri ve hücrel stres göstergelerini içerebilmesi, onu kardiyak hastalıkların lokal biyokimyasal yansımalarını incelemek için değerli bir kaynak hâline getirmektedir (Trindade F, 2019). Özellikle açık kalp cerrahisi sırasında perikardiyal sıvıya ulaşılabilmesi, koroner arter bypass greftleme (CABG) uygulanan hastalarda bu örneğin araştırma amacıyla kullanılmasına olanak sağlar (Trindade F, 2019, Yang Y vd., 2023).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, perikardiyal sıvı ve serum metabolit profillerinin birbirinden farklı olabileceğini ve perikardiyal sıvının kardiyak dokuya daha yakın metabolik değişimleri yansıtabileceğini göstermektedir (Trindade F, 2019, Yang Y vd., 2023). Bu nedenle CABG uygulanan KAH hastalarında preoperatif serum/plazma ile intraoperatif perikardiyal sıvının karşılaştırılması, sistemik dolaşım ve kardiyak lokal mikroçevre arasındaki metabolik farklılıkların ortaya konulması açısından önemlidir.

2.6. Amino Asit Metabolizması ve KAH

Amino asitler, protein sentezi ve yıkımı dışında enerji üretimi, azot dengesi, redoks homeostazı ve inflamatuvar yanıtlarla ilişkili metabolik süreçlerde de görev alır. KAH'da amino asit düzeylerindeki değişiklikler; protein katabolizması, iskemiye bağlı hücrel stres, inflamasyon ve mitokondriyal enerji metabolizmasındaki bozulmalarla ilişkili olabilir (Amin AM, 202; Fan Y, Li vd., 2016; Hosseinkhani S vd., 2022).

Bu tez özetinde serum ve perikardiyal sıvıda ornitin, triptofan, serin ve aspartik asit düzeylerinde artış bildirilmesi, amino asit metabolizmasının KAH'da anlamlı şekilde etkilendiğini düşündürmektedir. Ornitin, üre döngüsü ve poliamin metabolizması ile ilişkilidir; bu nedenle hücrel proliferasyon, azot metabolizması ve doku onarım süreçleriyle bağlantılı olarak değerlendirilebilir. Triptofan metabolizması inflamasyon, immün yanıt ve oksidatif stresle ilişkilidir. Serin ve aspartik asit ise tek karbon metabolizması, nükleotid sentezi, enerji metabolizması ve transaminasyon reaksiyonlarında rol oynar (Wishart DS 2019: Fan Y, Li vd., 2016: Hosseinkhani S vd., 2022). Bu nedenle söz konusu amino asitlerin özellikle perikardiyal sıvıda daha belirgin artması, KAH'da kardiyak mikroçevrede protein katabolizması ve metabolik stresin serumdan daha yoğun yansıyabileceğini göstermektedir.

2.7. Karnitin ve Açilkarnitin Metabolizması

Karnitin sistemi, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri içine taşınmasında ve β -oksidasyon yoluyla enerji üretiminde temel role sahiptir (Taegtmeyer H, 2016). Serbest karnitin (C0) ve açilkarnitinler, yağ asidi oksidasyonunun ara ürünleri olarak mitokondriyal enerji metabolizmasının durumu hakkında bilgi verebilir. Açilkarnitin düzeylerindeki artış, yağ asidi oksidasyonunda aksama, mitokondriyal stres veya substrat kullanımındaki değişikliklerle ilişkili olabilir (Taegtmeyer H, 2016: Hosseinkhani S, 2022).

KAH'da miyokardiyal oksijenlenmenin bozulması ve mitokondriyal enerji üretiminin etkilenmesi, karnitin/açilkarnitin profilinde değişikliklere neden olabilir. Bu tez kapsamında hasta serumunda C0, C6 ve C8 gibi karnitin ve orta zincirli açilkarnitin düzeylerinin yükselmesi, sistemik düzeyde enerji metabolizması bozukluğunu düşündürmektedir. Aynı metabolitlerin perikardiyal sıvıda daha dikkat çekici düzeylere ulaşması ise kardiyak mikroçevrede yağ asidi oksidasyonu ve mitokondriyal metabolik stresin daha belirgin olabileceğini göstermektedir (Taegtmeyer H, 2016: Hosseinkhani S, 2022: Yang Y vd., 2023)

2.8. Organik Asitler, Laktat ve Redoks Dengesi

Organik asitler, karbonhidrat, yağ asidi ve amino asit metabolizmasının ara ürünleri olarak enerji metabolizmasının değerlendirilmesinde önemli göstergelerdir. KAH ve iskemi durumlarında oksijen yetersizliği nedeniyle aerobik metabolizma sınırlanabilir ve anaerobik glikoliz artabilir. Bu süreç laktat düzeylerinde artışa neden olabilir (Taegtmeyer H vd 2016: Ouyang J vd., 2023). Laktat, yalnızca anaerobik metabolizmanın son ürünü olarak değil, aynı zamanda kardiyak metabolik adaptasyon ve hücrel stres yanıtlarıyla ilişkili bir metabolit olarak da değerlendirilmektedir (Ouyang J vd., 2023).

Bu tezde hasta gruplarında laktik asit, 3-hidroksipropiyonik asit, 3-hidroksibütirik asit ve piroglutamik asit gibi organik asitlerde anlamlı değişiklikler tespit edilmesi, KAH'da enerji metabolizması, keton cisimciği kullanımı ve redoks dengesinin etkilenebileceğini göstermektedir. 3-hidroksibütirik asit, keton cisimciği metabolizması ile ilişkili olup kalbin alternatif enerji substratlarından biridir (Wei S vd., 2022). Piroglutamik asit ise glutatyon döngüsü ve oksidatif stres yanıtlarıyla ilişkili bir ara metabolit olarak değerlendirilebilir (Gamarra Y vd., 2019). Bu nedenle organik asit profilinin perikardiyal sıvıda incelenmesi, kardiyak lokal enerji stresi ve oksidatif yük hakkında serumdan daha özgül bilgi sağlayabilir.

2.9. LC-MS/MS Tabanlı Hedefli Metabolomik Analiz

Sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS), düşük konsantrasyonlardaki metabolitlerin yüksek duyarlılık ve özgüllükle ölçülmesine olanak sağlayan güçlü bir analitik tekniktir. Hedefli metabolomik analizlerde belirli metabolit grupları önceden tanımlanır ve kantitatif olarak ölçülür. Bu yaklaşım, amino asitler, organik asitler, karnitinler ve açilkarnitinler gibi klinik açıdan anlamlı metabolit sınıflarının güvenilir şekilde değerlendirilmesine imkân tanır (Wishart DS 2019, Dunn WB vd., 2011).

Metabolomik verilerin güvenilir yorumlanabilmesi için örnek toplama, saklama, ekstraksiyon, cihaz kalibrasyonu, kalite kontrol örnekleri, normalizasyon ve istatistiksel analiz aşamalarının standartlaştırılması gerekir (Dunn WB vd., 2011). Bu tezde LC-MS/MS ile elde edilen metabolit verilerinin SPSS ve MetaboAnalyst 5.0 kullanılarak değerlendirilmesi, hem klasik istatistiksel karşılaştırmaların hem de çok değişkenli metabolomik analizlerin yapılmasına olanak sağlamaktadır (Pang Z, 2021). Böylece hasta serumu, hasta perikardiyal sıvısı ve sağlıklı kontrol serumu arasındaki metabolik farklılıklar daha sistematik biçimde ortaya konulabilir.

KAH'da mevcut tanısal yaklaşımlar çoğunlukla klinik değerlendirme, elektrokardiyografi, görüntüleme yöntemleri ve kardiyak hasar belirteçlerine dayanmaktadır. Ancak bu yaklaşımlar hastalığın metabolik temelini her zaman yeterince açıklayabilir. Metabolomik analizler, KAH'nın altında yatan enerji metabolizması bozukluğu, amino asit dengesizliği, mitokondriyal stres, oksidatif stres ve lokal kardiyak mikroçevre değişimlerini daha ayrıntılı değerlendirme potansiyeline sahiptir (Wishart DS 2019, Amin AM 2021, Fan Y vd., 2016).

Bu bağlamda, CABG uygulanan KAH hastalarında preoperatif serum/plazma ve intraoperatif perikardiyal sıvı metabolit profillerinin sağlıklı birey serumları ile karşılaştırılması, hastalığa özgü sistemik ve lokal metabolik imzaların belirlenmesine katkı sağlayabilir. Özellikle perikardiyal sıvının kardiyak dokuya yakınlığı, bu biyolojik sıvının KAH'da serumdan daha özgül metabolik bilgi sunabileceğini düşündürmektedir (Trindade F vd., 2019, Yang Y vd., 2023). Bu nedenle amino asit, organik asit, karnitin ve açıl karnitin profillerinin birlikte değerlendirilmesi; erken tanı, prognoz tahmini ve yeni biyobelirteç adaylarının belirlenmesi açısından bu tezin temel bilimsel dayanağını oluşturmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araştırma ve Etik Onay

Bu çalışma, koroner arter bypass greftleme operasyonu uygulanan hastalarda kan plazması ve perikardiyal sıvı metabolit profilinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amacıyla yürütülen klinik ve analitik nitelikte bir metabolomik araştırmadır. Çalışmada amino asitler, karnitin/açilkarnitinler ve organik asitler hedefli metabolomik yaklaşım ile değerlendirilmiştir.

Çalışma için gerekli etik kurul izni Harran Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından alınmıştır. Araştırma, **HRÜ-23.10.11** karar numarası ile onaylanmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve sağlıklı kontrol bireylerine araştırmanın amacı, alınacak örneklerin kullanım şekli ve verilerin gizliliği hakkında bilgi verilmiş; katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş gönüllü onam alınmıştır.

Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak yürütülmüş, katılımcılara ait klinik ve laboratuvar verileri kimlik bilgileri gizli tutulacak şekilde kodlanarak değerlendirilmiştir.

3.2. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Çalışmanın hasta grubunu, Ordu Devlet Hastanesi ve Harran üniversitesi araştırma ve uygulama hastanesi Kardiyoloji ve Kalp Damar Cerrahisi polikliniğine efor sırasında nefes darlığı, kalp çarpıntısı, sırt ağrısı ve göğüs ağrısı gibi şikâyetlerle başvuran, yapılan kardiyolojik değerlendirme ve anjiyografi işlemi sonucunda koroner arter hastalığı tanısı kesinleşen hastalar oluşturmuştur.

Çalışmaya koroner arter bypass greftleme operasyonu planlanan toplam **40 hasta** dahil edilmiştir. Hasta grubundaki bireylerin yaş aralığı **35–75 yıl** olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ise kardiyoloji muayenesinde belirgin kardiyovasküler patoloji

saptanmayan, hasta grubuyla yaş açısından belirgin farklılık oluşturmayacak şekilde seçilen **40 sağlıklı bireyden** oluşturulmuştur.

Hasta grubundan operasyon öncesi dönemde venöz kan örneği, operasyon sırasında ise perikardiyal sıvı örneği alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubundan ise yalnızca venöz kan örneği alınmıştır. Böylece çalışma üç temel örnek grubu üzerinden yürütülmüştür:

- Hasta grubu preoperatif kan plazması,
- Hasta grubu intraoperatif perikardiyal sıvısı,
- Sağlıklı kontrol grubu kan plazması.

3.3. Dahil Edilme Kriterleri

Hasta grubuna; koroner arter hastalığı tanısı anjiyografi ile doğrulanmış, koroner arter bypass greftleme operasyonu planlanmış, 35–75 yaş aralığında bulunan, operasyon öncesi kan örneği ve operasyon sırasında perikardiyal sıvı örneği alınmasına klinik olarak uygun olan ve çalışmaya katılmayı kabul eden bireyler dahil edilmiştir.

Kontrol grubuna; kardioloji muayenesinde bilinen koroner arter hastalığı, aktif kardiyak yakınma veya belirgin kardiyovasküler patoloji saptanmayan, hasta grubuyla yaş açısından uyumlu olan ve çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden sağlıklı bireyler dahil edilmiştir.

3.4. Dışlanma Kriterleri

Metabolit düzeylerini etkileyebilecek klinik durumların çalışma sonuçları üzerinde karıştırıcı etki oluşturmasını azaltmak amacıyla bazı dışlanma kriterleri belirlenmiştir. Aktif enfeksiyon, malignite, ileri böbrek yetmezliği, ağır karaciğer yetmezliği, bilinen doğumsal metabolik hastalık, yakın dönemde geçirilmiş büyük cerrahi girişim, ciddi sistemik inflamatuvar hastalık veya örnek alınmasına engel klinik durumu olan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Ayrıca hemoliz, belirgin pıhtılaşma, yetersiz örnek hacmi veya gözle görülebilir kontaminasyon bulunan örnekler analitik değerlendirmeye alınmamıştır. Perikardiyal sıvı örneklerinde belirgin kan kontaminasyonu bulunması durumunda örnekler dikkatle değerlendirilmiş ve uygun olmayan örnekler analiz dışı bırakılmıştır.

3.5. Kullanılan Araç, Gereç ve Kitler

Çalışmada kullanılan başlıca araç ve gereçler aşağıda verilmiştir:

- Santrifüj cihazı (Hermle),
- Vorteks cihazı (Isolab),
- Distile su cihazı (Nüve),
- Derin dondurucu (-80 °C),
- Otomatik pipetler (Eppendorf),
- Kalibratör ve kontrol materyalleri,
- EDTA'lı hemogram tüpleri (BD Vacutainer),
- Biyokimya sarı tüpleri,
- 15 mL Falcon tüpler (Isolab),
- Pipet uçları (Isolab),
- 5 mL reaksiyon tüpleri/Eppendorf tüpleri,
- Guthrie filtre kâğıdı,
- LC-MS/MS sistemi,
- Shimadzu 8045 LC-MS/MS cihazı,
- BOME Trivitron/Trimaris Kantitatif Amino Asitler LC-MS/MS Analiz Kiti,
- BOME Trivitron/Trimaris Amino Asit ve Açıl Karnitin LC-MS/MS Analiz Kiti,
- BOME Trivitron/Trimaris Aromatik Amino Asitler LC-MS/MS Analiz Kiti,
- JASEM Organic Acid in Urine LC-MS/MS Analysis Kit, Product No: JSM-CL-5500.

3.6. Kan Örneklerinin Alınması ve Plazmaların Elde Edilmesi

Hasta ve kontrol gruplarından venöz kan örnekleri **EDTA'lı tüplere** alınmıştır. Hasta grubundan kan örnekleri koroner arter bypass operasyonu öncesinde, preoperatif

dönemde alınmıştır. Kontrol grubundan ise kardiyoloji değerlendirmesi sonrasında venöz kan örnekleri alınmıştır.

Alınan kan örnekleri buz aküsü içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Laboratuvara ulaştırılan EDTA'lı kan tüpleri **3500 rpm'de 10 dakika** santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında üst fazda yer alan plazma tabakası, hücresel bileşenlerle karıştırılmadan ve tüp sarsılmadan pipet yardımıyla dikkatli şekilde ayrılmıştır.

Elde edilen plazma örnekleri Eppendorf tüplere aktarılmış ve analiz yapılncaya kadar **-80 °C'de** saklanmıştır. Örneklerin metabolit stabilitesinin korunması amacıyla tekrarlayan dondurma-çözme işlemlerinden kaçınılmıştır. Hemoliz, pıhtı veya belirgin kontaminasyon gözlenen örnekler analiz dışı bırakılmıştır.

3.7. Perikardiyal Sıvı Örneklerinin Alınması

Hasta grubundaki perikardiyal sıvı örnekleri, koroner arter bypass operasyonu sırasında perikardın açılmasını takiben cerrahi ekip tarafından steril koşullarda alınmıştır. Alınan perikardiyal sıvılar **15 mL Falcon tüplere** aktarılmıştır.

Örnekleme sırasında mümkün olduğunca kan kontaminasyonu bulunmayan perikardiyal sıvıların alınmasına dikkat edilmiştir. Alınan örnekler kısa süre içinde laboratuvara ulaştırılmış, makroskopik olarak değerlendirilmiş ve analiz yapılncaya kadar uygun koşullarda saklanmıştır.

Perikardiyal sıvının çalışmaya dahil edilmesinin temel nedeni, bu sıvının kalbe anatomik olarak yakın bir biyolojik ortamı temsil etmesidir. Bu nedenle perikardiyal sıvının, koroner arter hastalığında kardiyak mikroçevrede meydana gelen lokal metabolik değişiklikleri kan plazmasına göre daha doğrudan yansıtabileceği düşünülmüştür.

3.8. Rutin Biyokimya ve Hemogram Örneklerinin Alınması

Hasta ve kontrol bireylerinden rutin biyokimyasal analizler için biyokimya sarı tüplerine, hemogram analizleri için ise EDTA'lı hemogram tüplerine kan örnekleri alınmıştır. Rutin biyokimya ve hemogram parametreleri, hastane laboratuvarında kullanılan otoanalizör sistemleri ile değerlendirilmiştir.

Bu veriler, çalışma gruplarının klinik ve laboratuvar özelliklerinin tanımlanması ve metabolomik sonuçların klinik bağlamda yorumlanması amacıyla kullanılmıştır.

3.9. LC-MS/MS Analizlerine Genel Yaklaşım

Amino asit, aromatik amino asit, karnitin/açilkarnitin ve organik asit analizleri Shimadzu 8045 LC-MS/MS sistemi ile gerçekleştirilmiştir. LC-MS/MS yöntemi, sıvı kromatografisi ile metabolitlerin ayrılması ve tandem kütle spektrometresi ile seçici şekilde ölçülmesi esasına dayanmaktadır (BOME, 2023).

Analizlerden önce cihaz performansı kontrol edilmiş, mobil fazlar, kolon ve sistem basıncı değerlendirilmiştir. Her analiz serisinde kalibratör, kontrol materyali ve internal standartlar kullanılmıştır. Analitlerin ölçümü çoklu reaksiyon izleme modunda gerçekleştirilmiş ve sonuçlar cihaz yazılımı aracılığıyla hesaplanmıştır.

Kitlerin standart kullanım matrisleri ile bu tez çalışmasında kullanılan örnek tipleri arasında bazı farklılıklar bulunduğundan, özellikle karnitin/açilkarnitin ve organik asit analizlerinde yöntem, plazma ve perikardiyal sıvı örneklerine uygun olacak şekilde modifiye edilmiştir. Bu modifikasyon yapılırken kitlerin temel analitik prensipleri korunmuştur.

3.10. Serbest Amino Asit Profilinin LC-MS/MS ile İncelenmesi

Bu çalışmada, standart amino asitler ve metabolizmada ara ürün olarak oluşan amino asit ilişkili türevler dahil olmak üzere serbest amino asit profili

değerlendirilmiştir. Serbest amino asit düzeyleri, ticari kit protokolü ve laboratuvar uygulama koşulları doğrultusunda hazırlandıktan sonra Shimadzu 8045 LC-MS/MS sistemi ile analiz edilmiştir (BOME, 2023).

Biyolojik sıvılarda serbest amino asitlerin analizinde türevlendirmeye dayalı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde her örnekten **100 µL** alınmış ve 0,1 M HCl içerisinde hazırlanmış, **¹³C ve ¹⁵N izotopları ile işaretlenmiş 20 amino asitten oluşan internal standart karışımı** ile karıştırılmıştır. Internal standart kullanımı, örnek hazırlama, enjeksiyon ve iyonizasyon basamaklarından kaynaklanabilecek analitik değişkenliği azaltmak amacıyla uygulanmıştır.

İkinci aşamada, pH dengesini sağlamak ve türevlendirme reaksiyonunun daha verimli gerçekleşmesini desteklemek amacıyla propanol içerisinde hazırlanmış bazik özellikte organik tampon bileşenleri eklenmiştir. Bu aşamada aynı zamanda örnek içerisindeki proteinlerin çöktürülmesi sağlanmıştır.

Daha sonra karışıma aktif bileşen olarak **%5 alkil kloroformat** içeren kloroform/izooktan karışımı eklenmiş ve örnekler oda sıcaklığında **3 dakika** bekletilmiştir. Türevlendirme sonrası amino asitler santrifüj işlemi ile organik solvent içeren üst faza alınmıştır. LC-MS/MS sistemine bu üst fazdan **1 µL** enjeksiyon yapılmıştır.

Ekstraksiyon ve türevlendirme işlemleri sonucunda amino asitlerin esterleşmesi sağlanmış, bu sayede moleküllerin kütle spektrometresinde iyonizasyon verimi ve sinyal yanıtı artırılmıştır. Kromatografik ayırım, C18 ters faz dolgu maddesi içeren **Trimaris Amino Acid LC-MS/MS kolonu** üzerinde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A içeriği **su:metanol:1 M amonyum format (85:14:1)**, mobil faz B içeriği ise **metanol** olarak kullanılmıştır. Amino asit molekülleri **ESI (+) iyonizasyon** yöntemi ile **MRM modunda** analiz edilmiştir.

Amino asit profilinin incelenmesiyle koroner arter hastalığında protein katabolizması, azot metabolizması, inflamatuvar yanıt ve enerji metabolizmasıyla

ilişkili değışikliklerin değeriendirilmesi amaçlanmıştır. Özellikle hasta plazması, hasta perikardiyal sıvısı ve sağlıklı kontrol plazması arasındaki farklılıklar karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada değeriendirilen amino asit ve amino asit ilişkili parametreler

1	Alanine	16	Phenylalanine	31	Sarcosine
2	Arginine	17	Proline	32	Cystathionine
3	Asparagine	18	Serine	33	Thiaproline
4	Aspartic acid	19	Threonine	34	1-Methylhistidine
5	Citrulline	20	Tryptophan	35	3-Methylhistidine
6	Glutamine	21	Tyrosine	36	Hydroxylysine
7	Glutamic acid	22	Valine	37	Hydroxyproline
8	Glycine	23	α -Aminoadipic acid	38	Cystine
9	Histidine	24	α -Aminopimelic acid	39	Homocystine
10	Leucine	25	Anserine	40	Serotonin
11	Isoleucine	26	Argininosuccinic acid	41	Histamine
12	Alloisoleucine	27	α -Aminobutyric acid	42	Ethanolamine
13	Lysine	28	β -Aminoisobutyric acid	43	Phosphoethanolamine
14	Methionine	29	γ -Aminobutyric acid	44	5-OH-TRP
15	Ornithine	30	β -Alanine	45	Taurine

3.11. Karnitin ve Açıkarnitin Profilinin LC-MS/MS ile İncelenmesi

Karnitin ve açıkarnitin analizleri, yenidoğan tarama amacıyla geliştirilmiş olan Trimaris Amino Asit ve Açık Karnitin LC-MS/MS Analiz Kiti temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Kitin standart kullanım amacı kuru kan örneklerinde amino asitler, serbest karnitin ve açıkarnitin analitlerinin analizidir. Bu tez çalışmasında yöntem, plazma ve perikardiyal sıvı örneklerinin değeriendirilmesine uygun olacak şekilde modifiye edilmiştir (BOME, 2023).

Bu amaçla plazma ve perikardiyal sıvı örnekleri Guthrie filtre kâğıdına emdirilmiş ve kurutulmuştur. Kurutulmuş örneklerden **3,2 mm çapında spot** alınarak analiz sürecine dahil edilmiştir. Spot örnekleri, belirli konsantrasyonlarda döteryum işaretli

açilkarnitin internal standartlarını içeren organik ekstraksiyon solventi içerisinde bekletilmiştir.

Ekstraksiyon işlemi **30 dakika** sürdürülmüş, ardından organik solvent azot altında uçurma yöntemiyle kuruluğa kadar uzaklaştırılmıştır. Daha sonra örnekler bütanolik-HCl eklenmiş ve açilkarnitinlerin türevlendirilmesi amacıyla **60 °C’de 30 dakika** inkübasyon uygulanmıştır. Türevlendirme sonrasında örnekler tekrar uçurulmuş, ardından mobil faz ile yeniden çözündürülerek LC-MS/MS sistemine verilmiştir.

Hazırlanan örneklerden LC-MS/MS sistemine **5 µL** enjeksiyon yapılmıştır. Açilkarnitin molekülleri **ESI (+) iyonizasyon** yöntemi ile **MRM modunda** analiz edilmiştir. Kantitatif değerlendirmede her açilkarnitin molekülü kendi internal standardına oranlanmış ve sonuçlar cihaza özel yazılım aracılığıyla hesaplanmıştır.

Bu analiz kapsamında serbest karnitin (C0) ve farklı zincir uzunluklarına sahip açilkarnitin türleri değerlendirilmiştir. Karnitin/açilkarnitin profilindeki değişiklikler, yağ asidi oksidasyonu, mitokondriyal enerji metabolizması ve kardiyak metabolik stres açısından yorumlanmıştır.

Tablo 3.2. Karnitin ve açilkarnitin parametreleri

1	C0	15	C10
2	C2	16	C10:1
3	C3	17	C10DC
4	C4	18	C12
5	C4DC	19	C14
6	C5	20	C14:1
7	C5:1	21	C14:2
8	C5OH	22	C16
9	C5DC	23	C16:1
10	C6	24	C18
11	C6DC	25	C18:1
12	C8	26	C18:2
13	C8:1	27	C18:1 OH
14	C8DC		

3.12. Organik Asit Profilinin LC-MS/MS ile İncelenmesi

Organik asitler, amino asit metabolizması, yağ asidi oksidasyonu, trikarboksilik asit döngüsü, keton cisimciği metabolizması ve enerji metabolizması gibi birçok biyokimyasal yolakta ortaya çıkan fizyolojik ara ürünlerdir. Bu yolaklarda meydana gelen metabolik değişiklikler, organik asit düzeylerinde artış veya azalma şeklinde biyolojik sıvılara yansiyabilir. Bu nedenle organik asit profili, koroner arter hastalığında enerji metabolizması, mitokondriyal stres, anaerobik glikoliz ve oksidatif stresle ilişkili değişikliklerin değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmada organik asit profili, **JASEM Organic Acid in Urine LC-MS/MS Analysis Kit, Product No: JSM-CL-5500** kullanılarak değerlendirilmiştir. Üretici firma bilgilerine göre kit, LC-MS/MS yöntemiyle **54 organik asidin** analizine olanak sağlamaktadır. Yöntem iki panelden oluşmakta olup her panelin analiz süresi **12 dakika**, toplam analiz süresi ise **24 dakika** olarak belirtilmiştir. Kitin temel avantajı, organik asitlerin türevlendirme basamağı gerektirmeden analiz edilebilmesi ve örnek hazırlığının temel olarak seyreltme ile gerçekleştirilmesidir (JASEM, 2022).

Kitin standart kullanım matriksi idrar örneği olmakla birlikte, bu tez çalışmasında organik asit analizi kan plazması ve perikardiyal sıvı örneklerine uyarlanarak yapılmıştır. Bu uyarlamada kitin temel analitik yaklaşımı korunmuştur. Örnekler Reagent-1 ile seyreltilmiş, uygun hacimde örnek viale aktarılmış, internal standart karışımı ve Reagent-1 eklenerek LC-MS/MS sistemine enjekte edilmiştir.

Organik asit analizinden elde edilen veriler, hasta plazması, hasta perikardiyal sıvısı ve sağlıklı kontrol plazması arasında karşılaştırılmıştır. Özellikle laktik asit, 3-hidroksipropanoik asit, 3-hidroksibütirik asit, oksoprolin/piroglutamik asit, pirüvik asit ve trikarboksilik asit döngüsü ile ilişkili metabolitler çalışma sonuçlarının yorumlanmasında dikkate alınmıştır.

Tablo 3.3. Organik asit parametreleri

1	Phenylpropionylglycine	19	Suberic acid	37	2-OH isovaleric acid
2	Oxoproline	20	Suberylglycine	38	3-OH glutaric acid
3	2-Methylcitrate	21	Succinylacetone	39	3-Methylcrotonylglycine
4	3-Phenyllactic acid	22	2-OH butyric acid	40	3-Methylglutaric acid
5	4-OH phenylacetic acid	23	2-Oxadipic acid	41	3-OH isovaleric acid
6	Fumaric acid	24	3-Methylglutaconic acid	42	3-OH pentanoic acid
7	Glycolic acid	25	3-OH-2-methylbutanoic acid	43	4-OH phenylpyruvic acid
8	Hexanoylglycine	26	3-OH-3-methylglutaric acid	44	Adipic acid
9	Homogentisic acid	27	3-OH butyric acid	45	2-Ketoglutaric acid
10	Malic acid	28	3-OH isobutyrate	46	Citric acid
11	Malonic acid	29	3-OH propanoic acid	47	Ethylmalonic acid
12	N-Acetylaspartic acid	30	Glutaconic acid	48	Glutaric acid
13	2-OH phenylacetic acid	31	3-Methyl-2-oxovaleric acid	49	Lactic acid
14	N-Acetyltyrosine	32	4-Methyl-2-oxovaleric acid	50	Methylmalonic acid
15	N-Isovalerylglycine	33	Pyruvic acid	51	Orotic acid
16	4-OH phenyllactic acid	34	2-OH glutaric acid	52	Phenylpyruvic acid
17	Propionylglycine	35	2-OH-3-methylpentanoic acid	53	Succinic acid
18	Sebacic acid	36	2-OH isocaproic acid	54	Tiglylglycine

3.13. Kitlerin Çalışma Matrisine Uyarlanması

Bu çalışmada kullanılan bazı ticari kitlerin üretici firma tarafından tanımlanan standart kullanım matriksi ile tez çalışmasında kullanılan örnek tipleri arasında farklılık bulunmaktadır. Trimaris Amino Asit ve Açıl Karnitin LC-MS/MS Analiz Kiti standart olarak kuru kan örneklerinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. JASEM Organic Acid in Urine LC-MS/MS Analysis Kit ise standart olarak idrar örnekleri için geliştirilmiştir (BOME, 2023)

Bu tez çalışmasında ise metabolit profili kan plazması ve perikardiyal sıvı örneklerinde değerlendirildiği için ilgili kitler çalışma matrisine uygun şekilde modifiye edilmiştir. Modifikasyon sırasında kitlerin temel analitik prensipleri korunmuştur. Karnitin/açilkarnitin analizinde kuru kan spotu esasına dayanan yaklaşım, plazma ve perikardiyal sıvı örneklerinin Guthrie kâğıdına emdirilmesiyle uygulanmıştır. Organik asit analizinde ise kitin seyreltme ve internal standart ekleme temelli LC-MS/MS yaklaşımı korunarak örnek hazırlığı plazma ve perikardiyal sıvıya uyarlanmıştır.

Bu uyarlamalar, çalışmanın amacına uygun şekilde hasta plazması, hasta perikardiyal sıvısı ve sağlıklı kontrol plazması arasında karşılaştırılabilir metabolit verileri elde etmek için yapılmıştır.

3.14. Kalibrasyon ve Kalite Kontrol

Analizlerde kullanılan kalibratör, kontrol materyali, internal standart ve reaktifler üretici firma önerilerine uygun olarak hazırlanmıştır. Her analiz serisine başlamadan önce kitlerin lot numaraları ve son kullanma tarihleri kontrol edilmiştir. Son kullanma tarihi geçmiş reaktif veya kit bileşeni kullanılmamıştır.

Pipetleme basamaklarında kalibre edilmiş otomatik pipetler kullanılmıştır. Reaktiflerin, örneklerin ve tüplerin kontaminasyonunu önlemek için her örnek ve reaktif için yeni tek kullanımlık pipet ucu kullanılmıştır. Analiz sırasında retansiyon zamanı, pik şekli, internal standart yanıtı ve sinyal yoğunluğu kontrol edilmiştir. Kalite kontrol sonuçları üretici firma tarafından belirtilen kabul edilebilir aralıklar içerisinde olmadığında ilgili analiz serisi geçersiz kabul edilmiş ve gerekli durumlarda analiz tekrarlanmıştır.

3.15. Biyokimyasal ve Hemogram Parametrelerinin Analizi

Hasta ve sağlıklı kontrol bireylerine ait rutin biyokimyasal parametreler otoanalizör sistemi ile analiz edilmiştir. Hemogram parametreleri ise EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden çalışılmıştır. Rutin biyokimya ve hemogram sonuçları, çalışma

gruplarının temel klinik özelliklerini değerlendirmek ve metabolomik bulguların klinik arka planını desteklemek amacıyla kullanılmıştır.

3.16. Verilerin Düzenlenmesi

LC-MS/MS analizlerinden elde edilen ham veriler cihaz yazılımı aracılığıyla değerlendirilmiştir. Her metabolit için pik alanı, internal standart yanıtı, retansiyon zamanı ve hesaplanan konsantrasyon değerleri incelenmiştir. Teknik olarak güvenilir kabul edilen sonuçlar veri setine aktarılmıştır.

Veriler üç ana grup altında düzenlenmiştir:

- Hasta grubu preoperatif kan plazması,
- Hasta grubu intraoperatif perikardiyal sıvısı,
- Sağlıklı kontrol grubu kan plazması.

İstatistiksel analiz öncesinde veri seti eksik veri, uç değer, dağılım özellikleri ve teknik uygunluk açısından kontrol edilmiştir.

3.17. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için **IBM SPSS Statistics 26.0** yazılımı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu **Shapiro-Wilk testi** ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılım göstermeyen değişkenler ise medyan ve minimum-maksimum değerleri ile sunulmuştur. İki bağımsız grup arasındaki karşılaştırmalarda verinin dağılımına göre bağımsız örneklem Student t-testi veya uygun parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Hasta plazması ile aynı hastalara ait perikardiyal sıvı örneklerinin karşılaştırılmasında ilişkili örnek yapısı dikkate alınmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi **p<0,05** olarak kabul edilmiştir.

Grafiklerin oluşturulmasında **GraphPad Prism 8** yazılımı kullanılmıştır. Metabolomik verilerin ileri istatistiksel değerlendirmesi ise **MetaboAnalyst 5.0**

platformu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Metabolomik veriler analiz öncesinde **autoscaling** yöntemi ile normalize edilmiştir.

Çalışılan metabolitlerdeki genel varyasyonu belirlemek ve grup ayrımını görselleştirmek amacıyla **temel bileşen analizi (Principal Component Analysis, PCA)** uygulanmıştır. Gruplar arasındaki metabolit farklılıklarını modellemek ve potansiyel biyobelirteç adaylarını belirlemek amacıyla **kısmi en küçük kareler diskriminant analizi (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA)** kullanılmıştır.

PLS-DA analizinde metabolitlerin grup ayrımına katkısını değerlendirmek için **Variable Importance in Projection (VIP)** değerleri incelenmiştir. Modelin kalitesi ve güvenilirliği **R²** ve **Q²** parametreleri kullanılarak çapraz doğrulama ile değerlendirilmiştir.

Veri görselleştirme amacıyla ısı haritası analizi yapılmış ve metabolitlerin grup bazlı dağılım paternleri incelenmiştir. Ayrıca anlamlı farklılık gösteren metabolitlerin ilişkili olduğu biyokimyasal süreçleri değerlendirmek amacıyla yolak analizi gerçekleştirilmiştir.

İki grup arasında anlamlı farklılık gösteren metabolitlerin kardiyak hasar veya koroner arter hastalığı ile ilişkili potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla **Receiver Operating Characteristic (ROC)** eğrileri oluşturulmuştur. ROC analizlerinde eğri altında kalan alan değerleri incelenmiş ve metabolitlerin ayırt edici güçleri değerlendirilmiştir.

Hasta grubu ayrıca **SYNTAX skoruna** göre değerlendirilmiş ve metabolit profilleri ile SYNTAX skoru arasındaki ilişki korelasyon analizleri ile incelenmiştir. Bu analiz ile metabolit düzeylerinin koroner arter hastalığının anatomik yaygınlığı ve ciddiyeti ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır.

Bu çalışmada kan plazması ve perikardiyal sıvının birlikte değerlendirilmesi, koroner arter hastalığında hem sistemik hem de lokal metabolik değişikliklerin aynı

Çalışma tasarımı içinde incelenmesine olanak sağlamıştır. Kan plazması dolaşımdaki genel metabolik durumu yansıtırken, perikardiyal sıvı kalbe anatomik yakınlığı nedeniyle kardiyak mikroçevreye ait metabolik değişiklikleri daha belirgin gosterebilecek bir örnek tipi olarak değerlendirilmiştir.

Amino asit, karnitin/açilkarnitin ve organik asit profillerinin birlikte analiz edilmesi; protein katabolizması, amino asit metabolizması, yağ asidi oksidasyonu, mitokondriyal enerji üretimi, keton cisimciği metabolizması, anaerobik glikoliz ve oksidatif stresle ilişkili çoklu biyokimyasal süreçlerin aynı araştırma içinde değerlendirilmesini sağlamıştır.

Bu yönüyle çalışma, bypass operasyonu geçiren koroner arter hastalarında perikardiyal sıvının metabolomik biyobelirteç araştırmalarındaki potansiyel değerini ortaya koymayı ve kan plazması ile perikardiyal sıvı arasındaki metabolik farklılıkları belirlemeyi amaçlamıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Amino Asit Profillerinin Analizi

Bu çalışmada, sağlıklı kontrol grubu kan plazması, koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastaların preoperatif kan plazması ve aynı hastalardan intraoperatif dönemde alınan perikardiyal sıvı örnekleri amino asit profili açısından karşılaştırılmıştır. Amino asit düzeyleri üç grup arasında değerlendirilmiş ve gruplar arasındaki farklılıklar varyans analizi ile incelenmiştir.

Genel değerlendirmede, perikardiyal sıvı örneklerinin hasta plazması ve kontrol plazmasından belirgin şekilde farklı bir amino asit profiline sahip olduğu görülmüştür. Bu bulgu, perikardiyal sıvının sistemik dolaşımdan farklı olarak kalbe daha yakın lokal bir metabolik ortamı yansıtabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık hasta plazması ile kontrol plazması arasındaki farklılıklar daha sınırlı düzeyde kalmıştır. Bu durum, koroner arter hastalığına bağlı bazı metabolik değişikliklerin sistemik dolaşımda daha hafif, perikardiyal sıvıda ise daha belirgin şekilde ortaya çıktığını göstermektedir.

Toplam amino asit düzeyi, toplam esansiyel amino asit düzeyi ve dallı zincirli amino asit düzeyi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonuç, amino asit metabolizmasındaki değişimin tüm amino asit havuzunu genel olarak artıran veya azaltan bir değişimden çok, belirli amino asit alt grupları ve spesifik metabolitler üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir.

Tablo 4.1. Amino asit sonuçlarının ANOVA test analizi

	Kontrol	Hasta Serum	Perikaardial Sıvı		
Aminoacids	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	p ^a	post hoc
Alanine (Ala)	403,14 ± 161,37	430,61 ± 161,65	492,99 ± 167,64	1	
Arginine (Arg)	59,97 ± 34,23	60,78 ± 35,37	49,62 ± 18,82	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Asparagine (Asn)	33,12 ± 16,72	31,04 ± 13,1	50,22 ± 23,7	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Aspartic Acid (Asp)	22,52 ± 11,45	21,7 ± 8,71	69,74 ± 28,49	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Citrulline (Cit)	39,09 ± 16,17	53,85 ± 23,57	27,06 ± 12,04	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Glutamine (Gln)	275,74 ± 136,1	262,4 ± 126,25	136,58 ± 44,79	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Glutamic Acid (Glu)	282,48 ± 142,67	286,87 ± 128,53	270,77 ± 112,98	0,027*	Patient Serum-P.cardial Fluid
Glycine (Gly)	213,16 ± 84,11	197,49 ± 77,08	290,35 ± 71,48	0,025*	Patient Serum-P.cardial Fluid
Histidine (His)	92,04 ± 29,59	89,37 ± 23	127,31 ± 32,29	0,009*	Patient Serum-P.cardial Fluid
Leucine (Leu)	139,13 ± 45,68	139,15 ± 43,22	175,33 ± 38,71	0,213	
Isoleucine (Ile)	73,17 ± 22,13	77,14 ± 24,22	98,28 ± 24,41	0,113	
Alloisoleucine (Alle)	0,75 ± 0,28	0,65 ± 0,28	0,96 ± 0,28	0,581	
Lysine (Lys)	194,26 ± 73,9	182,3 ± 58,44	227,49 ± 54,46	0,711	
Methionine (Met)	23,12 ± 9,87	22,73 ± 8,98	26,73 ± 9,39	0,652	
Ornithine (Orn)	72,69 ± 32,96	68,03 ± 31,65	181,92 ± 81,74	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Phenylalanine (Phe)	62,47 ± 22,32	78,89 ± 24,45	82,35 ± 17,08	0,001*	Patient Serum-Control
Proline (Pro)	215,34 ± 85,36	201,52 ± 65,7	287,41 ± 79,75	0,702	
Serine (Ser)	107,83 ± 43,99	88,86 ± 25,7	200,1 ± 61,97	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Threonine (Thr)	115,42 ± 50,56	99,81 ± 34,11	159,6 ± 55,68	0,001*	Patient Serum-P.cardial Fluid
Tryptophan (Trp)	32,75 ± 12,29	33,66 ± 10,51	63,6 ± 16,68	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Tyrosine (Tyr)	64,77 ± 26,16	56,45 ± 17,87	83,64 ± 17,14	0,001*	Patient Serum-P.cardial Fluid
Valine (Val)	244,42 ± 64,53	243,64 ± 57,45	282,58 ± 53,05	0,231	
Alphaaminoadipic Acid (Aad)	1,63 ± 0,54	1,56 ± 0,58	1,06 ± 0,49	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Alphaaminopimelic Acid (Aap)	0,92 ± 0,28	0,79 ± 0,16	0,43 ± 0,21	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Anserine (Ans)	1,05 ± 0,21	1,07 ± 0,23	1,41 ± 0,53	0,312	
Argininosuccinic Acid (Asa)	0,85 ± 0,42	0,14 ± 0,05	1,68 ± 0,87	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Alphaaminobutyric Acid (Abu)	7,69 ± 3,21	13,11 ± 5,53	0,85 ± 0,4	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Betaaminoisobutyric Acid (BAIBA)	4,13 ± 2,02	4,7 ± 2,19	0,45 ± 0,22	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Gammaminobutyric Acid (GABA)	36,71 ± 15,35	33,02 ± 15,69	68,36 ± 30,53	0,17	P.cardial Fluid-Control
β -Alanine (β-Ala)	5,84 ± 1,98	5,99 ± 2,14	2,28 ± 0,97	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Sarcosine (Sar)	26,13 ± 9,68	24,19 ± 8,1	23,59 ± 9,1	0,04*	P.cardial Fluid-Control
Cystathionine (Cth)	0,43 ± 0,22	0,28 ± 0,12	0,33 ± 0,16	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Thiaproline (Thz)	2,32 ± 0,9	2,83 ± 1,01	0,08 ± 0,01	0,001*	P.cardial Fluid-Control
1-Methylhistidine (1-MHis)	1,67 ± 0,84	1,17 ± 0,4	2,15 ± 0,85	0,001*	Patient Serum-Control
3-Methylhistidine (3-MHis)	0,88 ± 0,37	0,84 ± 0,41	2,13 ± 1,05	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Hydroxylysine (Hyl)	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,23	
Hydroxyproline (Hyp)	27,11 ± 8,89	34,71 ± 12,58	37,06 ± 7,32	0,001*	Patient Serum-Control
Cystine (Cys)	14,63 ± 7,22	20,31 ± 7,06	2,93 ± 1,36	0	P.cardial Fluid-Control

Homocystine (Hcy)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Serotonin (5-HT)	0,1 ± 0,04	0,07 ± 0,03	0,5 ± 0,2	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Histamine (HA)	0,07 ± 0,02	0,03 ± 0,01	2,08 ± 0,98	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Etanolamine (ETA)	19,6 ± 9,73	8,3 ± 3,7	4,8 ± 2,16	0,001*	P.cardial Fluid-Control
5-OH-TRP (5-HTP)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,09 ± 0,04	0,001*	P.cardial Fluid-Control
Taurine (Tau)	3,21 ± 1,34	10,66 ± 4,53	4,1 ± 1,92	0,001*	Patient Serum-Control
Total Amino Acids (TAA)	2922,41 ± 738,69	2890,77 ± 662,98	3540,82 ± 548,76	0,251	
Total Essential Amino Acids (TEAA)	976,78 ± 294,98	966,69 ± 239,03	1243,27 ± 231,41	0,228	
Branched Chain Amino Acids (BCAA)	456,72 ± 125,69	459,93 ± 119,77	556,2 ± 109,61	0,271	

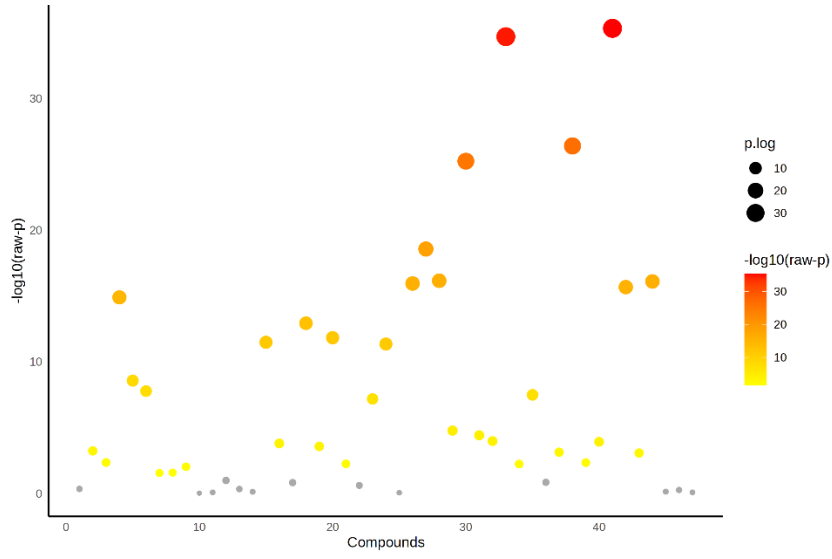
Üç grup arasında yapılan ANOVA analizinde birçok amino asit ve amino asit türevi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Özellikle perikardiyal sıvı örneklerinde arginin, asparajin, aspartik asit, sitrülün, glutamin, ornitin, serin, triptofan, alfa-aminoadipik asit, alfa-aminopimelik asit, argininosüksinik asit, alfa-aminobütirik asit, beta-aminoizobütirik asit, beta-alanin, sistatinyonin, tiyaprolin, 3-metilhistidin, sistin, homosistin, serotonin, histamin, etanolamin ve 5-hidroksitriptofan gibi metabolitlerde kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar belirlenmiştir.

Perikardiyal sıvıda aspartik asit, ornitin, serin ve triptofan düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde yüksek olması dikkat çekicidir. Aspartik asit düzeyinin kontrol grubunda $22,52 \pm 11,45$ iken perikardiyal sıvıda $69,74 \pm 28,49$ 'a yükselmesi, lokal kardiyak çevrede amino asit metabolizmasının belirgin biçimde değiştiğini göstermektedir. Benzer şekilde ornitin düzeyinin kontrol grubunda $72,69 \pm 32,96$ iken perikardiyal sıvıda $181,92 \pm 81,74$ 'e; serin düzeyinin $107,83 \pm 43,99$ 'dan $200,10 \pm 61,97$ 'ye; triptofan düzeyinin ise $32,75 \pm 12,29$ 'dan $63,60 \pm 16,68$ 'e yükselmesi, perikardiyal sıvıda belirgin bir amino asit birikimi veya lokal metabolik yeniden düzenlenme olabileceğini düşündürmektedir.

Buna karşılık bazı amino asitlerde perikardiyal sıvıda azalma gözlenmiştir. Örneğin sitrülün ve glutamin düzeyleri perikardiyal sıvıda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Sitrülün düzeyinin kontrol grubunda $39,09 \pm 16,17$ iken perikardiyal sıvıda $27,06 \pm 12,04$ 'e, glutamin düzeyinin ise $275,74 \pm 136,10$ 'dan $136,58 \pm 44,79$ 'a düşmesi, azot metabolizması ve amino asit dönüşüm yollarında lokal farklılaşma olabileceğini göstermektedir.

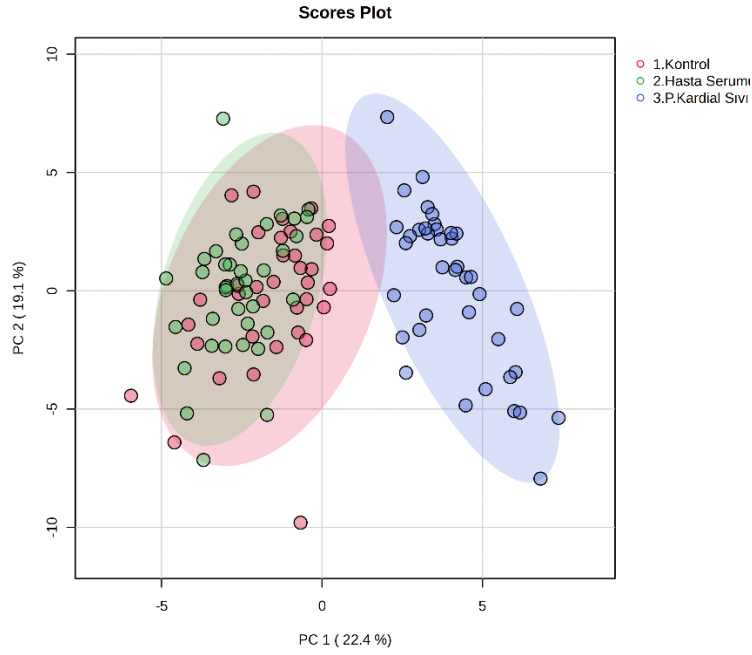
Hasta plazması ile kontrol plazması karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gösteren metabolit sayısının daha sınırlı olduğu görülmüştür. Hasta plazmasında fenilalanin, hidroksprolin ve taurin düzeyleri kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Fenilalanin düzeyinin kontrol grubunda $62,47 \pm 22,32$ iken hasta plazmasında $78,89 \pm 24,45$ 'e yükselmesi, sistemik amino asit metabolizmasında hastalıkla ilişkili bir değişime işaret etmektedir. Hidroksprolin düzeyindeki artış ise kollajen döngüsü, bağ dokusu metabolizması veya doku yeniden yapılanması ile ilişkili olabilir. Taurin düzeyinin hasta plazmasında kontrol grubuna göre belirgin yüksek bulunması, kardiyovasküler stres, antioksidan yanıt veya osmoregülasyon süreçleriyle ilişkili bir sistemik yanıt düşündürmektedir.

Hasta plazması ile perikardiyal sıvı karşılaştırmasında glutamik asit, glisin, histidin, treonin ve tirozin gibi amino asitlerde anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Bu bulgu, aynı hastaya ait sistemik dolaşım örneği ile kalbe yakın lokal sıvı örneğinin metabolik açıdan aynı biyolojik bilgiyi taşımadığını göstermektedir. Dolayısıyla perikardiyal sıvı, koroner arter hastalığında lokal kardiyak metabolik yanıtı değerlendirmek için plazmadan daha farklı ve tamamlayıcı bilgiler sağlayabilecek bir örnek tipi olarak öne çıkmaktadır.

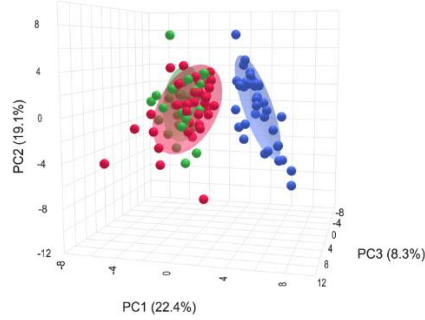


Şekil 4.1. Amino asit sonuçlarının Üç farklı grup (Kontrol, Hasta Serum ve Hasta PS) arasında gerçekleştirilen varyans analizi

Üç farklı grup (Kontrol, Hasta Serum ve Hasta PS) arasında gerçekleştirilen varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre: **Thp, HA, Cys2, Beta-Ala, Abu, BAIBA, Asp, Ser, Asa ve Orn** amino asitleri istatistiksel olarak en yüksek anlamlılık düzeyine sahip bileşenler olarak ön plana çıkmıştır. Bu bulgu, söz konusu amino asitlerin hastalık süreçlerinde ve özellikle kontrol grubuyla hasta grupları arasında görülen biyokimyasal farklılıklarda potansiyel belirteç görevi görebileceğini düşündürmektedir.



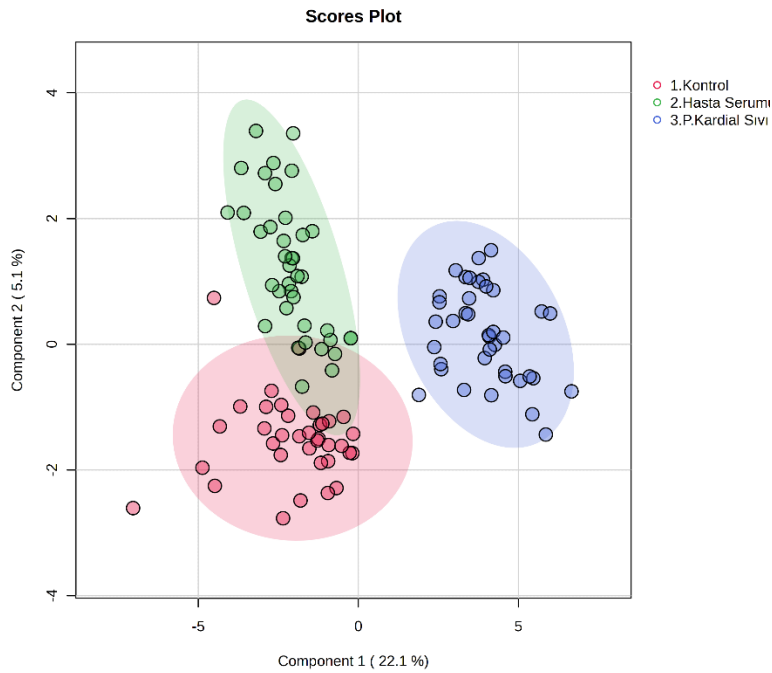
Şekil 4.2. Amino asit sonuçlarının Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA)



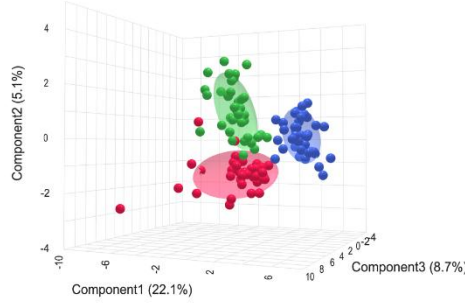
Şekil 4.3. Amino asit sonuçlarının Üç boyutlu PCA grafiği

PCA analizleri, çok boyutlu biyokimyasal verileri daha yalın bir yapıya indirerek gruplar arası farklılıkları görselleştirmeyi amaçlamaktadır. İki ve üç boyutlu PCA skor grafiklerinde, kontrol (kırmızı), hasta serum (yeşil) ve PS (mavi) örnekleri temsil edilmekte olup; her bir nokta, ilgili örnek grubuna ait metabolit veya amino asit profilini

göstermektedir. PC1, PC2 ve PC3 gibi temel bileşenler varyansın büyük kısmını taşıdığından, eksenler boyunca gözlenen ayrışma; örneklerin biyokimyasal açıdan birbirinden ne ölçüde farklılaştığını ortaya koyar. Özellikle PS örneklerinin diğer gruplardan belirgin biçimde uzak konumlanması, bu sıvının özgün bir metabolik parmak izine sahip olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, hasta serum ve kontrol grupları arasında kısmi örtüşme gözlenmekte, ancak kendi içlerinde alt kümelenme eğilimi sergileyerek belirli bir metabolik ayrışmayı da işaret etmektedir (Şekil 4.2-4.3).

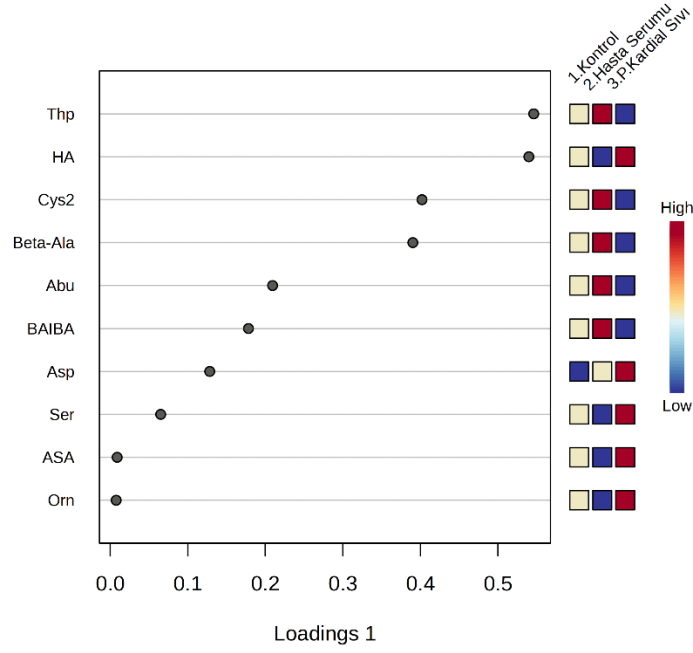


Şekil 4.4. Amino asit sonuçlarının PLS (Partial Least Squares) analizi



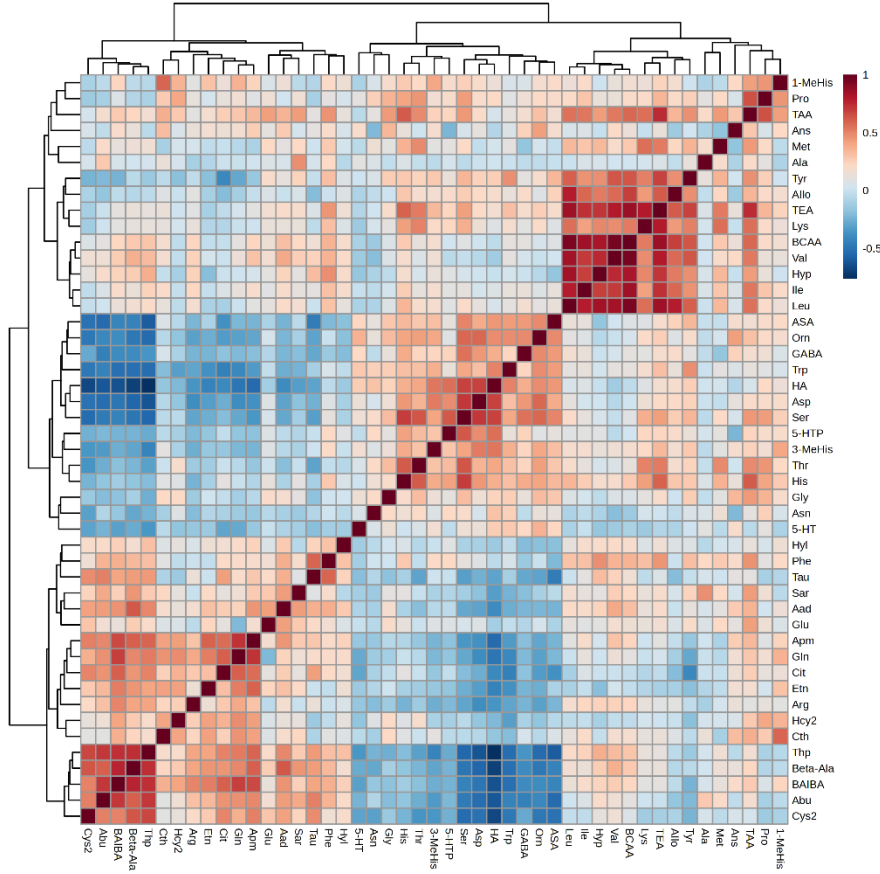
Şekil 4.5. Amino asit sonuçlarının Üç boyutlu PLS skor grafiği

PLS analizi, yüksek boyutlu ve korele değişkenler içeren veri setlerinde, bağımlı (örnek grubu) ve bağımsız (metabolit profilleri) değişkenler arasındaki ilişkiyi aynı anda modelleyerek gruplar arası ayrımı en iyi yansıtacak bileşenleri belirler. Hem iki hem de üç boyutlu PLS skor grafiklerinde; kontrol (kırmızı), hasta serumu (yeşil) ve PS (mavi) örnekleri bileşen eksenlerinde konumlandırılmış, bu eksenler varyansın önemli yüzdelere açıklayacak şekilde seçilmiştir. Perikardiyal sıvı örneklerinin diğer gruplardan belirgin biçimde ayrışması, bu grubun özgün bir biyokimyasal/metabolik profile sahip olduğunu göstermekte; hasta serumu ve kontrol grubu ise kısmen örtüşmekle birlikte kendi içlerinde kümelenerek metabolik ayrışmayı desteklemektedir (Şekil 4.4-4.5).



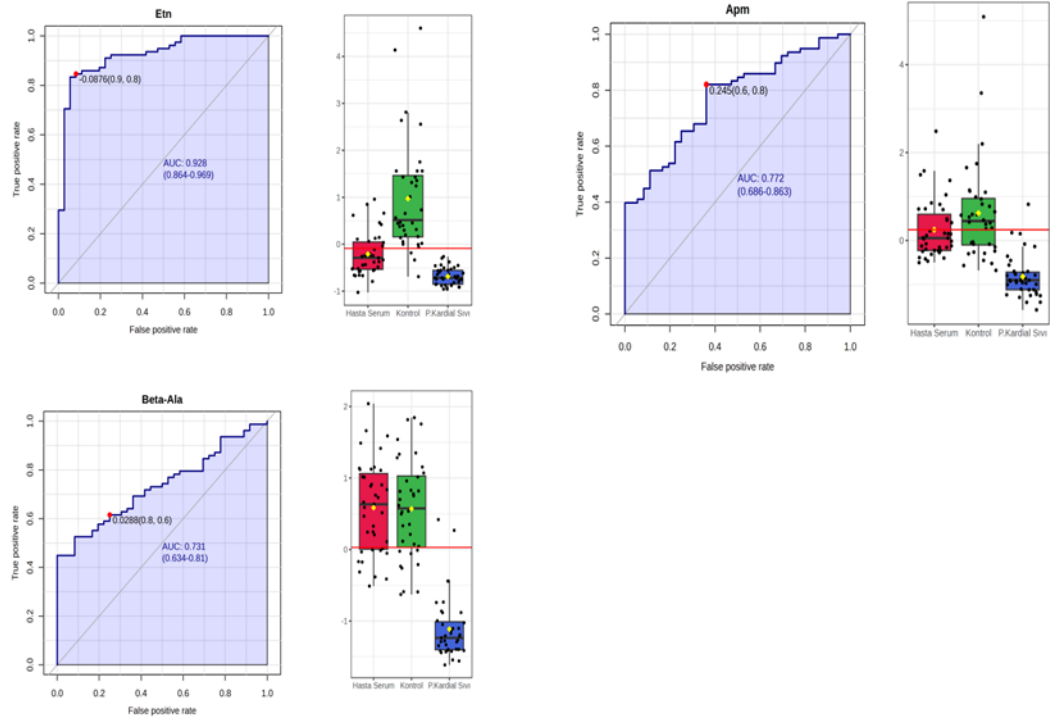
Şekil 4.6. Amino asit sonuçlarının VIP (Variable Importance in Projection) yük grafiği

Bu VIP yük grafiği, PLS tabanlı analizlerde hangi amino asit veya metabolitlerin gruplar arasındaki ayrışmaya en fazla katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır. Daha önce belirlenen en önemli on amino asidin (**Thp, HA, Cys2, Beta-Ala, Abu, BAIBA, Asp, Ser, ASA ve Orn**) istatistiksel olarak ön plana çıkması, bu bileşenlerin VIP değerlerinin de yüksek olduğunu doğrulamaktadır. Bu durum, hastalık sürecinde özellikle PS'nin kontrol grubundan belirgin biçimde ayrışmasını açıklayabilecek metabolik veya biyokimyasal değişimlerin altını çizmektedir. Söz konusu amino asit ve metabolitlerin yüksek VIP skorlarına sahip olması, onların potansiyel biyobelirteç olma ihtimalini güçlendirirken, gruplar arası farklılıkların tanısal ve prognostik açıdan değerlendirilmesinde faydalı bir rehberlik sağlayabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.7. Amino asit sonuçlarının korelasyon haritası

Korelasyon haritasındaki bulgulara göre , seçili on amino asidin (Thp, HA, Cys2, Beta-Ala, Abu, BAIBA, Asp, Ser, ASA ve Orn) birbirleriyle ve diğer metabolitlerle olan doğrusal ilişkilerini renk skalası üzerinden görselleştirerek, olası metabolik bağlantıları ortaya koymaktadır. Koyu kırmızı alanlar güçlü pozitif korelasyonu, koyu mavi alanlar ise güçlü negatif korelasyonu temsil ederken; özellikle Thp–HA, Asp–Ser, Abu–BAIBA ve ASA–Orn gibi çiftler arasında belirgin pozitif korelasyonlar, bu moleküllerin ortak metabolik yollarda veya fizyopatolojik süreçlerde birlikte hareket ettiğini düşündürmektedir. Cystine gibi sülfür içeren bileşikler ve β -Alanine gibi enerji metabolizmasında görevli moleküller arasındaki ilişkiler ise oksidatif stres ya da enerji homeostazına işaret edebilir. Haritadaki dendrogram yapıları, benzer korelasyon paternine sahip amino asitlerin kümелendiğini göstererek biyolojik olarak ilişkili alt grupların tanımlanmasına imkân tanımaktadır. Bu paternler, özellikle enerji metabolizması, azot atılımı ve bağışıklık yanıtı gibi süreçlerde rol oynayan biyobelirteç adaylarının tanımlanmasında klinik olarak anlamlı olabilir.



Şekil 4.8. Amino asit sonuçlarının ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi

Bu ROC analizinde üç farklı grup söz konusudur: kırmızı hasta serumu, yeşil kontrol grubu ve mavi PS. Her bir amino asidin elde ettiği AUC (Area Under the Curve) değeri, bu grupları ne ölçüde başarılı şekilde ayırt edebildiğini gösterir. Örneğin, Ethanolamine (Etn) için hesaplanan 0.928 (0.864–0.969)’lik AUC, hasta serumu veya PS örnekleri ile kontrol grubu arasında oldukça yüksek bir ayırım gücüne işaret etmektedir. Alpha-aminopimelic acid (Apm) 0.772 (0.686–0.863)’lik AUC değeri ile orta-üst düzeyde bir performans sergilerken, β -Alanine (Beta-Ala) 0.731 (0.634–0.810) AUC değerine sahip olarak Apm’e benzer, ancak Etn’e kıyasla daha sınırlı bir ayırt edicilik göstermektedir. Kutu grafikleri de PS’nin (mavi) metabolik açıdan kontrol grubundan (yeşil) ve hasta serumundan (kırmızı) belirgin biçimde farklılaşabildiğini vurgularken, Etn’in bu farklılıkları en güçlü biçimde yansıtabilecek potansiyel bir biyobelirteç olduğunu öne çıkarmaktadır.

Amino asit profilleri değerlendirildiğinde, bazı amino asitlerin hasta serumunda kontrollere göre yüksek, PS'de ise serumdan da daha yüksek düzeylere ulaştığı görülmüştür. Örneğin, ornitin, triptofan, serin, aspartik asit gibi amino asitler hasta grubunda kontrollere göre artmış; PS'de ise bu artış daha da belirgin hale gelmiştir. Bu bulgu, kalp hastalığı sürecinde amino asit metabolizmasının aktif şekilde değiştiğini, protein katabolizmasının ve doku yıkımının arttığını göstermektedir. PS'de amino asit birikiminin daha yüksek olması, bu sıvının kalbin lokal metabolik stresini ve inflamasyon sürecini doğrudan yansıttığını düşündürmektedir. Özellikle ornitin ve serin gibi amino asitlerin artışı, üre döngüsünde ve enerji metabolizmasında yaşanan bozulmaların bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

4.2. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Karnitin Profillerinin Analizi

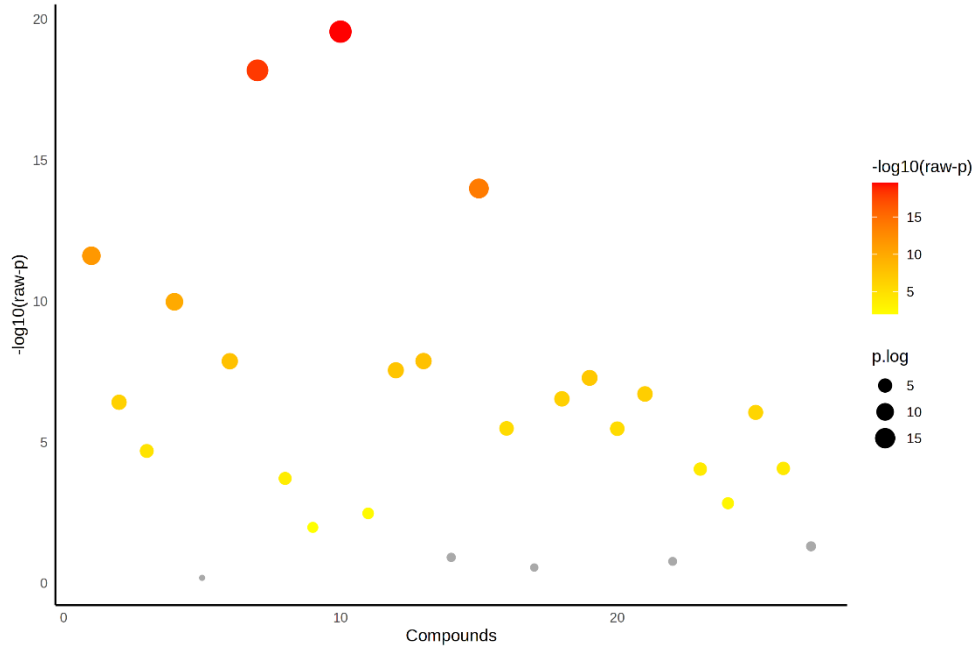
Karnitin ve açılakarnitin profilleri değerlendirildiğinde, kontrol grubu, hasta serumu ve perikardiyal sıvı örnekleri arasında belirgin metabolik farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu farklılıklar özellikle perikardiyal sıvı örneklerinde daha dikkat çekici düzeydedir. Bulgular, koroner arter hastalığı ve bypass cerrahisi sürecinde yağ asidi oksidasyonu, mitokondriyal enerji metabolizması ve kardiyak lokal metabolik stresle ilişkili değişikliklerin açılakarnitin profiline yansıdığını düşündürmektedir.

Tablo 4.2. Karnitin sonuçlarının ANOVA test analizi

	KONTROL	HASTA SERUMU	PERİKARDİYAL SIVI		
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	p	post Hoc
Serbest Karnitin (C0)	106,62 ± 38,14	108,48 ± 34,03	165,22 ± 70,19	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Asetil Karnitin (C2)	44,7 ± 13,51	52,25 ± 16,97	55,34 ± 17,67	0,003 *	Hasta Serumu-Kontrol
Propiyonil Karnitin (C3)	1,3 ± 0,53	1,29 ± 0,7	1,74 ± 0,78	0,020 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Bütiril/İzobütiril Karnitin (C4)	0,64 ± 0,32	0,46 ± 0,23	0,9 ± 0,47	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Süksinil Karnitin (C4DC)	0,11 ± 0,04	0,09 ± 0,04	0,08 ± 0,05	0,241	
İzovaleril/Valeril Karnitin (C5)	0,54 ± 0,19	0,57 ± 0,24	0,8 ± 0,27	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Tigilil Karnitin (C5:1)	0,42 ± 0,13	0,5 ± 0,17	0,16 ± 0,06	0,001 *	Hasta Serumu-Kontrol
3-Hidroksiizovaleril Karnitin (C5OH)	0,14 ± 0,03	0,2 ± 0,08	0,15 ± 0,08	0,001 *	Hasta Serumu-Kontrol
Glutaril Karnitin (C5DC)	0,47 ± 0,2	0,36 ± 0,15	0,38 ± 0,14	0,01*	P.Kardial Sıvı-Hasta Serumu
Hekzanoyl Karnitin (C6)	0,19 ± 0,08	0,19 ± 0,08	0,31 ± 0,12	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol

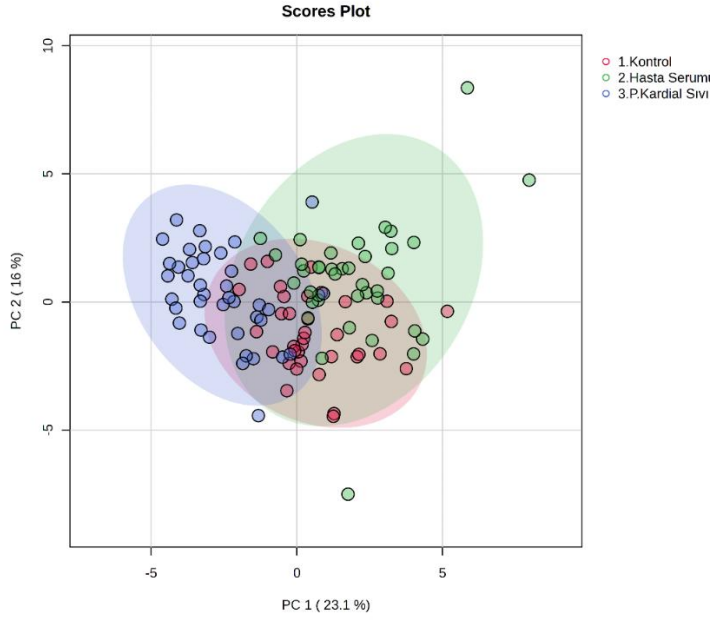
Adipil Karnitin (C6DC)	0,11 ± 0,06	0,1 ± 0,06	0,15 ± 0,11	0,003 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Oktanoyl Karnitin (C8)	0,54 ± 0,26	0,34 ± 0,17	0,46 ± 0,21	0,001 *	Hasta Serumu-Kontrol
Oktenoyl Karnitin (C8:1)	0,23 ± 0,11	0,22 ± 0,1	0,12 ± 0,06	0,009 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Suberil Karnitin (C8DC)	0,03 ± 0,03	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,04	0,31	
Dekanoil Karnitin (C10)	1,47 ± 0,67	0,6 ± 0,33	0,78 ± 0,35	0,001 *	Hasta Serumu-Kontrol
Dekenoyl Karnitin (C10:1)	0,94 ± 0,32	1,13 ± 0,53	0,69 ± 0,33	0,033 *	Hasta Serumu-Kontrol
Sebasyl Karnitin (C10DC)	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,07	
Dodekanoyl Karnitin (C12)	0,24 ± 0,1	0,14 ± 0,07	0,15 ± 0,05	0,003 *	Hasta Serumu-Kontrol
Tetradekanoyl Karnitin (C14)	0,11 ± 0,04	0,09 ± 0,05	0,11 ± 0,05	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Tetradekenoyl Karnitin (C14:1)	0,2 ± 0,1	0,13 ± 0,07	0,17 ± 0,08	0,033 *	Hasta Serumu-Kontrol
Tetradekadienoyl Karnitin (C14:2)	0,14 ± 0,07	0,12 ± 0,07	0,16 ± 0,06	0,002 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Palmitoyl Karnitin (C16)	0,24 ± 0,08	0,26 ± 0,16	0,22 ± 0,11	0,09	
Palmitoleyl Karnitin (C16:1)	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,06	0,09 ± 0,04	0,041 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Stearoyl Karnitin (C18)	0,12 ± 0,05	0,12 ± 0,05	0,08 ± 0,07	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Oleyl Karnitin (C18:1)	0,3 ± 0,12	0,23 ± 0,08	0,17 ± 0,09	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Linoleyl Karnitin (C18:2)	0,17 ± 0,06	0,16 ± 0,06	0,11 ± 0,05	0,852 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Hidroksiokdadecenoyl Karnitin (C18:1 OH)	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,41	

ANOVA ve post hoc analiz sonuçları, kontrol, hasta serumu ve PS grupları arasında karnitin ve açilkarnitin düzeylerinde anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir. Özellikle C0 ve C2 gibi parametrelerde PS ve hasta serumunun kontrol grubuna kıyasla belirgin düzey değişimleri saptanmıştır. Ayrıca C3, C6, C12, C16:1 gibi birçok açilkarnitin türevi de istatistiksel olarak anlamlı farklar göstermiştir. Farklılıkların çoğunlukla “PS –Kontrol” ve “Hasta Serumu–Kontrol” grupları arasında yoğunlaştığı görülmüş; bu da PS’nin özgün bir metabolik profile sahip olduğunu, hasta serumundaki değişimlerin ise hastalığa bağlı metabolik adaptasyonları yansıtabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, karnitin türevlerinin özellikle PS’de tanısal potansiyele sahip biyobelirteçler olabileceğini işaret etmektedir.

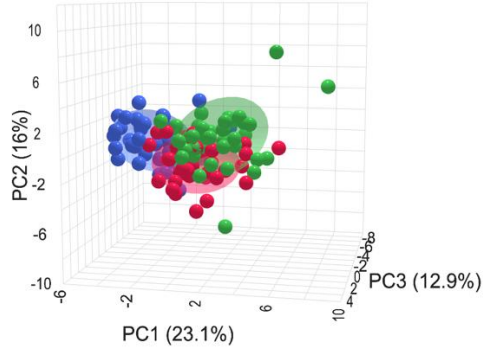


Şekil 4.9.Karnitin sonuçlarının renk ölçeği

Bu görseldeki renk ölçeği, C6, C5:1, C0, C4 ve C8:1 gibi en anlamlı değişim gösteren karnitinlerin üç farklı grup (Kontrol, Hasta Serumı ve PS) arasındaki istatistiksel ayrışma düzeylerini ortaya koymaktadır. Daha koyu renk, gruplar arasındaki farklılığın daha yüksek istatistiksel anlamlılığa işaret ederken, gri tonlar söz konusu karnitinde anlamlı bir değişim olmadığını göstermektedir.

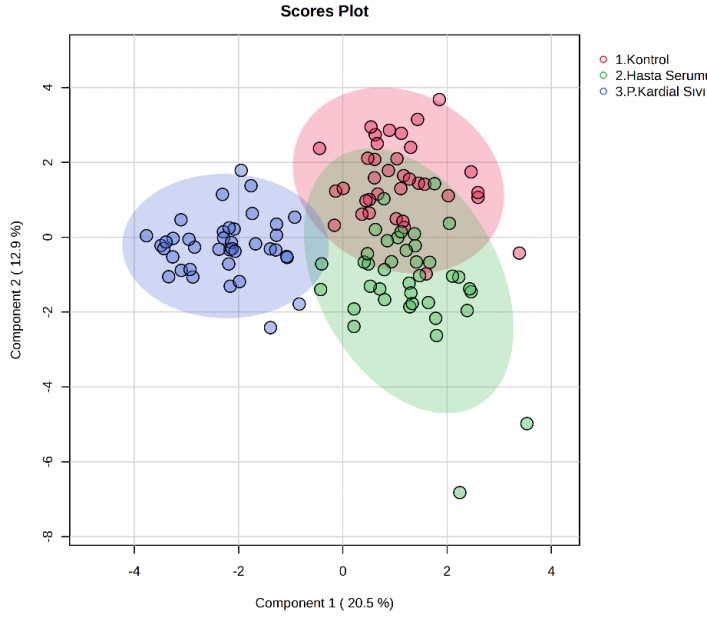


Şekil 4.10. Karnitin sonuçlarının iki boyutlu PCA skor grafiği

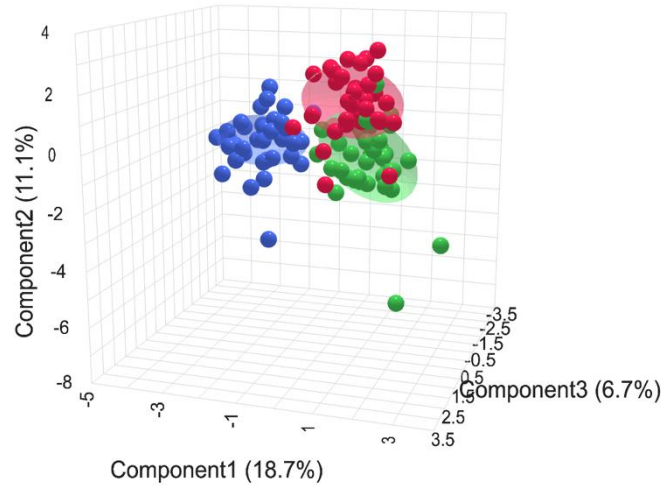


Şekil 4.11. Karnitin sonuçlarının üç boyutlu PCA grafiği

İki ve üç boyutlu PCA skor grafikleri, kontrol (kırmızı), hasta serumu (mavi) ve PS (yeşil) örnekleri arasında metabolik benzerlik ve farklılıkları görselleştirmektedir. Her iki analizde de PS örnekleri belirgin biçimde diğer gruplardan ayrılarak özgün bir metabolik profile işaret etmektedir. Kontrol ve hasta serumu grupları ise kısmen örtüşmekle birlikte, kendi içlerinde ayrıışan alt kümeler oluşturarak hastalıkla ilişkili metabolik farklılıkların varlığını ortaya koymaktadır (Şekil 4.10-4.11).



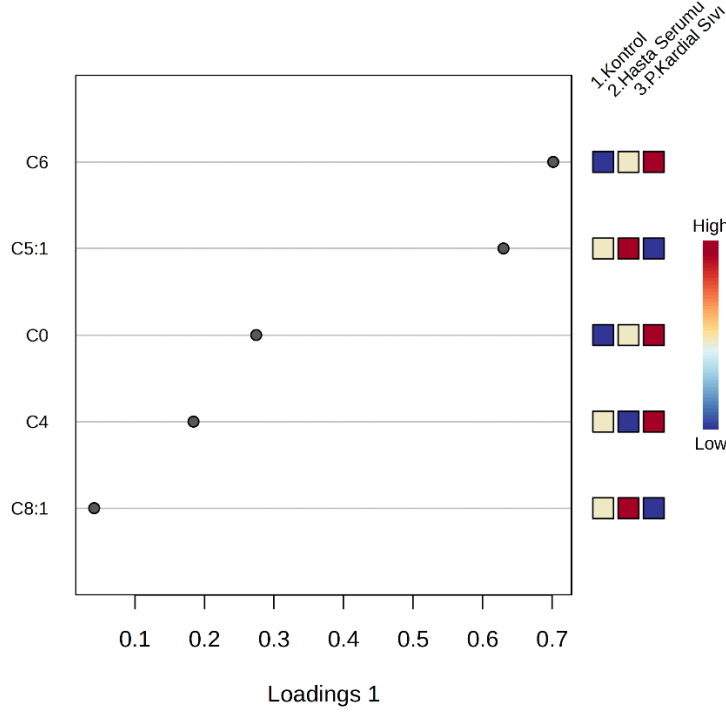
Şekil 4.12. Karnitin sonuçlarının iki boyutlu PLS skor grafiği



Şekil 4.13. Karnitin sonuçlarının üç boyutlu PLS skor grafiği

İki ve üç boyutlu PLS skor grafikleri, kontrol (kırmızı), hasta serumu (mavi) ve PS (yeşil) grupları arasında metabolik farklılıkları vurgulamak amacıyla varyansı en iyi açıklayan bileşenler üzerinden örneklerin dağılımını göstermektedir. Her iki analizde de PS örnekleri diğer gruplardan belirgin şekilde ayrılarak özgün bir metabolik profile

sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Hasta serumu ve kontrol grupları ise kısmen örtüşmekle birlikte, kendi içlerinde alt kümeler oluşturarak belirli düzeyde metabolik farklılıklar sergilemektedir. Bu durum, PS'nin ayırt edici biyokimyasal özellikler taşıdığını güçlü şekilde desteklemektedir (Şekil 4.12-4.13).

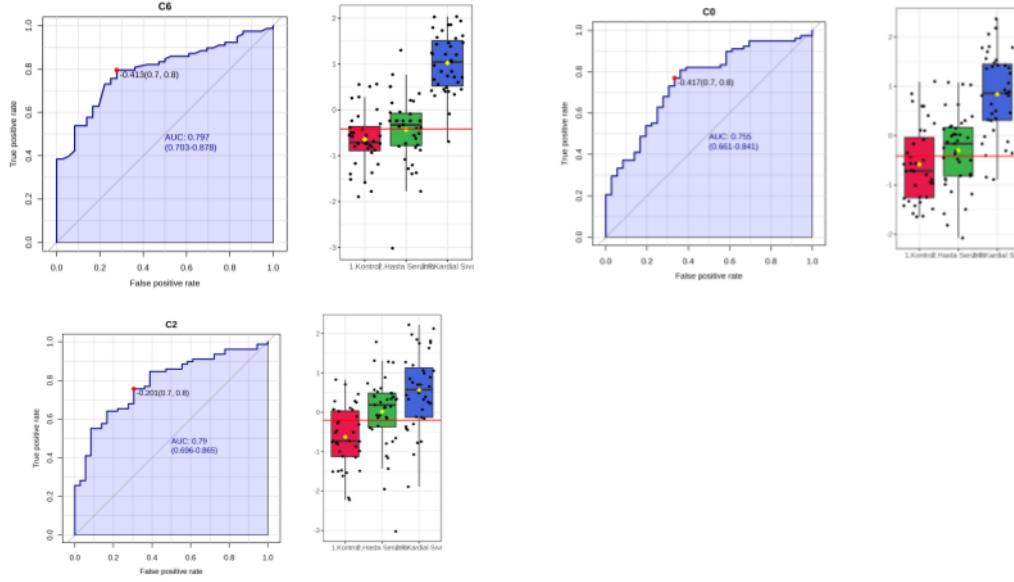


Şekil 4.14. Karnitin sonuçlarının VIP grafiği

VIP grafiği, PLS veya sPLS (sparse Partial Least Squares) analizinde hangi karnitin türevlerinin gruplar (kontrol, hasta serumu ve PS) arasındaki ayrışmaya en fazla katkı sağladığını göstermektedir.

C6, C5:1, C0, C4 ve C8:1. Bu beş karnitin, yağ asidi oksidasyonu ve enerji metabolizması süreçlerinde kilit roller oynamasıyla bilinir ve söz konusu gruplar arasındaki metabolik farklılıkların belirgin yansımalarını içermektedir. VIP skorlarının yüksek olması, bu karnitinlerin hasta serumu ile kontrol veya PS arasındaki ayrışmayı en net biçimde ortaya koyabilecek parametreler olduğunu gösterir. Dolayısıyla, bu moleküller hastalık patofizyolojisinin anlaşılmasında, potansiyel biyobelirteçlerin

önem taşır; zira aynı gruptaki benzer davranış paternleri, ilgili metabolik süreçteki değişimin daha net bir şekilde tespit edilmesine ve klinik yorumlamanın güçlenmesine katkıda bulunur.



Şekil 4.16. Karnitin sonuçlarının ROC analizi

ROC analizinde C6, C0 ve C2 gibi karnitin türevlerinin hasta, kontrol ve PS grupları arasındaki ayırt edici gücü değerlendirilmiştir. C6 ($AUC \approx 0.79$) ve C2 ($AUC \approx 0.80$), yüksek ayırıcı performans sergilerken, C0 ($AUC \approx 0.73$) orta düzeyde bir ayırım gücü göstermektedir. Özellikle PS örneklerinde bu karnitin düzeylerinin daha belirgin değişim göstermesi, bu örnek türünün özgün bir metabolik profile sahip olduğunu ve karnitin türevlerinin tanısal biyobelirteç olarak potansiyel taşıdığını düşündürmektedir.

Karnitin ve açilkarnitin profilleri incelendiğinde, serbest karnitin ve orta zincirli açilkarnitinlerin hasta serumlarında kontroller grubuna göre arttığı, PS’de ise bu artışın daha belirgin hale geldiği saptanmıştır. Özellikle C0, C6 ve C8 gibi bileşiklerin düzeylerinde anlamlı artışlar görülmüştür. Bu durum, kalp hastalığı sürecinde yağ asidi oksidasyonu ve mitokondriyal enerji üretiminde bozulmalar meydana geldiğini göstermektedir. Karnitin türevlerindeki birikim, kalp kası hücrelerinde enerji dengesinin sağlanamadığını ve metabolik atıkların yeterince temizlenemediğini düşündürmektedir.

PS'de karnitin birikiminin daha belirgin olması, kalp çevresinde mitokondriyal disfonksiyonun ve metabolik stresin daha yoğun yaşandığına işaret etmektedir.

Sonuç olarak, amino asitler, karnitinler ve organik asitler açısından hasta serumunda kontrollere göre anlamlı değişimler saptanmış, PS ise bu değişimlerin daha da belirginleştiği özgün bir metabolik profil sunmuştur. Bu bulgular, kalp hastalığında hem sistemik hem de lokal metabolik süreçlerin etkilendiğini, ancak PS'nin kalp çevresindeki özgül değişimleri daha hassas şekilde yansıttığını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, hem yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesi hem de kalp hastalıklarının erken tanı, risk sınıflaması ve tedavi izleminde metabolomik yaklaşımların önem kazanabileceğini ortaya koymuştur. Amino asit, organik asit ve karnitin değişimlerinin birlikte değerlendirilmesi, kardiyovasküler hastalıkların biyokimyasal temellerini anlamaya ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayabilecektir.

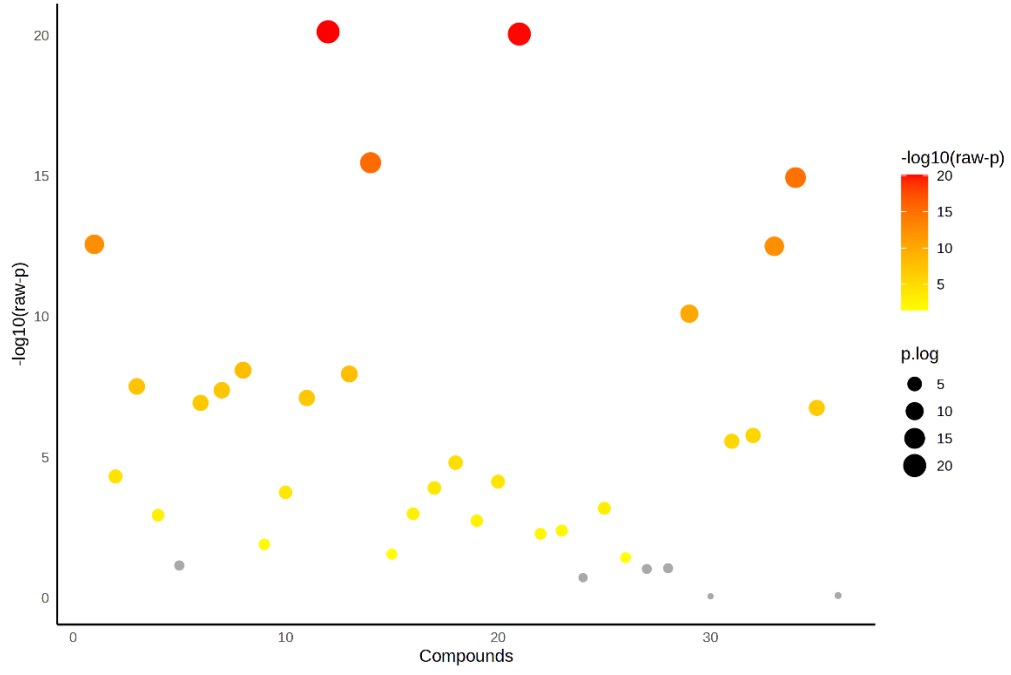
4.3. Hasta ve Sağlıklı Bireylerin Organik Asit Profillerinin Analizi

Bu çalışmada kontrol, hasta serumu ve PS olmak üzere üç farklı grupta toplam 36 organik asit düzeyi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Analizler sonucunda bu asitlerden 30 tanesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir. Bunlar arasında en anlamlı fark gösteren ilk 10 organik asit ise 3-hidroksipropiyonik asit (3-HP), 4-hidroksifenilaktik asit (4-HPLA), laktik asit (Lac), piroglutamik asit (pGlu), malik asit (Mal), homogentisik asit (HGA), sebasik asit (Seb), 2-hidroksifenilasetik asit (2-HPAA), 3-hidroksibütirik asit (3-HB) ve 4-hidroksifenilasetik asit (4-HPAA) olarak belirlenmiştir. Grafiksel değerlendirmeye göre, özellikle PS grubunda 3-HP, pGlu ve 3-HB gibi bazı metabolitlerin düzeyleri anlamlı olarak bulunmuş, bu da bu sıvının kardiyovasküler sistemin lokal metabolik ortamına özgü bir profil taşıdığını göstermektedir. Bu bulgular, PS'nin kendine özgü biyokimyasal yapısının tanınması açısından önemli olabileceğini ve hasta serumundaki değişimlerin hastalık fizyopatolojisiyle yakından ilişkili olabileceğini göstermektedir. Özellikle PS'de saptanan anlamlı değişiklikler, kardiyak hastalıkların tanı ve takibinde yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesine katkı sağlayabilecek niteliktedir.

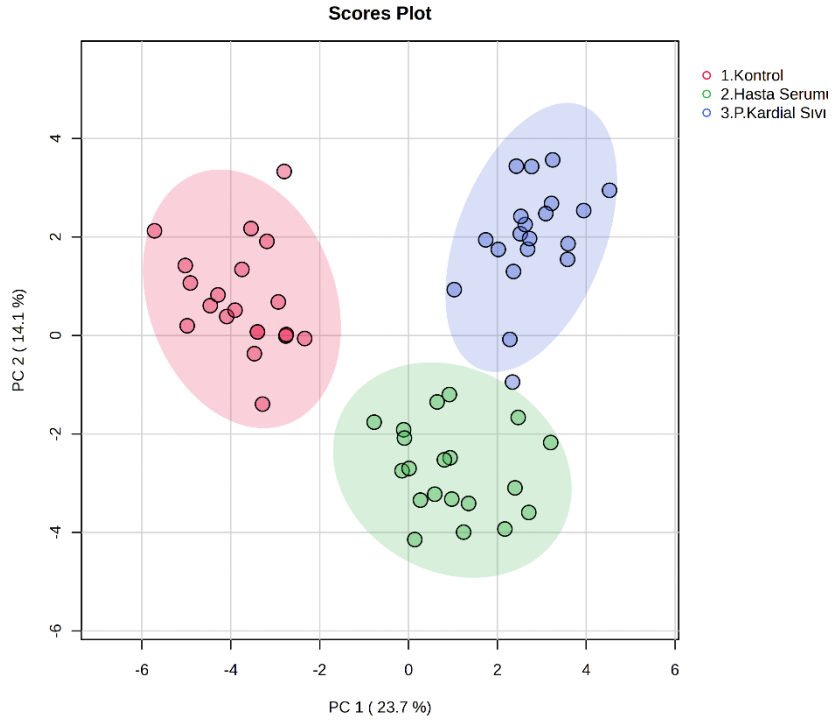
Tablo 4.3. Organik asit sonuçlarının ANOVA test analizi

		Control	Patient Serum	P.cardial Fluid		
Organik Asit	Kısaltma	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	p	post Hoc
Oxoproline (Pyroglutamic acid)	pGlu	12,98 ± 6,79	3,67 ± 1,77	4,18 ± 1,95	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
3-Phenyl lactic acid	3-PLA	0,08 ± 0,04	0,13 ± 0,08	0,21 ± 0,1	0,001*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
4-Hydroxy phenylacetic acid	4-HPAA	0,72 ± 0,36	0,59 ± 0,27	0,27 ± 0,12	0,001*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Fumaric acid	Fum	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
Glycolic acid	GlyA	0,35 ± 0,13	0,71 ± 0,38	0,66 ± 0,3	0,071	
Hexanoilglycine	HexGly	0,01 ± 0,002	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
Homogentisic acid	HGA	0,01 ± 0,004	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
Malic acid	Mal	0,2 ± 0,1	0,07 ± 0,02	0,08 ± 0,05	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
Malonic acid	Malon	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01*	Hasta Serumu-Kontrol
N-Acetyl aspartic acid	NAA	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
2-Hydroxy phenylacetic acid	2-HPAA	0,07 ± 0,03	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
4-Hydroxy phenyl lactic acid	4-HPLA	3,72 ± 1,9	0,29 ± 0,12	0,48 ± 0,21	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
Sebacic acid	Seb	0,13 ± 0,08	0,08 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
Suberic acid	Sub	0,49 ± 0,28	2,14 ± 1,08	0,59 ± 0,23	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
2-Hydroxy butyric acid	2-HB	2,31 ± 1,09	3,59 ± 1,13	3,71 ± 1,55	0,02*	Hasta Serumu-Kontrol
2-Oxoadipic acid	2-OA	0,41 ± 0,24	0,31 ± 0,16	0,24 ± 0,12	0,001*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
3-Methylglutaconic acid	3-MGA	0,01 ± 0,003	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
3-Hydroxy-2-methyl butanoic acid	3-H2MB	0,16 ± 0,07	0,12 ± 0,07	0,07 ± 0,03	0,01*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
3-Hydroxy butyric acid	3-HB	1,17 ± 0,57	2,71 ± 1,3	1,92 ± 0,78	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
3-Hydroxy isobutyrate	3-HIB	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,1 ± 0,07	0,01*	Hasta Serumu-Kontrol
3-Hydroxy propanoic acid	3-HP	2,91 ± 1,36	26,21 ± 11,27	26,91 ± 10,93	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
3-Methyl-2-oxovaleric acid	3-M2OV	0,13 ± 0,06	0,3 ± 0,1	0,28 ± 0,13	0,005*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
4-Methyl-2-oxovaleric acid	4-M2OV	0,19 ± 0,07	0,36 ± 0,15	0,39 ± 0,13	0,004*	Hasta Serumu-Kontrol
Pyruvic acid	Pyr	0,44 ± 0,24	0,42 ± 0,18	0,43 ± 0,18	0,21	
2-Hydroxy glutaric acid	2-HG	12,46 ± 0,19	12,51 ± 0,21	13,09 ± 0,54	0,001*	Hasta Serumu-Kontrol
2-Hydroxy-3-methyl pentanoic acid	2-H3MP	0,31 ± 0,06	0,32 ± 0,04	0,33 ± 0,01	0,03*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
2-Hydroxy isocaproic acid	2-HIC	0,18 ± 0,01	0,21 ± 0,05	0,21 ± 0,04	0,062	
2-Hydroxy isovaleric acid	2-HIV	0,9 ± 0,31	0,83 ± 0,3	1,18 ± 0,45	0,091	
3-Hydroxy glutaric acid	3-HG	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,26 ± 0,11	0,001*	P.Kardial Sıvı-Kontrol
3-Hydroxy isovaleric acid	3-HIV	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,51	
3-Hydroxy pentanoic acid	3-HPent	0,07 ± 0,05	0,1 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,02*	Hasta Serumu-Kontrol
2-Ketoglutaric acid	α-KG	0,13 ± 0,07	0,18 ± 0,08	0,42 ± 0,17	0,01*	P.Kardial Sıvı-Kontrol

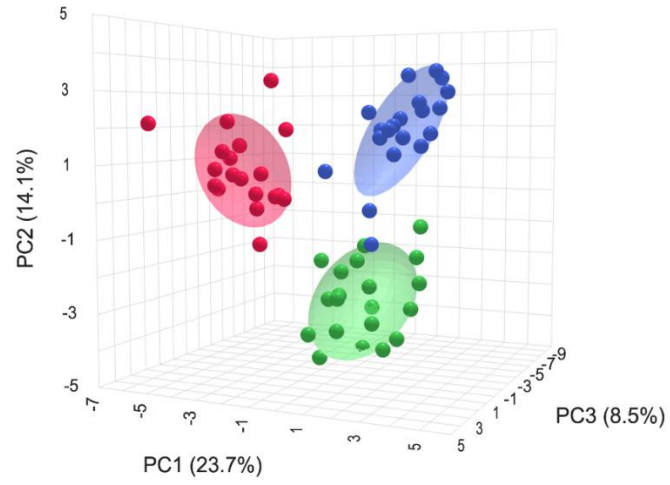
(α -Ketoglutarate)						
Citric acid	Cit	13,33 $\pm$ 3,28	11,05 $\pm$ 5,51	34,65 $\pm$ 12,04	0,001 *	Hasta Serumu-Kontrol
Lactic acid	Lac	465,51 $\pm$ 210,59	127,29 $\pm$ 31,83	117,49 $\pm$ 52,86	0,001 *	Hasta Serumu-Kontrol
Methyl malonic acid	MMA	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	0,001 *	P.Kardial Sıvı-Kontrol
Orotic acid	Oro	0,2 $\pm$ 0,09	0,23 $\pm$ 0,1	0,26 $\pm$ 0,06	0,074	



Şekil 4.17. Organik asit sonuçlarının renk dağılım grafiği

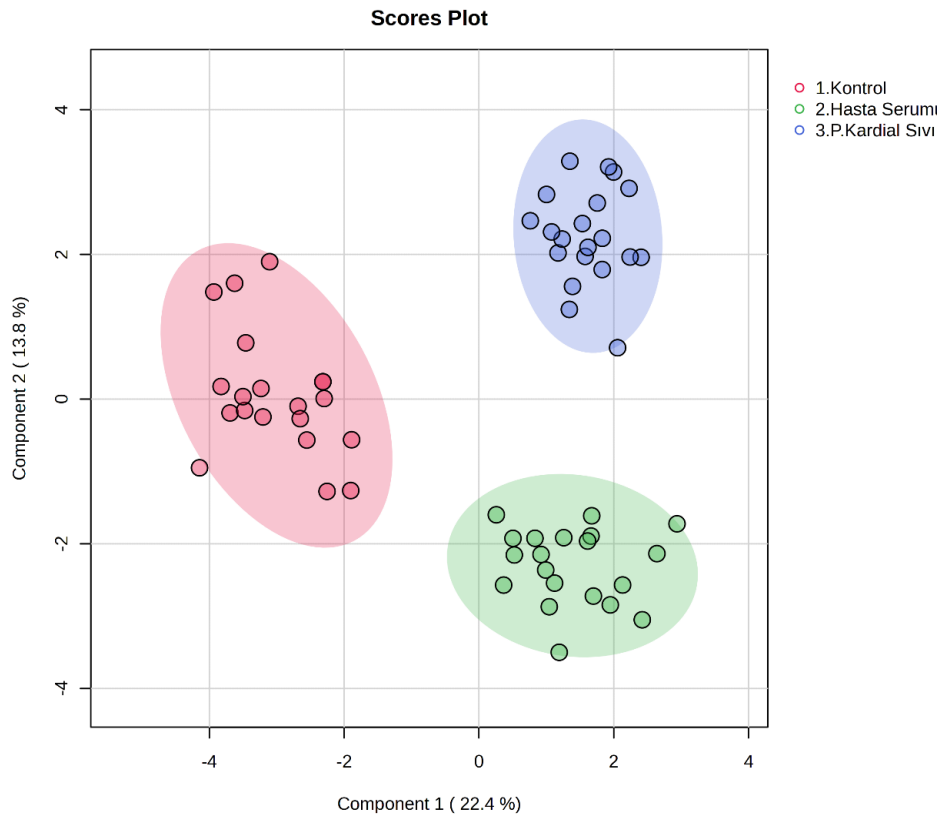


Şekil 4.18. Organik asit sonuçlarının PCA grafiği

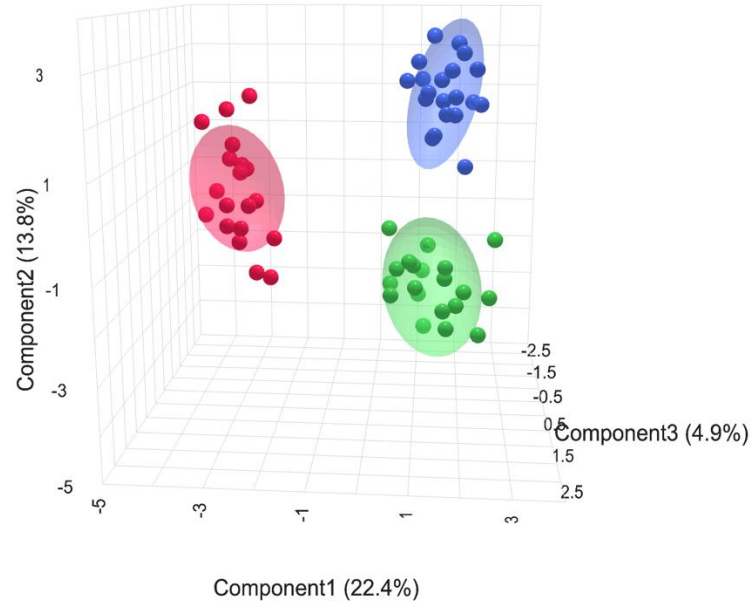


Şekil 4.19. Organik asit sonuçlarının üç boyutlu PCA grafiği

İki ve üç boyutlu PCA grafikleri, kontrol, hasta serumu ve PS gruplarının organik asit profillerine göre belirgin şekilde ayrıştığını göstermektedir. Özellikle PS grubu, diğer gruplardan net biçimde uzaklaşıp kendi içinde kümelenerek kardiyovasküler sisteme özgü ayırt edici metabolik profil taşıdığını ortaya koymaktadır. Hasta serumu da kontrol grubundan farklı bir konumda yer almakta ve hastalığa bağlı metabolik değişimleri yansıtmaktadır. Bu ayrışma, organik asit profilinin biyobelirteç keşfi ve tanısal modelleme açısından yüksek ayırt edici potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.18-4.19).

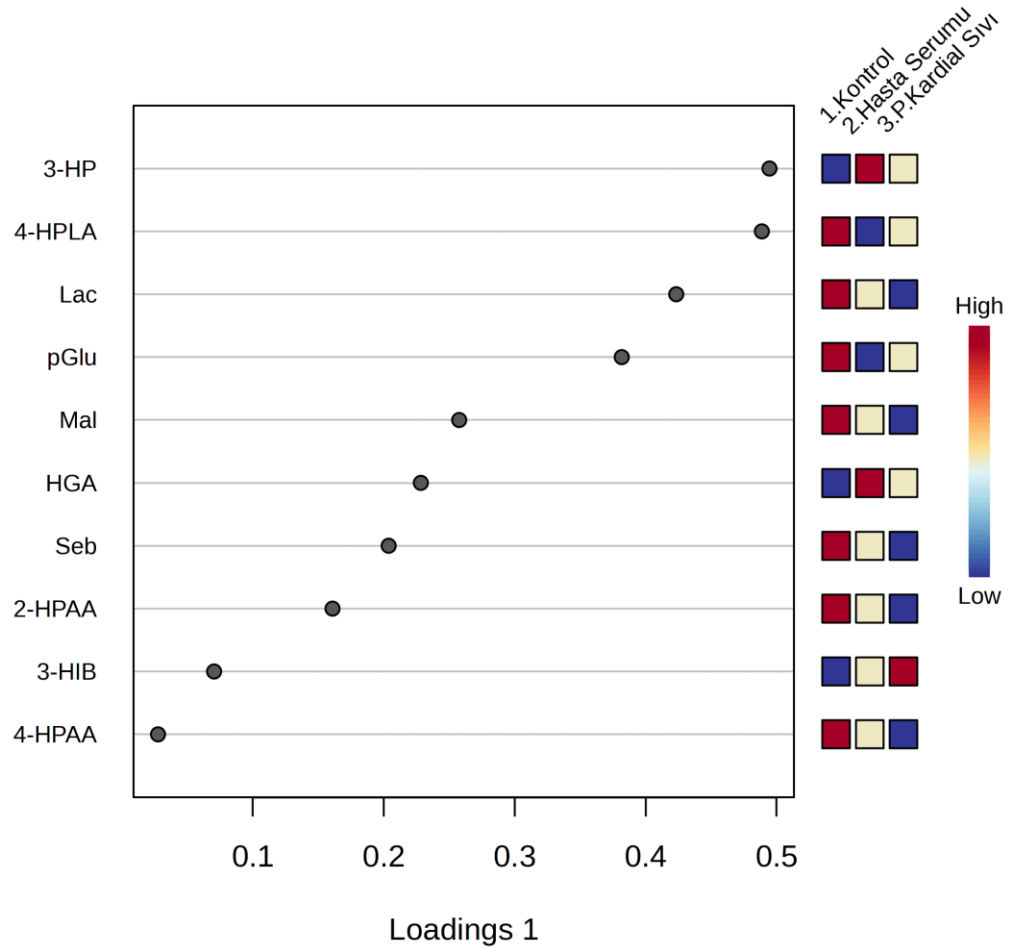


Şekil 4.20. Organik asit sonuçlarının PLS grafiği



Şekil 4.21. Organik asit sonuçlarının PLS grafiği

Bu iki boyutlu ve üç boyutlu PLS grafiği, kontrol, hasta serumu ve PS gruplarının organik asit profilleri üzerinden belirgin şekilde ayrıştığını göstermektedir. Özellikle PS, diğer gruplardan net biçimde farklılaşarak kardiyovasküler sisteme özgü bir metabolik yapıyı yansıtırken; hasta serumu da kontrol grubundan ayrışarak hastalığa bağlı metabolik değişiklikleri ortaya koymaktadır. Bu ayrışma, organik asitlerin tanısal açıdan güçlü bir biyobelirteç potansiyeli taşıdığını ve PLS analizinin bu farkları etkili biçimde görselleştirdiğini göstermektedir (Şekil 4.20-4.21).



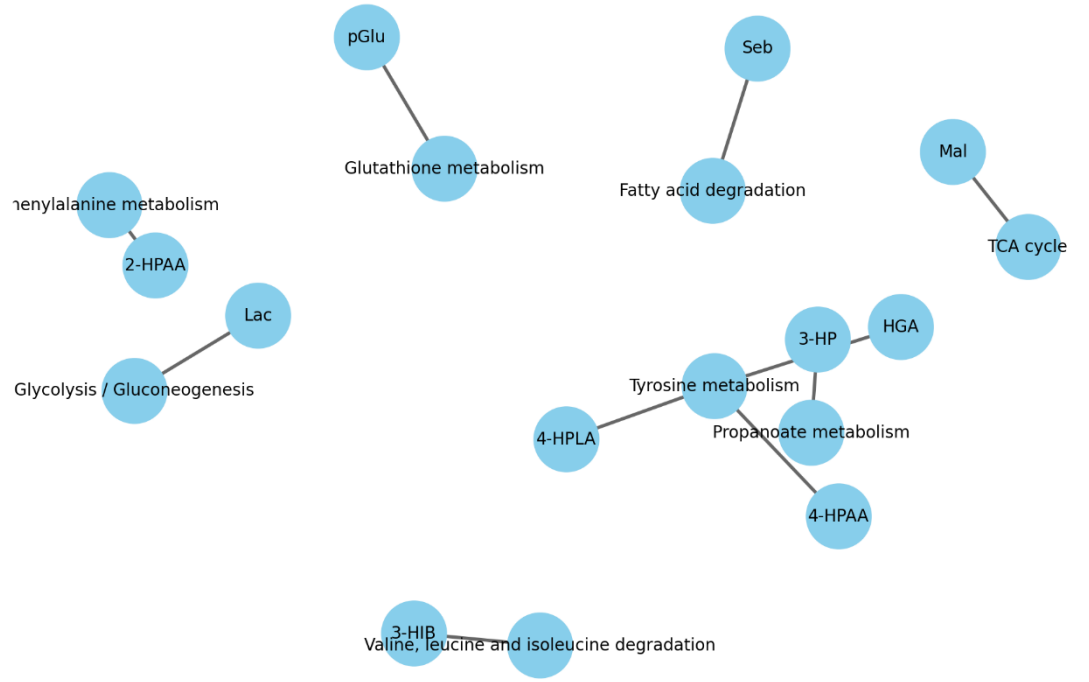
Şekil 4.22. Organik asit sonuçlarının VIP grafiği

VIP grafiği, üç farklı grup (kontrol, hasta serumu ve PS) arasında en anlamlı değişim gösteren 10 organik asidi ve bu asitlerin gruplar üzerindeki ayırt edici katkı düzeylerini göstermektedir. Grafikte yer alan organik asitler arasında en yüksek yük değeriyle katkı sağlayan bileşikler sırasıyla 3-HP, 4 HPLA, Lac, pGlu, Mal, HGA, Seb, 2-HPAA, 3-HIB ve 4-HPAA'dır. Bu bileşikler, VIP skorları en yüksek olan metabolitler olup, gruplar arasındaki ayrımı en güçlü şekilde sağlayan değişkenlerdir. Grafiğin sağ tarafında yer alan ısı haritası ise her bir metabolitin ilgili grupta düşükten yükseğe doğru olan konsantrasyon eğilimini (mavi – düşük, kırmızı–yüksek) yansıtmaktadır. Örneğin 3-HP, PS grubunda en yüksek düzeyde bulunurken kontrol grubunda düşük seviyededir; bu da bu bileşiğin PS'ye özgü bir metabolik gösterge olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Lac ve 4-HPLA gibi bazı bileşikler hasta serumunda belirgin artış göstererek sistemik metabolik

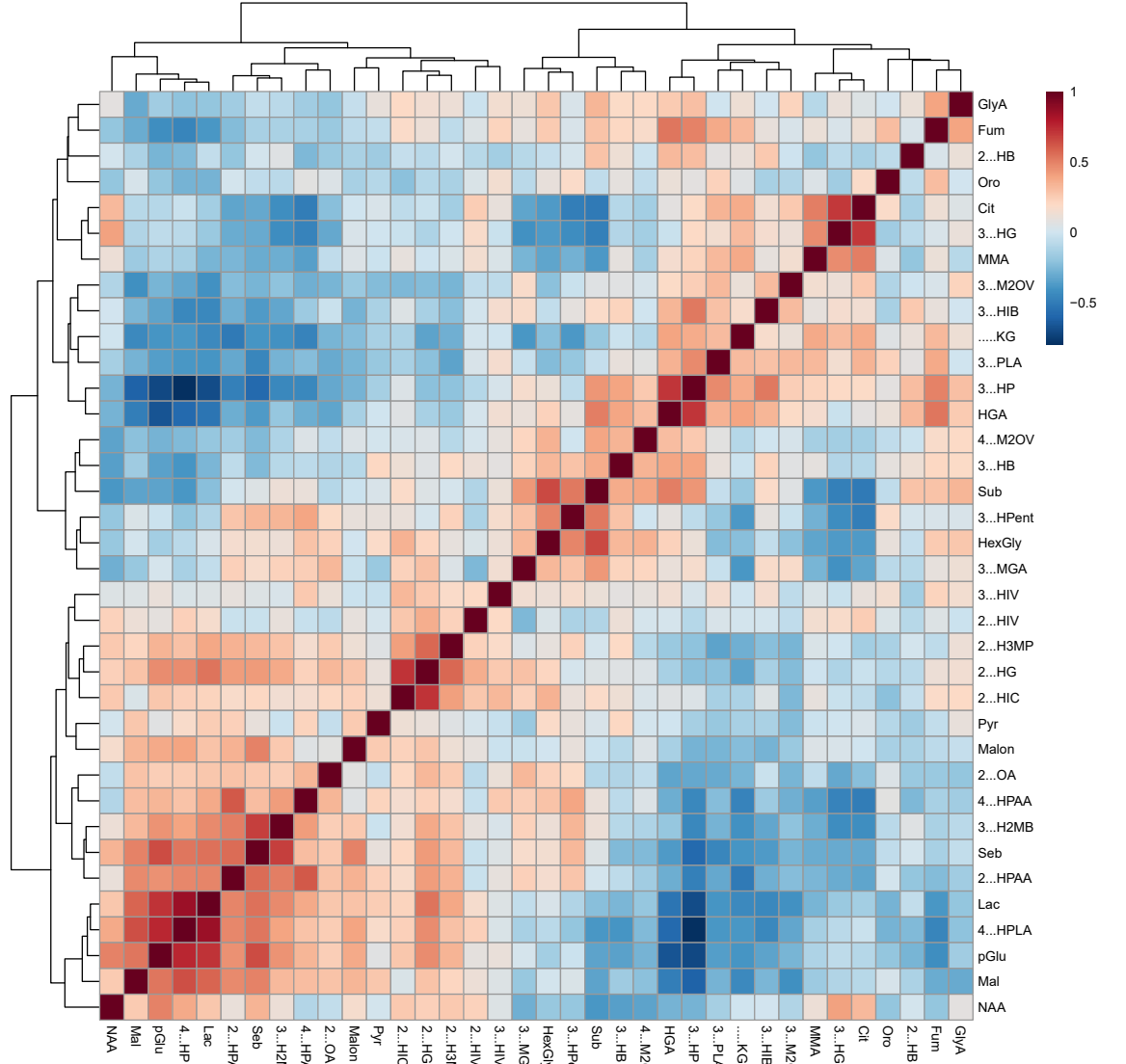
bozulmaları yansıtabilir. Sonuç olarak, bu VIP grafiği, gruplar arası farkı en iyi şekilde yansıtan organik asitleri tanımlayarak, potansiyel tanı veya prognoz biyobelirteçlerinin belirlenmesinde yol gösterici bir nitelik taşımaktadır.

Organik Asitlerin İlişkili KEGG Metabolik Yolakları

Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) veri tabanı temel alınarak değeriendirilen metabolik yolaklar, organik asitlerin hücresele düzeydeki temel biyokimyasa süreçlerle ilişkisini ortaya koyarak hastalık fizyopatolojisinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Örneğin, propanoat metabolizması, kısa zincirli yağ asitlerinin yıkımı ve glukoneogeneze de rol oynarken, glikoliz/glukoneogeneze gibi enerji üretim yolları laktat gibi metabolitler üzerinden anaerobik enerji ihtiyacına yanıt verir. Tirozin metabolizması, 4-HPLA, 4-HPAA ve HGA gibi metabolitler aracılığıyla nörotransmitter sentezi, pigment üretimi ve oksidatif stresle ilişkili süreçlerde görev alırken; fenilalanin metabolizması ve valin, lösin, izolösin yıkımı gibi amino asit katabolizması yolları, kas metabolizması ve genetik hastalıklarla ilişkilidir. Glutasyon metabolizması, pGlu aracılığıyla antioksidan savunma sistemlerinde yer alırken; TCA döngüsü ve yağ asidi yıkımı gibi yolaklar malik asit ve sebasik asit gibi ara ürünlerle hücresele enerji üretimini sağlar.



Şekil 4.23. Organik asitlerin yer aldığı KEGG metabolik yolları



Şekil 4.24. Organik asit sonuçlarının korelasyon haritası

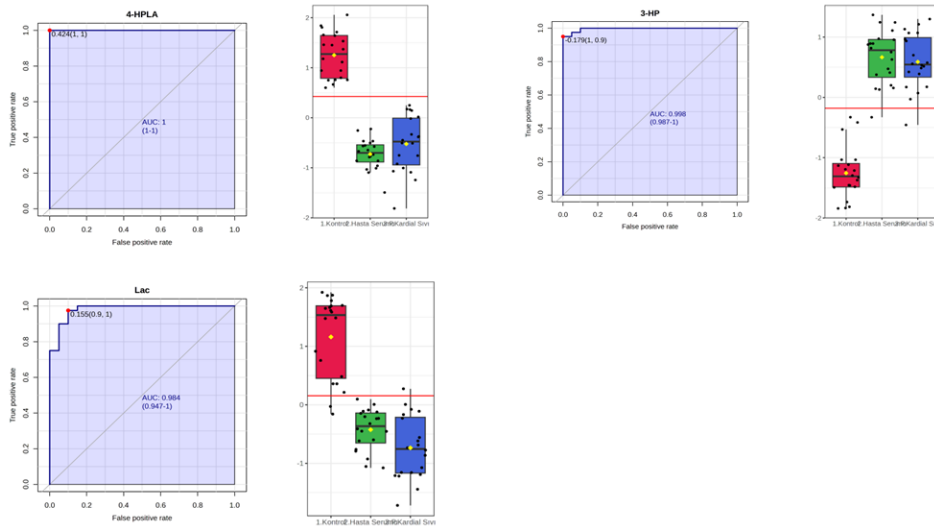
Bu korelasyon ısı haritası, çalışmada ölçülen organik asitlerin birbirleriyle olan istatistiksel ilişkilerini görsel olarak göstermektedir. Korelasyon haritasına göre;

pGlu, 4-HPLA, Lac, 2-HPAA ve Seb gibi en anlamlı değişim gösteren organik asitler arasında pozitif korelasyonların bulunması dikkat çekmektedir. Bu durum, söz konusu metabolitlerin benzer biyokimyasal yollar üzerinden birlikte düzenlenebildiğini düşündürmektedir. Örneğin, laktik asit ile 4-HPLA ve 2-HPAA arasında pozitif korelasyonların saptanması, bu bileşiklerin hücrel stres veya

mikrobiyal aktivite gibi ortak fizyolojik koşullarda birlikte artabileceğini göstermektedir.

3-HB, 3-HPLA, 4-HPAA, HGA gibi bileşiklerin de kendi aralarında kümelenmesi, özellikle tirozin ve BCAA yıkım yollarında yer alan metabolitlerin ortak değişim eğiliminde olduğunu gösterir.

Korelasyonlar aynı zamanda olası biyobelirteç panellerinin oluşturulmasında da yol gösterici olabilir. Birlikte artış veya azalış eğiliminde olan metabolitler, hastalığa özgü biyokimyasal profilin belirlenmesine katkı sağlayabilir.



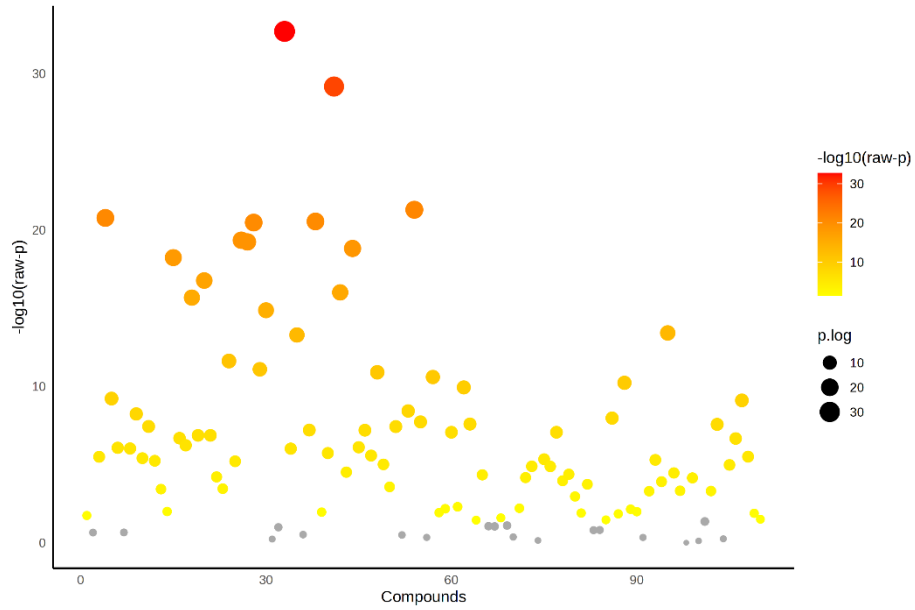
Şekil 4.25. Organik asit sonuçlarının üç farklı organik asit için ROC eğrileri

4-HPLA, 3-HP ve Lac için yapılan ROC ve boxplot analizleri, bu üç organik asidin hasta, kontrol ve PS grupları arasında güçlü ayırt edici potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. 4-HPLA (AUC: 1.0) ve 3-HP (AUC: 0.998) neredeyse mükemmel tanı doğruluğu sunarken, Lac (AUC: 0.984) de yüksek performans göstermektedir. 4-HPLA ve Lac hastalıkla birlikte azalırken, 3-HP düzeyleri artış göstermektedir. Bu bulgular, söz konusu metabolitlerin tanı ve sınıflandırma süreçlerinde etkili biyobelirteç adayları olduğunu ortaya koymaktadır.

Organik asit profili analizi sonucunda, 3-hidroksipropiyonik asit, pirolglutamik asit, 3-hidroksibütirik asit ve 4-hidroksifenillaktik asit gibi metabolitlerin hasta serumunda kontrollere göre artmış, PS’de ise serumdan daha da yüksek seviyelere ulaşmış olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, hastalık sürecinde oksidatif stresin, anaerobik metabolizmanın ve amino asit katabolizmasının arttığını göstermektedir.

Özellikle PS’de 3-hidroksipropiyonik asit ve pirolglutamik asit gibi metabolitlerin belirgin yüksekliği, kalbin lokal enerji yetersizliği, redoks dengesizliği ve glutatyon metabolizması gibi süreçlerde bozulmalar yaşandığını düşündürmektedir. Bu organik asitlerin birikimi, kalp dokusunun hipoksik ve stres altında olduğunu destekler niteliktedir.

4.4. Hasta ve sağlıklı bireylerin Total metabolit analizi

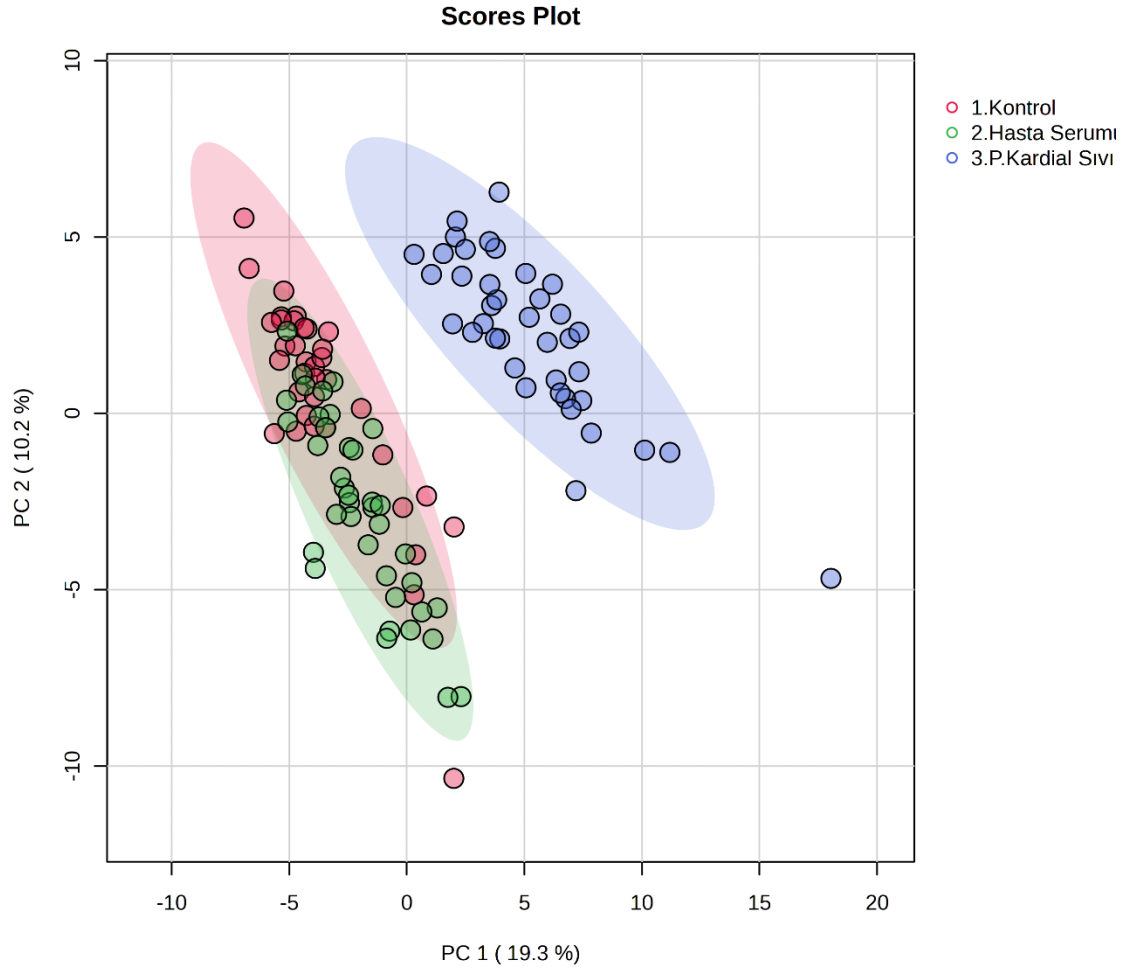


Şekil 4.26. Total metabolit sonuçlarının renk dağılım grafiği

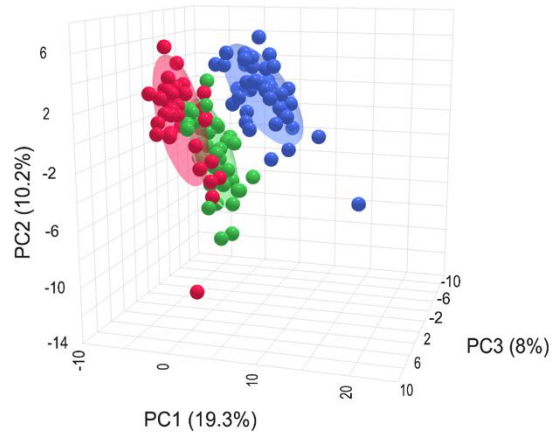
Bu çalışmada, kontrol grubu, hasta serum grubu ve PS grubu arasında amino asit, karnitin ve organik asit profilleri karşılaştırılmış; şekilsel anlamlılık analizine göre 91 parametrenin istatistiksel olarak anlamlı, 19’unun ise anlamlı olmadığı belirlenmiştir. En anlamlı 10 biyobelirteç arasında yer alan Thp, Histamin (HA), BAIBA, C5:1, Cys2, ASA, Asp, Abu, Orn ve Beta-Ala gibi moleküller, kalp hastalığı patofizyolojisi

açısından önemli bilgiler sunmaktadır. Özellikle histamin düzeyindeki anlamlı farklılık, kardiyovasküler sistemde inflamatuvar yanıtın, vazodilatasyonun ve vasküler geçirgenliğin arttığını göstermektedir. Bu bulgu, PS'nin lokal inflamasyonla doğrudan ilişkili olduğunu desteklemekte ve histaminin bu alanda potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Grafikte istatistiksel olarak en anlamlı farklılık gösteren ilk 10 biyomolekül; Trans-4-hidroksiprolin (Thp), hipurik asit (HA), beta-aminoizobütirik asit (BAIBA), C5:1 açilkarnitin, sistein dimeri (Cys2), ASA, aspartik asit (Asp), 2-aminobütirat (Abu), ornitin (Orn) ve beta-alanin (β -Ala) olarak belirlenmiştir. Bu parametrelerin ortak olarak öne çıkması, hasta grupları ile kontrol grubu arasında amino asit metabolizması, organik asit dönüşümü, karnitin/açilkarnitin dengesi ve oksidatif stresle ilişkili biyokimyasal süreçlerde belirgin değişiklikler olduğunu göstermektedir. Özellikle Thp ve Cys2 gibi protein ve redoks dengesiyle ilişkili moleküller doku yıkımı ve oksidatif yanıtı; Asp, Orn, Abu, BAIBA ve β -Ala gibi amino asit türevleri azot metabolizması, enerji üretimi ve hücrel stres yanıtlarını; C5:1 ise yağ asidi oksidasyonu ve mitokondriyal metabolik akıştaki değişimleri yansıtabilir. Bu nedenle söz konusu 10 parametre, koroner arter hastalığına bağlı sistemik ve/veya lokal metabolik bozulmanın ayırt edilmesinde önemli biyobelirteç adayları olarak değerlendirilebilir.

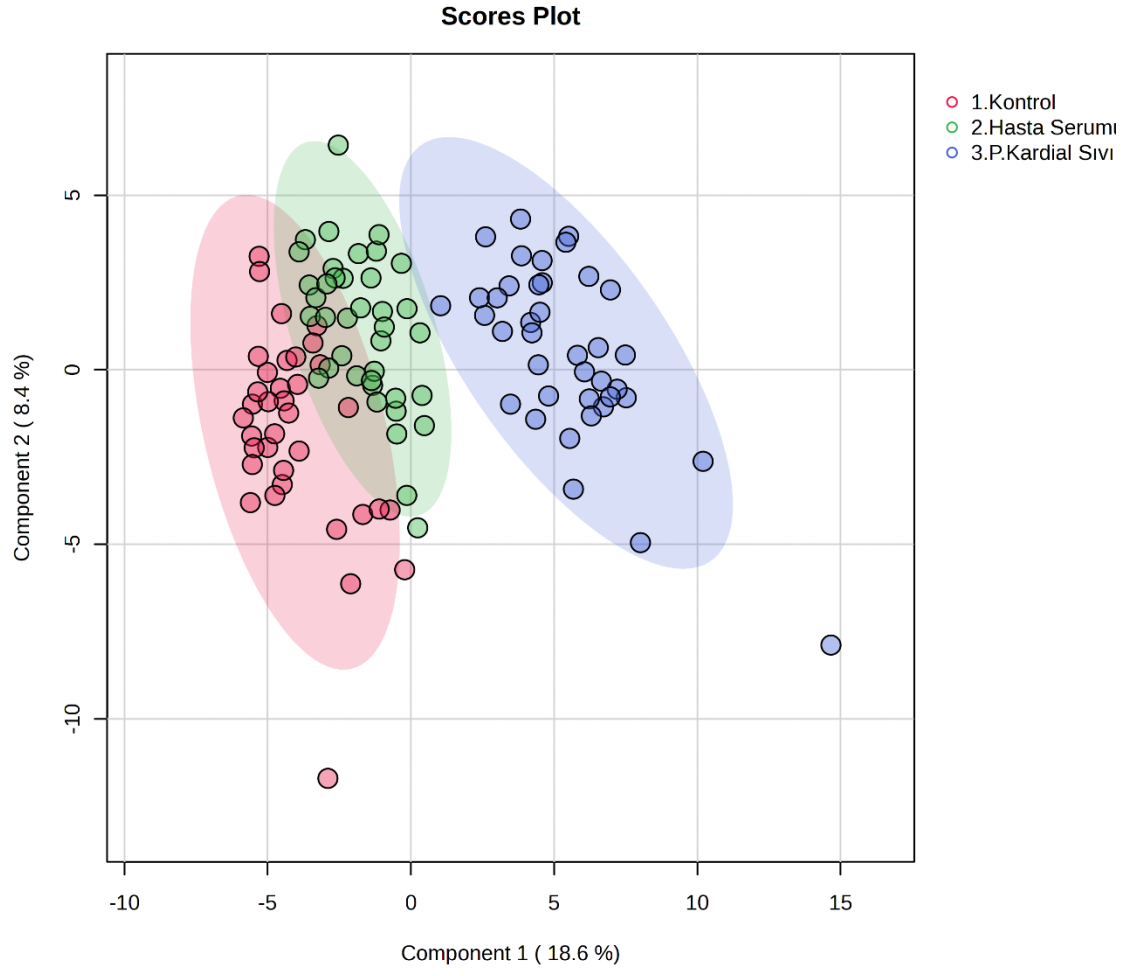


Şekil 4.27. Total metabolit sonuçlarının PCA grafiği

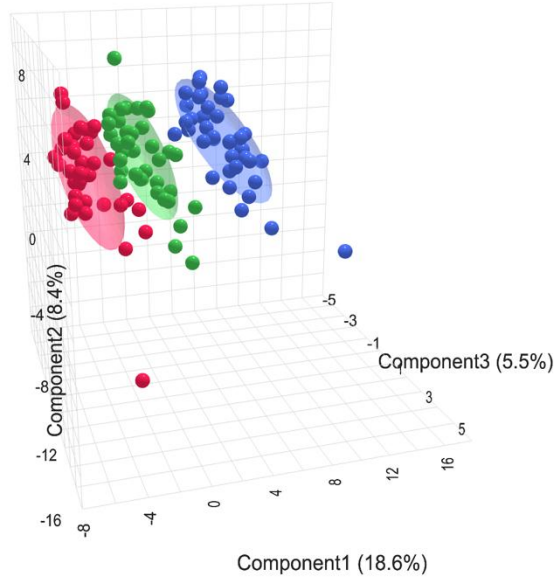


Şekil 4.28. Toplam metabolit sonuçlarına ait PCA grafiği

PCA analizleri, kontrol, hasta serumu ve PS gruplarının organik asit profilleri temelinde anlamlı biçimde ayrıştığını göstermektedir. İki boyutlu PCA grafiğinde, PS örnekleri diğer gruplardan net şekilde ayrılarak özgün bir metabolik profil ortaya koymuştur. Bu durum, PS'nin kardiyovasküler sisteme özgü lokal biyokimyasal yapıyı yansıtabileceğini düşündürmektedir. Hasta serumu ise kontrol grubuyla kısmen örtüşmekle birlikte belirgin bir eksensel ayrışma göstermekte ve hastalık sürecine bağlı metabolik değişimleri yansıtmaktadır. Üç boyutlu PCA analizinde bu ayrım daha da belirginleşmiş; PC1, PC2 ve PC3 bileşenleri üzerinden değerlendirildiğinde grupların mekânsal olarak net biçimde kümелendiği görülmüştür. Özellikle PS'nin bu düzlemde ayrı konumlanması, tanı ve biyobelirteç keşfi açısından önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Bu bulgular, PS'nin kardiyometabolik hastalıklarda tanısallık potansiyel taşıyan değerli bir biyolojik örnek olabileceğini göstermektedir. (Şekil 4.27-4.28).

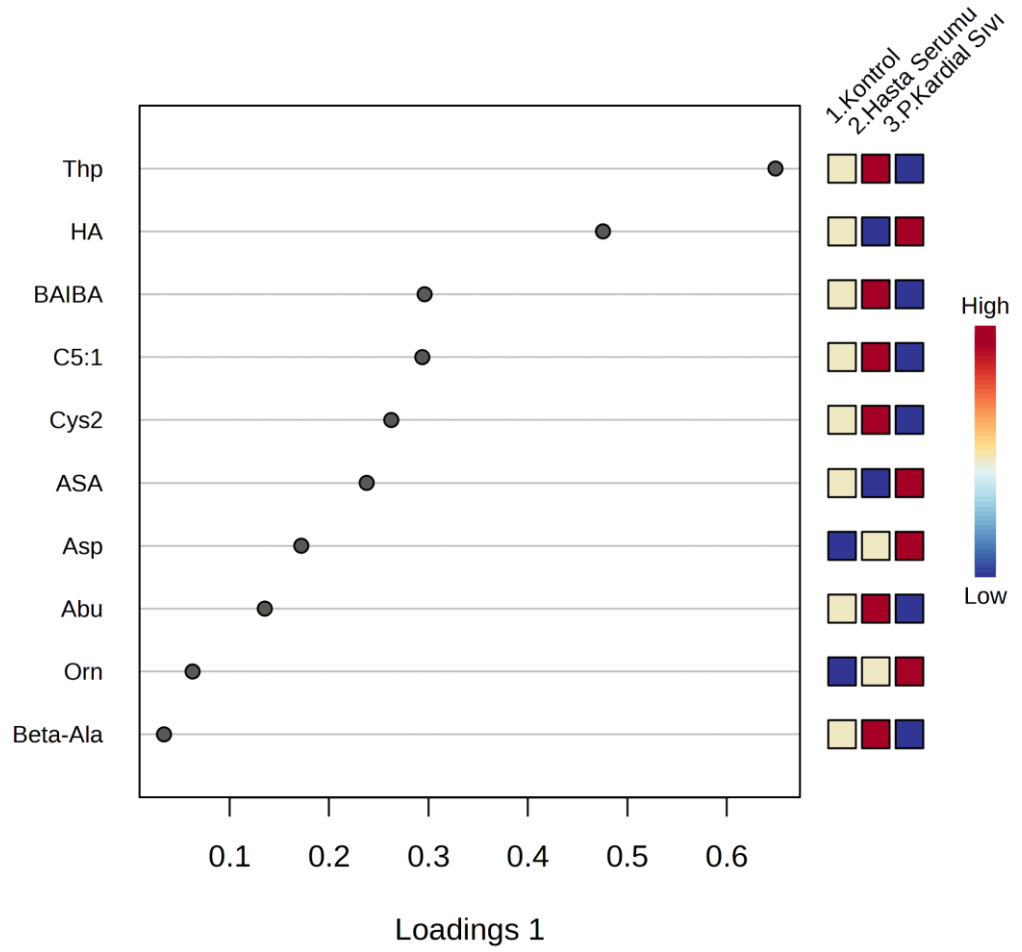


Şekil 4.29. Total metabolit sonuçlarının PLS analizi grafiği



Şekil 4.30. Total metabolit sonuçlarının PLS analizi grafiği

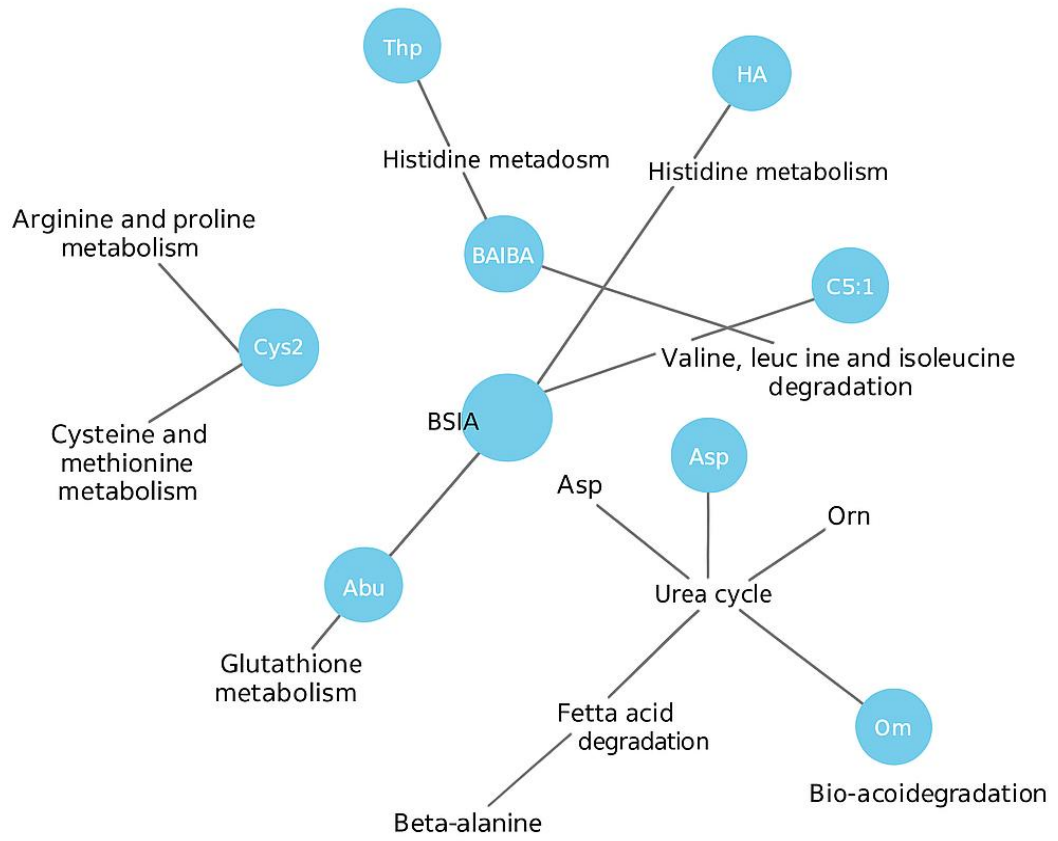
İki ve üç boyutlu PLS analizleri, kontrol, hasta serumu ve PS gruplarının biyokimyasal profilleri arasında belirgin ayrışmalar olduğunu göstermektedir. PS grubu (mavi), her iki grafikte de diğer gruplardan net biçimde ayrılarak özgün bir metabolik yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Hasta serumu (yeşil) ile kontrol grubu (kırmızı) kısmen örtüşmekle birlikte, anlamlı eksenel ayrışmalar göstermekte ve hastalığa bağlı sistemik değişimleri yansıtmaktadır. Toplamda %27–32,5 varyans açıklayan bileşenlerle elde edilen bu sonuçlar, PLS modelinin gruplar arasında güçlü bir ayırt edicilik sağladığını ve özellikle PS'nin potansiyel tanı ve prognostik biyobelirteç keşfi için değerli bir biyolojik örnek olduğunu göstermektedir (4.29-4.30).



Şekil 4.31. Total metabolit sonuçlarının VIP skor grafiği

VIP skoru analizi, çalışmada kullanılan metabolitlerden özellikle Thp, HA ve BAIBA'nın grup ayrımında yüksek önem taşıdığını göstermektedir. Bu bulgular, bu bileşiklerin kardiyovasküler hastalıkların tanı, izlem veya mekanistik değerlendirmelerinde biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda PS'nin, lokal metabolik değişimleri en iyi yansıtan biyolojik örnek olarak öne çıktığı görülmektedir.

VIP skoru analizi, çalışmada kullanılan metabolitlerden özellikle Thp, HA ve BAIBA'nın grup ayrımında yüksek ayırt edici öneme sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, söz konusu bileşiklerin KVVH'nin tanısı, izlenmesi ve hastalık mekanizmalarının aydınlatılması açısından olası biyobelirteç adayları olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

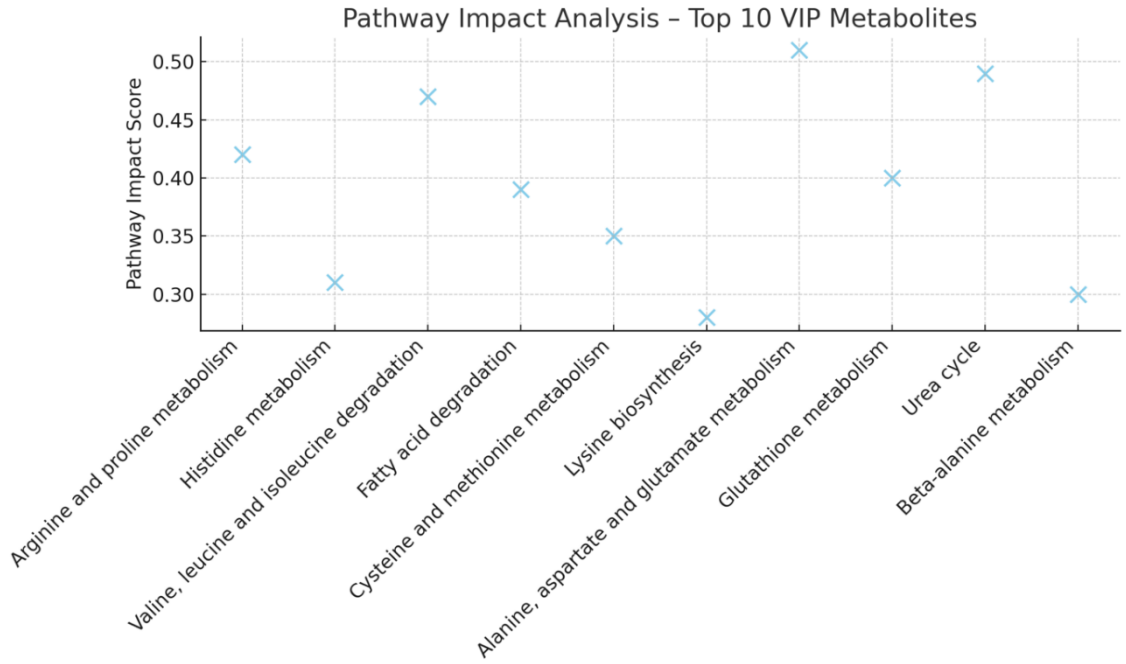


Şekil 4.32. Total metabolit sonuçlarının yer aldığı KEGG metabolik yolları

Bu analizde incelenen metabolitler, kalp hastalıklarının metabolik temellerini anlamaya yönelik önemli biyokimyasal yollarla ilişkilidir.

- Thp ve HA, sırasıyla prolin ve histidin metabolizmasıyla ilişkili olup kollajen döngüsü, inflamatuvar yanıtlar, kardiyak yeniden yapılanma ve lokal inflamasyon süreçleri hakkında bilgi sağlayabilir.
- BAIBA ve C5:1, BCAA yıkımı ve yağ asidi β -oksidasyonu üzerinden enerji metabolizmasındaki değişikliklere işaret edebilir.
- Cys2, Abu ve Orn, glutatyon metabolizması ve üre döngüsüyle ilişkili olarak oksidatif stres ve azot metabolizmasındaki değişimleri yansıtabilir.
- ASA, Asp ve β -Ala gibi amino asitler ise protein/amonyak metabolizması ve asit-baz tamponlama kapasitesi açısından kalp dokusunda gelişen stres ve metabolik bozulmaların göstergesi olabilir.

Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, söz konusu bileşiklerin enerji üretimi, oksidatif stres, inflamasyon ve azot metabolizması gibi kardiyometabolik süreçlerdeki bozulmaları yansıtabileceği ve olası biyobelirteç adayları olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

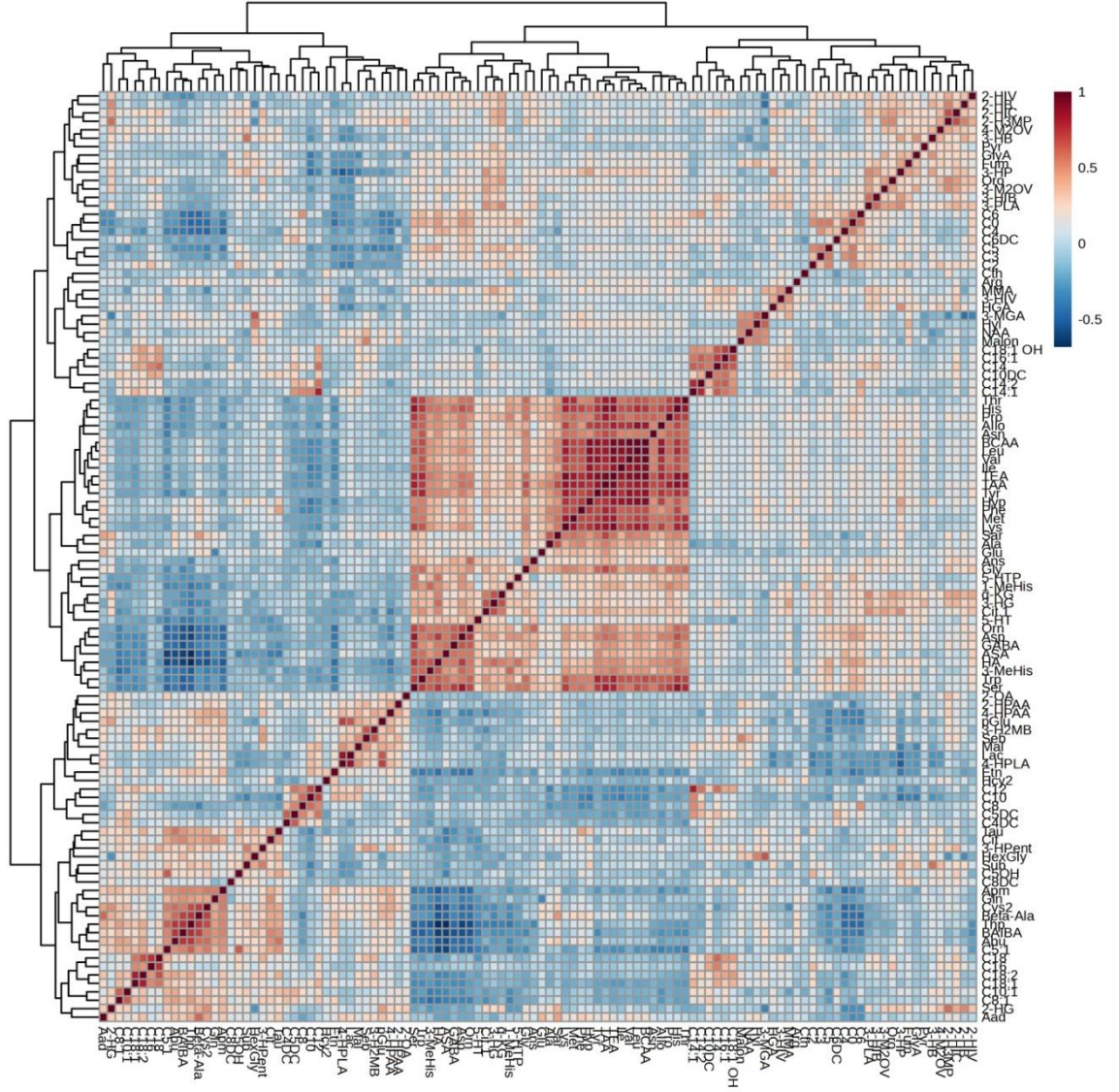


Şekil 4.33. Total metabolit sonuçlarının Pathway Impact Analysis grafiği

Yukarıdaki yolak etki analizi grafiği, VIP skorları yüksek olan 10 metabolitin ilişkili olduğu biyokimyasal yolakların model üzerindeki etki düzeyini göstermektedir.

Öne çıkan metabolik yolaklar:

- **Aspartat metabolizması:** En yüksek etki puanına sahip yolak olarak öne çıkmaktadır (0,51). Bu yolak, enerji metabolizması ve azot dengesi açısından önem taşımaktadır.
- **Üre döngüsü:** İkinci en yüksek etki puanına sahiptir (0,49). Bu durum, kalp hastalığı sürecinde azot metabolizması ve amonyak detoksifikasyonu ile ilişkili süreçlerin etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.
- **Valin, lösin ve izolösin yıkımı:** BCAA metabolizmasıyla ilişkili bu yolak, mitokondriyal enerji metabolizması açısından önemli bir rol oynayabilir (etki puanı: 0,47).
- **Yağ asidi yıkımı:** Enerji üretimiyle ilişkili bu yolak, hastalık sürecinde yağ asidi metabolizmasının etkilenmiş olabileceğine işaret etmektedir (etki puanı: 0,47).
- **Glutatyon metabolizması:** Oksidatif stres yanıtıyla ilişkili bir yolak olup, çalışmada gözlenen metabolik değişimlerin oksidatif stres süreçleriyle bağlantılı olabileceğini göstermektedir (etki puanı: 0,40).



Şekil 4.34. Total metabolit sonuçlarının korelasyon grafiği

Metabolitler arasında hesaplanan **korelasyon katsayılarını** gösteren bir ısı haritasıdır. Renkler, değişken çiftleri arasındaki ilişkiyi temsil eder:

- **Koyu kırmızı tonlar:** Güçlü pozitif korelasyon ($r \rightarrow +1$),
- **Koyu mavi tonlar:** Güçlü negatif korelasyon ($r \rightarrow -1$),
- **Beyaza yakın tonlar:** Zayıf veya anlamsız korelasyon ($r \approx 0$).
- **Gruplaşmalar (klasörleşme):** Haritada görülen belirgin kümelenmeler, bazı metabolitlerin birlikte değişim gösterdiğini ve benzer biyokimyasal yollarda

yer alabileceğini düşündürmektedir. Bu kümeler; amino asit metabolizması, karnitin türevleri veya organik asitler gibi alt metabolit gruplarına işaret edebilir.

- Pozitif korelasyonlar: Kırmızı tonların yoğun olduğu bölgeler, bazı metabolitlerin birlikte artış veya azalış gösterdiğini düşündürmektedir. Özellikle bazı amino asitler ve kısa zincirli açilkarnitinler arasındaki yüksek korelasyonlar, bu metabolitlerin benzer metabolik süreçlerden etkilenmiş olabileceğine işaret etmektedir.
- Negatif korelasyonlar: Mavi tonların yoğun olduğu bölgeler ise belirli metabolitlerin birbirine ters yönde değişim gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, hastalık süreci veya doku yanıtı sırasında zıt yönde işleyen biyokimyasal süreçleri yansıtabilir.

Korelasyon haritası, çalışmada yer alan metabolitler arasındaki işlevsel ilişkileri ve ortak metabolik yolları ortaya koymaktadır. Özellikle birlikte pozitif korelasyon gösteren kümeler, olası biyobelirteç panellerinin geliştirilmesi veya metabolik yolak analizlerinin yapılması için güçlü bir temel sunmaktadır. Negatif korelasyonlar ise hastalık etkisiyle baskılanan veya ters yönde etkilenen süreçlere işaret edebilir. Genel olarak bu harita, sistem düzeyinde metabolik ağ bağlantılarının anlaşılması açısından önemli bilgiler sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında, kalp hastalığı bulunan bireylerin PS ve serum örnekleri ile sağlıklı bireylerin serum örnekleri karşılaştırılarak amino asit, karnitin ve organik asit profilleri detaylı bir şekilde analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, her üç grup arasında anlamlı metabolik farklılıklar olduğunu ortaya koymuş ve hastalık sürecinin biyokimyasal izlerini net bir biçimde göstermiştir.

Kontrol grubunun serumunda, amino asit, karnitin ve organik asit düzeyleri genel olarak dengeli bir dağılım göstermiştir. Bu grup, temel metabolik süreçlerin sağlıklı işleyişini yansıtan referans bir profil sunmuştur. Amino asit düzeyleri stabil iken, karnitin ve açilkarnitin düzeylerinde patolojik birikimler gözlenmemiştir. Organik asit profili ise enerji metabolizmasının düzenli işlediğini ve oksidatif stresin minimal düzeyde olduğunu göstermiştir.

Hasta grubunun serumunda, bazı amino asitler (fenilalanin, 1-metilhistidin, hidroksiprolin gibi) sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde artış göstermiştir. Bu durum, kardiyak hastalık sürecinde protein katabolizması, amino asit metabolizması ve inflamasyon süreçlerinde değişimler yaşandığını göstermektedir. Karnitin profili açısından bakıldığında, asetil karnitin ve bazı kısa/orta zincirli açilkarnitinlerin düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Bu artışlar, hastalarda yağ asidi oksidasyonunda ve mitokondriyal enerji üretiminde düzensizliklere işaret etmektedir. Organik asit analizinde ise laktik asit, 4-hidroksifenillaktik asit ve 3-hidroksibütirik asit gibi metabolitlerin hasta serumunda değişim gösterdiği bulunmuş, bu da oksidatif stresin ve anaerobik metabolizmanın arttığını düşündürmüştür.

Hasta grubunun PS örneklerinde ise değişimler çok daha belirgindir. Amino asit düzeylerinde ornitin, triptofan, serin, aspartik asit gibi birçok bileşenin serum ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Bu bulgu, PS'nin, kalbin lokal metabolik ortamına özgü birikim ve değişimleri yansıttığını göstermektedir. Karnitin analizinde serbest karnitin ve özellikle orta zincirli açilkarnitinler (C6, C8 gibi) belirgin artış göstermiştir. Organik asit profili ise 3-hidroksipropiyonik asit, pirolglutamik asit, homogentisik asit gibi metabolitlerin yüksek seviyelere ulaşmasıyla dikkat çekmiştir. Bu değişimler, PS'nin, kalbin lokal metabolik stresi ve enerji dengesizliğini doğrudan yansıtan zengin bir biyokimyasal içerik taşıdığını ortaya koymuştur.

Yapılan tüm analizler sonucunda, PS'nin hem sağlıklı kontrollere hem de hasta serumlarına kıyasla ayırt edici bir metabolik profile sahip olduğu belirlenmiştir. PS'de biriken metabolitler, kalp hastalığı sürecinde meydana gelen yerel doku hasarını, inflamasyonu ve metabolik stres durumunu erken dönemde yansıtmaya potansiyeline sahiptir.

Bu çalışmanın önemi birkaç açıdan öne çıkmaktadır:

- İlk olarak, PS'nin, sadece pasif bir filtrat olmadığı; aksine kalp hastalıklarında aktif bir biyokimyasal bilgi kaynağı sunduğu gösterilmiştir.
- İkinci önemli sonuc olarak, hem serum hem de PS'de belirlenen özgün metabolit değişimleri, kalp hastalıklarının tanı, takip ve prognozunda kullanılabilecek yeni biyobelirteç adaylarını işaret etmektedir.
- Üçüncü olarak, amino asit, karnitin ve organik asit profillerinin birlikte değerlendirilmesi sayesinde, kalbin enerji metabolizması, oksidatif stres düzeyi ve inflamatuvar yanıtı hakkında kapsamlı bir biyokimyasal tablo oluşturulabilmiştir.
- Son olarak, bu çalışma, kardiyovasküler hastalıkların erken tanısında çok boyutlu metabolomik analizlerin uygulanabilirliğini desteklemekte ve gelecekte geliştirilebilecek tanısal stratejiler için bilimsel temel sağlamaktadır.

Bu tez çalışması, genel olarak değerlendirildiğinde, hasta serumunda hastalıkla ilişkili belirgin değişimlerin varlığını, PS'de ise hastalık sürecine özgü çok daha güçlü ve özgün metabolik değişimlerin meydana geldiğini göstermiştir. Elde edilen bulguların, ileri klinik araştırmalarda biyobelirteç geliştirme, hastalık mekanizmalarının anlaşılması ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının oluşturulması gibi alanlara önemli katkılar sağlaması beklenmektedir.

Bu tez çalışmasında, kalp hastalığı olan bireylerden elde edilen PS ve serum örnekleri ile sağlıklı bireylerin serum örnekleri karşılaştırılarak amino asit, karnitin ve organik asit profilleri ayrıntılı olarak analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, her üç grup arasında anlamlı metabolik farklılıklar bulunduğunu ortaya koymuş ve hastalık sürecine ilişkin biyokimyasal değişimleri göstermiştir.

Tablo 4.4. Öne çıkan metabolitler

Metabolit Kategorisi	Öne Çıkan Metabolitler	Kontrol Serum	Hasta Serum	Hasta Perikardiyal Sıvı (PS)	Yorum
Amino Asitler	Arginin (Arg)	Düşük	Benzer	↑↑ (Kontrol ve Hasta Serumundan yüksek)	PS'de belirgin artış, lokal metabolik stresi yansıtır.
	Glutamin (Gln)	Yüksek	↓	↓↓ (Belirgin düşük)	Hasta serum ve PS'de azalma, enerji metabolizmasında bozulma.
	Fenilalanin (Phe)	Düşük	↑	Benzer	Hasta serumunda artış, sistemik inflamasyon veya protein katabolizması.
	Hidroksiprolin (Hyp)	Düşük	↑	↑	Kollajen yıkımının göstergesi, doku yeniden şekillenmesi.
Organik Asitler	Laktik Asit (Lac)	Düşük	↑	↑	Anaerobik glikoliz artışı, iskemi veya hipoksi.
	3-Hidroksipropiyonik Asit (3-HP)	Düşük	↑↑	↑↑	Mitokondriyal disfonksiyon veya mikrobiyota kaynaklı değişim.
	4-Hidroksifenillaktik Asit (4-HPLA)	Düşük	↑	↑↑ (Serumdan daha yüksek)	Bağırsak mikrobiyota aktivitesi veya tirozin metabolizmasında bozulma.
	Homogentisik Asit (HGA)	Çok düşük	↑	↑	Oksidatif stres ve fenilalanin/tirozin metabolizmasında aksama.
Karnitinler	Serbest Karnitin (C0)	Normal	Benzer	↑	PS'de artış, karnitin taşınımında değişim.
	Asetil Karnitin (C2)	Normal	↑	Benzer	Hasta serumunda artış, yağ asidi oksidasyonunda değişim.
	Uzun Zincirli Açıkarnitinler (C16, C18)	Düşük	↑	↑↑ (Serumdan belirgin yüksek)	PS'de birikim, lipotoksiste ve mitokondriyal disfonksiyon.
	Tiglikarnitin (C5:1)	Düşük	↑	↑↑	

TARTIŞMA

KVH da metabolomik profillemeye, hastanın metabolik durumunu yansıtan zengin veriler sunarak tanı ve risk değerlendirmesini geliştirme potansiyeline sahiptir (Müller vd., 2021). Geleneksel biyobelirteçler (ör. troponin, BNP) kalp hasarı hakkında sınırlı bilgi sağlarken, metabolomik analiz yüzlerce metaboliti aynı anda ölçerek “metabolik parmak izi” oluşturur ve karmaşık patofizyolojik değişimleri ortaya koyar (Müller vd., 2021; McGarrah vd., 2018). Son yıllarda LC-MS/MS tabanlı metabolomik teknolojiler, kan, idrar, doku ve PS gibi örneklerde düşük konsantrasyonlu metabolitleri dahi saptayabilmekte ve kardiyovasküler hastalıklarda yeni biyobelirteç adayları belirlenmektedir (Gao vd., 2022; Omori vd., 2019). Nitekim metabolomik verilerin klinik modele eklenmesi, 10 yıllık koroner olay riskinin öngörüsünü anlamlı şekilde iyileştirebilmektedir. Böylece erken dönemde sessiz seyreden metabolik anormallikler yakalanarak tanı konabilir ve kişiye özgü tedavi stratejileri geliştirilebilir (Müller vd., 2021).

PS, yalnızca plazmanın bir ultrafiltratı olmaktan öte, kalp ve perikard hücrelerinin aktif olarak salgıladığı molekülleri de içeren bir biyolojik ortamdır (Harju vd., 2022; Elie vd., 2018). Bu özellik, PS’yi kardiyak dokunun anlık metabolik aktivitelerine dair özgün ve doğrudan bilgiler sunabilen bir sıvı haline getirmektedir. PS, kalbin çevresinde bulunan yarı kapalı bir boşlukta yer alır ve kalp kasından interstisyel boşluğa salınan metabolitlerin biriktiği özel bir mikro ortam işlevi görür (Trindade vd., 2019). Serum örneklerinde ölçülen metabolitler ise, ancak bu metabolitlerin sistemik dolaşıma geçmesinden sonra değerlendirilebilir; dolayısıyla PS, kalbin anlık metabolik çıktısını doğrudan ve daha hızlı şekilde yansıtır.

Perikardiyal boşlukta biriken moleküller, özellikle uzun zincirli ve lipofilik yapıda olanlar, serumdan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunabilir. Bunun nedeni, perikardiyal membranların moleküler difüzyona kısmen direnç göstermesi ve lipofilik moleküllerin çevre dokulara tutunma eğiliminin artmasıdır (Trindade vd., 2019; El-

Diasty vd., 2023). Bu fiziksel özellikler nedeniyle, PS'deki belirli moleküllerin klirensi gecikebilir ve sistemik dolaşıma geçişleri sınırlı kalabilir.

Nitekim literatürde, PS'de ölçülen bazı metabolitlerin (örneğin NT-proBNP gibi peptid biyobelirteçler ve açilkarnitinler) serum düzeylerinden anlamlı şekilde yüksek olduğu gösterilmiştir (Yang vd., 2023). Bu durum, PS'nin kalbin lokal metabolik stresine karşı daha hassas bir biyobelirteç matriksi olabileceğini ortaya koymaktadır (Campbell vd., 2024).

Ayrıca, PS'nin içeriği yalnızca metabolitlerin pasif birikimi ile sınırlı değildir. PS, sitokinler, oksidanlar ve çeşitli biyolojik aktif moleküller içererek miyokard yüzeyine diffüze olabilir ve burada parakrin veya otokrin etkiler oluşturabilir (Hassanabad vd., 2024). Bu moleküllerin, miyokardiyal kontraktiletiyi, elektrofizyolojiyi ve inflamatuvar yanıtı doğrudan etkileyebileceği düşünülmektedir.

Özellikle bazı metabolitlerin, önce PS'ye salınıp daha sonra sistemik dolaşıma geçtiği göz önünde bulundurulduğunda, PS'deki biyokimyasal değişimler, kardiyak stresin veya hasarın erken evresini yakalamada kritik rol oynayabilir (Harju vd., 2022).

Bu özellikleriyle PS, yalnızca serum biyobelirteçlerine kıyasla daha erken ve lokalize tanısal sinyaller sunmakla kalmayıp, aynı zamanda kalp hastalıklarının mekanistik süreçlerinin anlaşılmasında da eşsiz bir pencere açmaktadır. Özellikle koroner bypass cerrahisi gibi işlemler sırasında invaziv yolla erişilebilmesi, PS'yi ileriye dönük olarak yüksek biyobelirteç potansiyeline sahip bir sıvı haline getirmektedir.

PS, kalp çevresindeki ultrafiltrat olmaktan öte kalp ve perikardın salgıladığı molekülleri içerdiği için lokal metabolik değişimleri yansıtır (Yang vd., 2023). Bypass operasyonu esnasında alınan eşzamanlı serum ve PS örneklerinin incelenmesi, kalbin *lokal* metabolik stresine dair benzersiz bakış açısı ortaya koyar (Yang vd., 2023). Çalışmamızda PS'de ölçülen birçok metabolitin serumla paralel değişmekle birlikte bazı metabolitlerin PS'de daha belirgin yükseldiği görülmüştür. Örneğin, uzun zincirli açilkarnitinlerin (oleil-karnitin gibi) PS'de serumdan farklı dağılım sergilemesi, bu metabolitlerin kalpte üretilip perikardiyal boşlukta tutulduğunu düşündürmektedir PS membranlarının bariyer fonksiyonu nedeniyle küçük ve suda

çözünen moleküller kana hızla geçebilirken, daha büyük veya lipofilik moleküller PS’de yoğunlaşabilir; bu da serum düzeylerinin görece düşük, PS düzeylerinin yüksek olmasına yol açar (El-Diasty vd., 2023). Nitekim çalışmamızda serbest karnitin ve kısa zincirli türevler serumda benzer veya düşük bulunurken, uzun zincirli açilkarnitinler PS’de anlamlı birikim göstermiştir. Bu durum, kalp dokusunda biriken metabolitlerin öncelikle PS’ye sızdığını ve dolaşıma sınırlı geçtiğini destekler (Elie vd., 2018; Trindade vd., 2019; El-Diasty vd., 2023). Bu bağlamda serum ve PS metabolit profillerinin birlikte değerlendirilmesi, kalp hastalığının sistemik etkileri ile lokal kardiyak metabolizma değişimlerini ayırt etmemizi sağlar. Literatürde de PS’nin, açık kalp cerrahisi sonrası komplikasyon riskini öngörmede çeşitli biyobelirteçler barındırdığı rapor edilmiştir (Yang vd., 2023). Çalışmamızda elde edilen bulgularımız, PS’deki belirgin metabolit değişimlerinin kalbin lokal stresini yansıttığını ve bu örneklemen gelecekte invaziv tanısal amaçlarla kullanılabileceğini göstermektedir.

Organik asit profili, kalbin enerji metabolizmasındaki kaymaları ve doku perfüzyon durumunu yansıtan önemli ipuçları sunar (Hassanabad vd., 2024; Trimigno vd., 2024). Çalışmamızda hem serum hem de PS’de laktat düzeyleri sağlıklı kontrollere göre belirgin yüksek bulunmuştur. Laktat, miyokard iskemisi ve hipoperfüzyonda artan anaerobik glikolizin klasik göstergesidir; klinikte doku perfüzyonunun prognostik bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Ouyang vd., 2023). Hasta grubumuzda laktat birikimi, iskemiyile ilişkili olup kalp kasının enerji üretiminde oksijen yetersizliğine uyum sağlamak amacıyla glikolitik yola yöneldiğini göstermektedir (Ouyang vd., 2023; Marcinek vd., 2010). Bu beklenen artış, akut koroner sendromlu hastalarda gözlenen laktat yükselişiyle paraleldir ve yalnızca tanısal bir belirteç değil, aynı zamanda yeniden şekillenme süreçlerine etki eden bir sinyal molekülü olarak da önemlidir (Ouyang vd., 2023). Benzer şekilde, süksinat TCA döngüsünün bir ara ürünü olup akut miyokard infarktüsü reperfüzyonunda hızla yükseldiği ve iskemik hasarın erken bir biyobelirteci olduğu bilinmektedir (Consegal vd., 2023). Çalışmamızda süksinat düzeylerinde de artış eğilimi gözlenmiştir. Malat gibi diğer TCA döngüsü ara ürünlerinde de değişimler saptanmıştır; özellikle malat seviyelerindeki yükselme, kalp hastalarında TCA döngüsü akışının azaldığına ve anaplerotik/kataplerotik süreçlerin etkilendiğine işaret edebilir. Nitekim KY modellerinde TCA döngüsü metabolitlerinin biriktiği gösterilmiştir (Bulló vd., 2021). Bu bulgular, kalbin enerji metabolizmasında yeniden programlanma olduğunu göstermektedir.

Öne çıkan bulgulardan biri, hastaların metabolit profilinde aromatik amino asit türevi organik asitlerin yüksekliğidir. Özellikle 4-hidroksifenillaktik asit (4-HPLA) ve 4-hidroksifenilasetik asit (4-HPAA) düzeyleri hasta grubunda, özellikle PS’de, belirgin artış göstermiştir. Bu metabolitler fenilalanin/tirozin metabolizmasının mikrobiyota veya konak kaynaklı ürünleridir. Kritik durumdaki hastalarda bağırsak mikrobiyotasının fenilalanin katabolizmasını sürdürememesi sonucunda bu aromatik asitlerin kanda biriktiği önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Dodd vd., 2017). Nitekim septik hastalarda fenilalanin türevlerinin belirgin şekilde yükseldiği ve bunun disbiyozise işaret edebileceği öne sürülmüştür. (Beloborodova vd., 2018). Bypass hastalarımızda 4-HPLA ve 4-HPAA’nın yüksek olması, koroner arter hastalarında da gut-kalp ekseninde bir bozulma olduğunu düşündürmektedir. Özellikle PS örneklerinde bu asitlerin daha da yüksek saptanması, bağırsak kaynaklı toksik metabolitlerin kalp çevresinde yoğunlaşabileceğini gösterir. Yakın zamanda geniş aort cerrahisi geçiren hastalarda yapılan bir pilot çalışmada, benzer aromatik asitlerin erken dönemde gelişen sepsis komplikasyonunu öngördüğü belirtilmiştir (Beloborodova vd., 2023). Dolayısıyla, bizim bulgularımız literatürdeki bu verilerle uyumlu olup kardiyak cerrahi hastalarında mikrobiyota metabolitlerinin komplikasyon riskine katkı yapabileceğini göstermektedir.

Bir diğer dikkat çekici bulgu olarak, tirozin metabolizması ürünü olan homogentisik asit (HGA), sağlıklı bireylerde ihmal edilebilir düzeydeyken hasta grubumuzda ölçülebilir düzeyde saptanmıştır. HGA’nın, alkaptonürde kronik olarak birikerek dokularda oksidatif stres ve enflamasyona yol açabildiği bilinmektedir (Braconi vd., 2015). Literatürde koroner hastalarda HGA artışı daha önce yaygın olarak bildirilmemiş olup, bu durum bulgumuzun dikkat çekici yönlerinden biridir. Kalp hastalarında fenilalanin/tirozin metabolik yolunun stres altında etkilenmesi olası bir açıklama olabilir; ağır ateroskleroz veya diyabette fenilalanin düzeylerinin arttığı bildirilmektedir (Chen vd., 2020). Bu durumda HGA’nın ara metabolit olarak birikmesi beklenebilir. Ayrıca bağırsak bakterileri de fenilalanin/tirozin metabolizması sonucunda HGA benzeri bileşikler ortama salabilir. Bu nedenle HGA artışı, hastalarımızda oksidatif metabolizma ve amino asit katabolizmasındaki düzensizliklerin bir yansıması

olabilir. HGA'nın kardiyovasküler hastalıklarda olası bir oksidatif stres belirteci olup olmadığı ileri çalışmalarla araştırılmalıdır.

Çalışmamızda ayrıca 2-HPAA düzeyleri de hastalarda sağlıklılara kıyasla yüksek saptanmıştır. o-Hidroksifenilasetat, fenilketonüride klasik olarak yükselen bir metabolit olmakla birlikte bağırsak mikrobiyota aktivitesini de yansıtabilir. 2-HPAA'nın artışı da diğer aromatik asitlerle birlikte değerlendirilerek, KAH da bağırsak kaynaklı metabolit birikiminin bir başka göstergesi olarak yorumlanmaktadır. Bu bulgular, koroner hastalığı olan bireylerde bağırsak mikrobiyotasının dengesinin bozulabileceği ve bunun dolaşan metabolit profiline yansıdığı hipotezini destekler niteliktedir.

Bir diğer önemli bulgu olarak, BCAA katabolizması ürünü 3-hidroksiizobütirik asit (3-HIB) de hasta grubunda anlamlı yüksek bulunan organik asitlerdendir. 3-HIB, valin yıkımı yolunda oluşur ve iskelet kasında yağ asidi alımını artırarak insülin direncine katkı yapabileceği gösterilmiştir (Newgard vd., 2009). Obezite ve T2D'de serum 3-HIB yüksekliği, insülin direncinin güçlü bir biyokimyasal göstergesi olarak bildirilmiştir (Newgard vd., 2009). İlginç şekilde tip 1 diyabetli bireylerde yapılan prospektif bir çalışmada, idrarda yüksek 3-HIB düzeyinin daha düşük koroner olay riskiyle ilişkili bulunduğu ancak bu ters ilişkinin yüksek 3-HIB'in daha genç ve metabolik olarak sağlıklı profille ilişkili olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Antikainen vd., 2024). Genel kanı, 3-HIB'in BCAA metabolizması ve insülin duyarlılığıyla yakından ilişkili olduğudur. Bizim bulgularımızda 3-HIB'in bypass hastalarında artmış olması, hastaların önemli bir bölümünde diyabet veya metabolik sendrom gibi komorbid durumların bulunabileceğini ve BCAA yıkım yollarının aksadığına işaret etmektedir. Literatürde KY ve KAH'da BCAA katabolizmasıyla ilişkili metabolitlerin, özellikle 3-HIB düzeylerinin, yükseldiği ve bunun kötü prognozla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Sun vd., 2016). Dolayısıyla 3-HIB artışı, KVH'de metabolik disfonksiyonun bir parçası olup uzun vadede hedeflenebilecek bir yolak olarak değerlendirilebilir.

KAH nedeniyle bypass uygulanan hastalarımızın amino asit profili, sağlıklı bireylere göre belirgin farklılıklar göstermiştir. Bu farklılıklar hem serumda hem PS’de gözlenmiş, ancak PS amino asit düzeylerinin daha kendine özgü bir değişim paterni sergilediği anlaşılmıştır. Literatür, çeşitli amino asitlerin ateroskleroz patogenezinde farklı roller oynayabildiğini ortaya koymaktadır. Örneğin glisin gibi bazı amino asitler anti-aterojenik etki gösterirken, glutamat gibi diğerleri pro-aterojenik etki yapabilmektedir (Grajeda-Iglesias ve Aviram, 2018; Rom ve Aviram, 2017).

Çalışmamızda özellikle glisin, lösin, alanin, serin gibi anti-aterojenik bilinen amino asitlerde değişimler gözlenmiştir. Glisin düzeyleri, kontrol grubuna göre hastalarda daha düşüktü. Bu durum, glisinin endotelial fonksiyonu iyileştirip nitrik oksit üretimini artırması ve homosisteini düşürmesi nedeniyle (Sim vd., 2016) kalp hastalarında koruyucu etkinin azalabileceğine işaret eder. Glisinin makrofajlarda trigliserit birikimini ve oksidatif stresi azaltarak plak oluşumunu engellediği de bilinmektedir (Rom ve Aviram, 2017). Benzer şekilde lösin düzeyleri de hastalarda değişmiş olup literatürde lösinin makrofajlarda kolesterol birikimini azaltarak köpük hücre oluşumunu engellediği ve ek olarak diyetle verilmesinin aterosklerotik plak gelişimini yavaşlattığı gösterilmiştir (Rom ve Aviram, 2017). Bu amino asitlerin hastalarımızda düşük olması, anti-aterojenik korumanın zayıfladığı bir tabloya uymaktadır.

Alanin ve serin de aterogeneze olumlu etkileri olan amino asitlerdir. Alanin, makrofajlarda trigliserit içeriğini azaltarak anti-aterojenik etki sağlar Rom vd., 2017. Serin ise metiyonin-homosistein metabolizmasında kritik rol oynar; serin eksikliği homosistein birikimine yol açarak aterojenik riski artırabilir (Verhoef vd., 2004). Çalışmamızda serin düzeylerinin değişimi, muhtemelen homosistein metabolizmasının kalp hastalarında bozulduğunu ve dolaylı olarak endotel sağlığının etkilendiğini düşündürmektedir.

Pro-aterojenik amino asitlerden *glutamin* ve *glutamat* ise hasta grubumuzda sağlıklılara kıyasla daha yüksek bulundu. Bazı metabolomik çalışmalar, yüksek plazma glutamin ve glutamat seviyelerinin koroner arter hastalığı varlığıyla ilişkili olduğunu

bildirmiştir (Wang vd., 2021). Glutamin ve glutamat makrofajlarda trigliserit birikimini ve oksidatif stresi artırarak plak gelişimini hızlandırabilir (Rom ve Aviram, 2017; Murcy vd., 2024). Bizim sonuçlarımız bu amino asitlerin yüksekliğinin kalp hastalığıyla ilişkili metabolik stres durumunu yansıttığını göstermektedir.

Çalışmamızda öne çıkan bir diğer bulgu, hastalarda ornitin düzeylerinin belirgin şekilde yüksek saptanmasıdır. Ornitin, arginin metabolizması sonucunda oluşan bir amino asittir. Bu nedenle artmış ornitin düzeyleri, argininin nitrik oksit sentezine yöneliminde azalma olabileceğini düşündürmektedir (Martin, 2021). Yüksek ornitin düzeyleri, endotelial nitrik oksit biyoyararlanımının azalması yoluyla endotel disfonksiyonuna ve aterosklerotik süreçte katkı sağlayabilir. Nitekim çalışmamızda gözlenen ornitin artışı, arginin yolu dengesinde bozulma olabileceğini ve bu durumun aterosklerotik süreçle ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Ayrıca ornitin düzeylerindeki artış, arginaz aktivitesinin veya poliamin sentezinin artmış olabileceğini de düşündürmektedir (Caldwell vd., 2018; Li vd., 2002). Bu bulgular, literatürde bypass cerrahisi sonrası atriyal fibrilasyon gelişen hastalarda ornitin ve metionin gibi amino asitlerin yüksek bulunduğu metabolik panellerle de uyumludur (Yang vd., 2023). Homoarginin düzeyleri ise hastalarımızda düşük saptanmıştır. Düşük homoarginin düzeyleri, literatürde kardiyovasküler olaylar açısından kötü prognostik bir belirteç olarak tanımlanmıştır (Atzler vd., 2015). Homoarginin, üretimini destekleyen bir arginin türevidir olduğundan düşük olması endotel fonksiyon bozukluğunu ve artmış risk profilini işaret edebilir (Grosse vd., 2020). Bu nedenle çalışmamızdaki düşük homoarginin, hastaların kardiyovasküler riskinin yüksek olduğuyla uyumludur.

Çalışmamızda β -alanin ve özellikle β -aminoizobütirik asit (BAIBA) düzeylerinde belirgin farklılık saptanmıştır. BAIBA, egzersizle düzeyi artabilen ve egzersize bağlı metabolik yanıtlarla ilişkilendirilen bir amino asit türevidir. Bu metabolitin beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesini destekleyerek ve yağ asidi oksidasyonunu artırarak metabolik sağlık üzerinde olumlu etkiler gösterebildiği bildirilmiştir (Roberts vd., 2014). Bypass hastalarında BAIBA düzeylerinde gözlenen değişim, metabolik stres altında koruyucu yanıt mekanizmalarının devreye girmiş olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde β -alanin de enerji metabolizmasıyla

ilişkili bir amino asit olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle her iki metabolitteki artış, hastalarda gelişen kompensatuvar metabolik adaptasyonun bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Nitekim BAIBA'nın kardiyovasküler koruma ve egzersiz kapasitesiyle ilişkili olabileceği literatürde öne sürülmüştür (Roberts vd., 2014).

Ayrıca fenilalanin ve hidroksiprolin gibi metabolitlerde de değişimler gözlenmiştir. Fenilalanin, kronik inflamasyon ve endotel stres koşullarında plazmada yükselerek kardiyovasküler riskle ilişkilendirilmektedir (Chen vd., 2020). Bizim hastalarımızda fenilalanin türevi metabolitlerin (4-HPLA, 4-HPAA gibi) artışı bu bağlantıyı destekler niteliktedir. Hidroksiprolin ise kollajen yıkım ürünüdür; doku yeniden şekillenmesi ve fibrozisin göstergesi olabilir (Sánchez vd., 2024). Kalp hastalarında yükselen hidroksiprolin, miyokardiyal fibrozis ve yapısal değişikliğe işaret edebilir. Bu açıdan metabolit profilimiz, kronik inflamasyon ve fibrotik yeniden şekillenme süreçlerinin de biyokimyasal izlerini taşımaktadır.

Sonuc olarak, bypass hastalarımızda amino asit profili analizi, anti-aterojenik amino asitlerin (glisin, lösin, alanin, serin) görece düşük; pro-aterojenik ve metabolik stresle ilişkili amino asitlerin (glutamat, ornitin, fenilalanin) yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra BAIBA gibi potansiyel koruyucu moleküllerin artışı dikkat çekmektedir. Bu dengeler, hastalığın patofizyolojisindeki karmaşık metabolik etkileşimleri yansıtmaktadır.

Kalp kası, enerjisinin büyük kısmını yağ asidi β -oksidasyonundan sağlar ve bu süreçte L-karnitin uzun zincirli yağ asitlerini mitokondriye taşıyarak kritik rol oynar. Bu taşıma sırasında oluşan açilkarnitinler, yağ asidi ve amino asit metabolizmasının ara ürünleri olup metabolik dengenin göstergesidir (Gander vd., 2021). Çalışmamızda hem serumda hem PS'de karnitin ve açilkarnitin türevlerinin dağılımı incelenmiş, önemli farklılıklar saptanmıştır.

Bypass hastalarında plazma açilkarnitin düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla genel olarak yüksek olduğu görüldü. Bu bulgu, kalp hastalarında mitokondriyal yağ asidi kullanımının kısıtlandığını ve yarı okside yağ asitlerinin açilkarnitin formunda

biriktiğini düşündürmektedir (Ruiz-Canela vd., 2022). Özellikle uzun zincirli açilkarnitinlerin (C16: palmitoil, C18: stearil, C18:2: linoleil karnitin) koroner arter hastalığı ve KY'de belirgin düzeyde yükseldiği ve etkilenen damar sayısı arttıkça bu düzeylerin daha da arttığı bildirilmiştir. (Gander vd., 2021; Ruiz-Canela vd., 2022). Bizim verilerimiz de uzun zincirli türlerin hasta grubunda anlamlı yüksek olduğunu teyit etmektedir. Örneğin serum palmitoil-karnitin (C16) düzeyleri bypass hastalarında kontrollere göre artmış; PS'de ise bu molekülün daha da yüksek konsantrasyonda olduğu gözlenmiştir. Bu durum, kalp kasında yağ asidi oksidasyonunun yetersizliği ve lipotoksisite gelişimini destekler niteliktedir (Tajima vd., 2017).

Bu bulgulara paralel olarak, kısa ve orta zincirli açilkarnitinler de (C3: propionil, C4: butiril/izobutiril, C5: tiglil, C6: hekzanoyl vb.) hasta serum ve PS örneklerinde değişim göstermiştir. Özellikle C5:1 düzeyinin hastalarda anlamlı farklılık sergilediği ve PS'de belirgin düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Tigmik asidin (tiglikarnitin), izolösin yıkımının tam gerçekleştirilemediği ve metabolitin birikerek karnitin türevi şeklinde atıldığı düşünülmektedir. Bu metabolitin kardiyovasküler risk ile ilişkisi henüz netleşmemiş olsa da çalışmamız izolösin metabolizmasında bir aksama olabileceğine işaret etmektedir. Orta zincirli açilkarnitinlerden C6 de bypass hastalarında yükselmiş; önceki araştırmalarda C6 gibi açilkarnitinlerin koroner arter hastalarında sağlıklılara oranla yüksek olduğu ve hastalığın tanısında kullanılabileceği öne sürülmüştür (Kukhareenko vd., 2020). Bu bağlamda, açilkarnitin profilindeki değişimler kalp hastalığına eşlik eden metabolik bozuklukların değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir.

C0 düzeyleri çalışmamızda hastaların serumunda hafifçe düşük veya normal sınırlarda iken PS'de nispeten daha yüksekti. Bazı hastalarımızda serum serbest karnitin eksikliği dikkati çekti. L-karnitin eksikliğinin KY'de enerji açığını artırarak hastalığı kötüleştiribildiği bilinmektedir; takviye halinde angina semptomlarını azaltıp yaşam kalitesini iyileştirebildiği bazı çalışmalarda rapor edilmiştir (DiNicolantonio vd., 2013). Bizim verilerimiz, yalnızca birkaç hastada olsa bile karnitin eksikliğinin tespit edilebildiğini ve bu bireylerin karnitin replasmanından fayda görebilecek adaylar olabileceğini göstermektedir.

PS ile serum karnitin profili farklılıkları özellikle dikkat çekicidir. PS, adeta kalbin interstisyel alanının bir uzantısı gibi davranarak kalpten salınan metabolitlerin yoğunlaştığı bir kompartman oluşturur (Harju vd., 2022). Çalışmamızda PS’de serumdan belirgin yüksek bulunan açilkarnitinler (örn. C6, C8:1) mevcuttu. Bu, kalpte üretilen bazı metabolitlerin dolaşıma geçmeden lokal kaldığını ve PS’de biriktiğini gösterir (Harju vd., 2022). Bunun bir nedeni, PS’nin kısmen kapalı bir boşluk olması ve bu moleküllerin difüzyon/drenaj hızının kısıtlı olmasıdır. Ayrıca açilkarnitinlerin karbon zinciri uzadıkça daha lipofilik hale gelip çevre dokulara tutunma eğilimi artar; PS’deki yağ dokusu veya perikard yapraklarına emilerek serum seviyelerinin düşük kalmasına yol açabilir (McCoin vd., 2015). Bu nedenle, örneğin oleil-karnitin gibi uzun zincirli bir açilkarnitin PS’de oldukça yüksek iken kanda çok daha düşük bulunabilir. Kısa zincirli açilkarnitinler ise suya daha çözünür olup PS’den kana kolay geçebilir; nitekim C2 gibi kısa zincirli türler PS ve serum arasında büyük farklılık göstermemiştir.

Karnitin metabolizmasındaki bu değişimler, kalp hastalığında mitokondriyal disfonksiyonun bir göstergesi olarak değerlidir. Yağ asidi oksidasyonunun eksik kalması sonucu açilkarnitin birikiminin, kalp hücrelerinde lipotoksisite ve oksidatif stres oluşturabileceği; ilerleyen süreçte de kontraktıl disfonksiyonu derinleştirebileceği bildirilmektedir (Ruiz vd., 2017). Bizim bulgularımız da bu mekanistik görüşü destekler niteliktedir: Yüksek orta-uzun zincirli açilkarnitin düzeyleri olan hastalarımız, ejeksiyon fraksiyonlarında düşüklük ve yapısal kalp değişiklikleri ile ilişkilendirilebilecek bir metabolik profile sahiptir. Nitekim literatürde plazma açilkarnitin düzeylerinin yükselmesinin, uzun dönemde KY gelişimi ve atriyal fibrilasyon riskiyle bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ruiz vd., 2017).

Çalışmamızın bulguları, çok boyutlu metabolit profillemesinin KAH’de tanısal ve prognostik değeri olabileceğini ortaya koymaktadır. Serum ve PS’de tespit ettiğimiz metabolit değişimleri, kalbin hem sistemik etkilerini hem de lokal mikro ortamını yansıtarak daha zengin bir klinik bilgi sağlamıştır. Özellikle organik asitler, amino asitler ve açilkarnitinlerden oluşan metabolit panelinin birlikte değerlendirilmesi, tek

başına geleneksel risk faktörleri veya tek bir biyobelirteç kullanımına kıyasla hastalık varlığını ve şiddetini belirlemede üstünlük sağlayabilir.

Bu kapsamda, ileride yeni tanısal skor sistemlerinin geliştirilmesi mümkün görünmektedir. Örneğin, karnitin türevlerini içeren bir metabolik risk puanı oluşturulabilir. Literatürde, birden fazla metaboliti içeren metabolomik skorların KAH tanısını ve prognozunu iyileştirdiği gösterilmiştir (Kukhareno vd., 2020; Ruiz vd., 2017). Bizim verilerimiz de istatistiksel analizlerde bazı metabolit kombinasyonlarının, örneğin yüksek C3, yüksek C6 ve düşük serbest karnitin düzeylerinin birlikte bulunmasının, hastaları sağlıklı bireylerden yüksek doğrulukla ayırt edebildiğini ortaya koymuştur. Böyle bir puanlama sisteminde her bir metabolite belirli bir ağırlık verilerek toplam skor hesaplanabilir ve belirli bir eşik değerin üzerinde skora sahip hastaların KAH açısından ileri tetkike alınması düşünülebilir. Bu yaklaşım, metabolomik verilerin klinikte tarama ve erken tanı amacıyla kullanımına örnek oluşturacaktır.

Prognostik açıdan metabolit profili de önemli bilgiler sunmaktadır. Örneğin, çalışmamızda kısa zincirli açilkarnitinlerin yüksek, uzun zincirli karnitin türevlerinin ise düşük olduğu, özellikle oleil-karnitin azaldığı bir örüntü saptanan hastalarda sol ventrikül fonksiyonlarının daha bozuk olduğu gözlenmiştir. Bu tür metabolik örüntüler, ileride KY gelişimi veya ritim bozukluğu riski gibi sonuçların öngörülmesinde kullanılabilir. Nitekim PREDIMED çalışmasında, başlangıçta yüksek palmitoil ve stearoil-karnitin düzeylerine sahip bireylerde takip sürecinde KY ve atriyal fibrilasyon insidansının anlamlı derecede daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Ruiz vd., 2017). Bu da metabolit profillerinin yalnızca mevcut hastalığı değil, gelecekteki kardiyak olayları da öngörebileceğini ortaya koymaktadır.

Elde ettiğimiz bulguların tedavi planlamasına yönelik çıkarımları da bulunmaktadır. Metabolomik profildeki sapmalar, belli biyokimyasal yolların hedef alınabileceğini gösterir. Örneğin çalışmamızda piroglutamatın yüksek olması, kalpte oksidatif stres yükünün arttığını düşündürmektedir; bu da bu hastalarda antioksidan tedavilerin (N-acetil sistein, koenzim Q10 gibi) araştırılmasını akla getirebilir. Benzer şekilde aromatik mikrobiyota metabolitlerinin artışı, probiyotik tedaviler veya diyet

düzenlemeleri ile bağırsak mikrobiyotasının hedeflenebileceğini düşündürmektedir. Nitekim gut metabolitlerini azaltmaya yönelik stratejilerin (liften zengin diyet, spesifik probiyotikler vb.) kardiyak prognozu iyileştirebileceği hipotezi giderek güçlenmektedir.

Karnitin profili özelinde, metabolit bulgularımız farklı hasta alt gruplarında farklı tedavi yaklaşımlarına ışık tutabilir. Örneğin karnitin eksikliği saptanan hastalarda L-karnitin takviyesi potansiyel olarak yararlı olabilir. Ancak açilkarnitin birikimi belirgin olan hastalarda doğrudan karnitin vermek yerine altta yatan sorunu (insülin direnci, mitokondriyal disfonksiyon gibi) çözmeye odaklanmak gerekir. SGLT2 inhibitörleri gibi bazı tedavilerin açilkarnitin profiline olumlu etkileri olduğuna dair kanıtlar vardır; kalp yetmezliği hastalarında bu ilaçların kısa/orta zincirli açilkarnitinleri azalttığı bildirilmiştir (Zannad vd., 2020). Dolayısıyla metabolit profilinde belirgin yağ asidi oksidasyon ürünü birikimi olan bir hasta, SGLT2 inhibitörlerinden metabolik açıdan daha çok fayda görebilir. Yine trimetazidin gibi yağ asidi oksidasyonunu sınırlayıp glukoz kullanımını artıran ajanların, açilkarnitin birikimi yüksek hastalarda egzersiz toleransını düzelttiği bilinmektedir (Puşcaş vd., 2024). Bu bilgiler ışığında, gelecekte metabolomik profilleri rehber alarak ilaca karar veren daha kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları geliştirilebilir.

Ayrıca, kombine omik yaklaşımlar ile metabolit bulgularımız derinleştirilebilir. Örneğin bazı bireyler karnitin taşınım kapasitesini etkileyen genetik varyantlara sahip olabilir (OCTN2 gen mutasyonları gibi); bu kişilerde karnitin eksikliği veya açilkarnitin birikimine yatkınlık olabilir. Genomik bilgilerle metabolomik profili entegre ederek, risk tahmininde daha hassas ve bireye özgü sonuçlara ulaşmak mümkündür. Benzer şekilde proteomik analizlerle kalp kasında enerji metabolizmasında rol alan enzimlerin düzeyleri incelenip metabolit sonuçlarıyla eşleştirilebilir. Örneğin çalışmamızda BCAA metabolizmasında birikim olduğunu düşündüren sonuçlar (3-HIB artışı, tiglrikarnitin yüksekliği) mevcuttur; bu durumda BCAA yıkımının düzenleyicisi olan mTOR yolu veya ilgili enzimler gelecekte farmakolojik hedef olarak araştırılabilir.

6. SONUÇLAR

Koroner arter by PS'de pass cerrahisi geçiren hastalarda yapılan kapsamlı metabolomik analiz, serum ve PS'de amino asit, organik asit ve karnitin türevlerinin KAH patofizyolojisiyle ilişkili belirgin değişimler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu değişimler; enerji metabolizması bozukluğu (artan laktat ve TCA ara ürünleri), oksidatif stres yükü (piroglutamat ve HGA artışı), insülin direnci ve BCAA katabolizması disfonksiyonu (3-HIB artışı) ile bağırsak mikrobiyota-metabolit eksenini bozulması (yüksek aromatik amino asit türevleri) şeklinde özetlenebilir. Aynı zamanda karnitin ve açılakarnitin profilindeki düzensizlikler, kalp kasının yağ asidi kullanımındaki kısıtlılığı ve metabolik artıkların birikimini göstermiştir.

Bu bulgular, metabolit profillerinin tanısal amaçla bir panel halinde kullanılabileceğini göstermektedir. Elde edilen metabolik örüntüler sayesinde hastalar ve sağlıklı bireyler yüksek doğrulukla ayırt edilebilmiş; ayrıca bu örüntülerin hastalık alt tiplerini ve gelecekteki komplikasyon risklerini öngörmede yardımcı olabileceği anlaşılmıştır. Özellikle serum ve PS bulgularının birlikte değerlendirilmesi, kalbin lokal metabolik sinyallerini yakalayarak sistemik dolaşımdan kaçan değişimleri saptamamıza olanak vermiştir.

7. ÖNERİLER

Gelecekte daha geniş hasta kohortlarında yapılacak çalışmalarla bu metabolitlerin klinik karar destek süreçlerine entegre edilmesi mümkün olacaktır. Örneğin metabolomik risk skorları, yüksek riskli asemptomatik bireylerin taranmasında kullanılabilir; arginaz inhibitörleri, antioksidanlar ve probiyotikler gibi metabolit odaklı tedaviler uygun hasta alt gruplarında değerlendirilebilir. Metabolomik yaklaşımın kardiyoloji pratiğine girmesiyle, KVH'de daha erken tanı konması, riskli hastaların proaktif yönetimi ve tedavilerin bireye özgü optimize edilmesi hedeflenmektedir. Sonuç olarak, çoklu omik verilerin bütüncül analizi, kalp hastalıklarında metabolizma odaklı yeni bir dönemin kapılarını aralamakta ve hastalığın karmaşık biyolojisini çözümlemeye önemli bir rol oynamaktadır.

KAYNAKLAR

- Amin, A. M., Mostafa, H., Arif, N. H., Abdul Kader, M. A. S., & Hay, Y. K. (2019). Metabolomics profiling and pathway analysis of human plasma and urine reveal further insights into the multifactorial nature of coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta*, 493, 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.030>.
- Amin AM. Metabolomics applications in coronary artery disease personalized medicine. *Advances in Clinical Chemistry*. 2021;102:233–270. doi:10.1016/bs.acc.2020.08.003.
- Antikainen, A. A., Mutter, S., Harjutsalo, V., Thorn, L. M., Groop, P.-H., & Sandholm, N. (2024). Urinary metabolomics provide insights into coronary artery disease in individuals with type 1 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*, 23, 425.
- Atzler, D., Schwedhelm, E., & Choe, C. U. (2015). L-homoarginine and cardiovascular disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 18(1), 83–88. <https://doi.org/10.1097/MCO.000000000000123>.
- Beloborodova, N., Pautova, A., Grekova, M., Yadgarov, M., Grin, O., Eremenko, A., & Babaev, M. (2023). Microbiota metabolism failure as a risk factor for postoperative complications after aortic prosthetics. *Biomedicines*, 11(5), 1335. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11051335>.
- Beloborodova, N. V., Olenin, A. Y., & Pautova, A. K. (2018). Metabolomic findings in sepsis as a damage of host–microbial metabolism integration. *Journal of Critical Care*, 43, 246–255. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2017.09.014>.
- BOME Trivitron Sanayi Ürünleri Dış Ticaret A.Ş. Trimaris Amino Asit ve Açıl Karnitin LC-MS/MS Analiz Kiti Kullanım Kılavuzu. Doküman No: TK.129, Revizyon 1, 02.10.2023.
- BOME Trivitron Sanayi Ürünleri Dış Ticaret A.Ş. Trimaris Aromatik Amino Asitler LC-MS/MS Analiz Kiti Kullanım Kılavuzu. Doküman No: TK.128, Revizyon 1, 02.10.2023.
- Braconi, D., Millucci, L., Bernardini, G., & Santucci, A. (2015). Oxidative stress and mechanisms of ochronosis in alkaptonuria. *Free Radical Biology and Medicine*, 88(Pt A), 70–80. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.021>.

- Bulló, M., Papandreou, C., García-Gavilán, J., Ruíz-Canela, M., Li, J., Guasch-Ferré, M., Toledo, E., Clish, C., Corella, D., Estruch, R., Ros, E., Fitó, M., Lee, C., Pierce, K., Razquín, C., Arós, F., Serra-Majem, L., Liang, L., Martínez-González, M., Hu, F. B., & Salas-Salvadó, J. (2021). Tricarboxylic acid cycle related-metabolites and risk of atrial fibrillation and heart failure. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 118, 154915. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154915>.
- Caldwell, R. W., Rodriguez, P. C., Toque, H. A., Narayanan, S. P., & Caldwell, R. B. (2018). Arginase: A multifaceted enzyme important in health and disease. *Physiological Reviews*, 98(2), 641–665. <https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2016>.
- Campbell, A., Cakar, S., Palstrøm, N., Riber, L., Rasmussen, L., & Beck, H. C. (2024). A carrier-based quantitative proteomics method applied to biomarker discovery in pericardial fluid. *Molecular & Cellular Proteomics*, 23, 100812. <https://doi.org/10.1016/j.mcpro.2024.100812>.
- Chen, H., Wang, Z., Qin, M., Zhang, B., Lin, L., Ma, Q., Liu, C., Chen, X., Li, H., Lai, W., & Zhong, S. (2021). Comprehensive metabolomics identified the prominent role of glycerophospholipid metabolism in coronary artery disease progression. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 632950. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.632950>.
- Chen, W., Wang, C., Cheng, C., Liu, M., Chu, C., Wu, H., Huang, P., Lin, Y., Ko, T., Chen, W., Wang, H., Lee, S., & Liang, C. (2020). Elevated plasma phenylalanine predicts mortality in critical patients with heart failure. *ESC Heart Failure*, 7(5), 2884–2893. <https://doi.org/10.1002/ehf2.12896>.
- Consegal, M., Barba, I., Del Blanco, G., Otaegui, I., Rodríguez-Palomares, J., Martí, G., Serra, B., Bellera, N., Ojeda-Ramos, M., Valente, F., Carmona, M., Miró-Casas, E., Sambola, A., Lidón, R., Bañeras, J., Barrabés, J., Rodríguez, C., Benito, B., Ruiz-Meana, M., Inserte, J., Ferreira-González, I., & Rodríguez-Sinovas, A. (2023). Spontaneous reperfusion enhances succinate concentration in peripheral blood from STEMI patients but its levels does not correlate with myocardial infarct size or area at risk. *Scientific Reports*, 13, 7451. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34196-7>.
- DiNicolantonio, J. J., Lavie, C. J., Fares, H., Menezes, A. R., & O’Keefe, J. H. (2013). L-carnitine in the secondary prevention of cardiovascular disease: Systematic review and meta-analysis. *Mayo Clinic Proceedings*, 88(6), 544–551.
- Dodd, D., Spitzer, M. H., Van Treuren, W., Merrill, B. D., Hryckowian, A. J., Higginbottom, S. K., Le, A., Cowan, T. M., Nolan, G. P., Fischbach, M. A., & Sonnenburg, J. L. (2017). A gut bacterial pathway metabolizes aromatic amino acids into nine circulating metabolites. *Nature*, 551(7682), 648–652. <https://doi.org/10.1038/nature24661>.

- Dunn WB, Broadhurst D, Begley P, et al. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Nature Protocols*. 2011;6(7):1060–1083. doi:10.1038/nprot.2011.335
- El-Diasty, M., Rodríguez, J., Pérez, L., Eiras, S., & Fernandez, Á. (2024). Accumulation of inflammatory mediators in the normal pericardial fluid. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 157. <https://doi.org/10.3390/ijms25010157>
- Elie, A., Bloksgaard, M., Sun, W., Yang, K., Man, A., Xu, A., Irmukhamedov, A., Riber, L., Wang, Y., & De Mey, J. G. R. (2018). Local enrichment of fatty acid-binding protein 4 in the pericardial cavity of cardiovascular disease patients. *PLoS ONE*, 13(11), e0206802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206802>
- Fan Y, Li Y, Chen Y, et al. Comprehensive metabolomic characterization of coronary artery diseases. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;68(12):1281–1293. doi:10.1016/j.jacc.2016.06.044
- Fan, Y., Li, Y., Chen, Y., Zhao, Y. J., Liu, L. W., Li, J., Wang, S. L., Alolga, R. N., Yin, Y., Wang, X. M., Zhao, D. S., Shen, J. H., Meng, F. Q., Zhou, X., Xu, H., He, G. P., Lai, M. D., Li, P., Zhu, W., & Qi, L. W. (2016). Comprehensive metabolomic characterization of coronary artery diseases. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(12), 1281–1293. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.06.044>
- Gamarra Y, Santiago FC, Molina-López J, et al. Pyroglutamic acidosis by glutathione regeneration blockage in critical illness: A prospective analytical study. *Critical Care*. 2019;23:162. doi:10.1186/s13054-019-2450-5
- Gander, J., Carrard, J., Gallart-Ayala, H., et al. (2021). Metabolic impairment in coronary artery disease: Elevated serum acylcarnitines under the spotlights. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8, 792350.
- Gao, S., Wang, X., Huang, J., Zhu, Y., Zhang, R., He, J., & Abliz, Z. (2022). Development and validation of a sensitive and reliable targeted metabolomics method for the quantification of cardiovascular disease-related biomarkers in plasma by using UPLC-MS/MS. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 36, e9292. <https://doi.org/10.1002/rcm.9292>

- Gaziano, T. A., Fonarow, G. C., Velazquez, E. J., Morrow, D. A., Braunwald, E., & Solomon, S. D. (2020). Cost-effectiveness of sacubitril-valsartan in hospitalized patients who have heart failure with reduced ejection fraction. *JAMA Cardiology*, 5(11), 1236–1244. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.2822>
- Grajeda-Iglesias, C., & Aviram, M. (2018). Specific amino acids affect cardiovascular diseases and atherogenesis via protection against macrophage foam cell formation. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 9(3), e0022.
- Grosse, G. M., Schwedhelm, E., Worthmann, H., & Choe, C. U. (2020). Arginine derivatives in cerebrovascular diseases: Mechanisms and clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1798. <https://doi.org/10.3390/ijms21051798>
- Hansson, G. K. (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*, 352(16), 1685–1695. <https://doi.org/10.1056/NEJMra043430>
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(16):1685–1695. doi:10.1056/NEJMra043430
- Harju, K., Tuomainen, T., Lehtonen, M., Karkkainen, O., Linna-Kuosmanen, S., Halonen, J., Hartikainen, J., & Tavi, P. (2022). Periheart II: Simultaneous metabolomics analysis of atrial tissue, pericardial fluid and blood reveal novel metabolite signatures of the pathophysiology and biomarkers related to permanent atrial fibrillation. *European Heart Journal*, 43(Supplement_2), ehac544.503. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac544.503>
- Hassanabad AF, Belke D, Gordon P, et al. Pericardial fluid of patients with coronary artery disease can drive fibrosis via TGF-beta pathway. *JACC: Basic to Translational Science*. 2024;9:1329–1344. doi:10.1016/j.jacbts.2024.06.007
- Hassanabad, F., Belke, D., Gordon, P., Teng, G., Dundas, J., Zarzycki, A., Turnbull, J., Deniset, J., & Fedak, P. W. M. (2024). Pericardial fluid of patients with coronary artery disease can drive fibrosis via TGF-beta pathway. *JACC: Basic to Translational Science*, 9, 1329–1344. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2024.06.007>

- Heidenreich, P. A., Trogon, J. G., Khavjou, O. A., Butler, J., Dracup, K., Ezekowitz, M. D., Finkelstein, E. A., Hong, Y., Johnston, S. C., Khera, A., Lloyd-Jones, D. M., Nelson, S. A., Nichol, G., Orenstein, D., Wilson, P. W. F., Woo, Y. J., & American Heart Association Advocacy Coordinating Committee. (2011). Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: A policy statement from the American Heart Association. *Circulation*, 123(8), 933–944. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31820a55f5>
- Hosseinkhani S, Emamgholipour S, Salari P, et al. Evaluating the association between amino acid and acylcarnitine profiles and different levels of coronary artery disease risk in postmenopausal women using targeted metabolomics technique. *Menopause*. 2022;29(9):1062–1070. doi:10.1097/GME.0000000000002016
- JASEM. Organic Acid in Urine LC-MS/MS Analysis Kit. Product No: JSM-CL-5500. Product Information Brochure.
- Kayıkçıoğlu, M., & Oto, A. (2020). Control and management of cardiovascular disease in Turkey. *Circulation*, 141(1), 7–9. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.037606>
- Kukharensko, A., Brito, A., Kozhevnikova, M. V., Moskaleva, N., Markin, P. A., Bochkareva, N., & others. (2020). Relationship between the plasma acylcarnitine profile and cardiometabolic risk factors in adults diagnosed with cardiovascular diseases. *Clinica Chimica Acta*, 507, 250–256.
- Laaksonen, R. (2016). Identifying new risk markers and potential targets for coronary artery disease: The value of the lipidome and metabolome. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 30(1), 19–32. <https://doi.org/10.1007/s10557-016-6651-8>
- Laaksonen, R., Ekroos, K., Sysi-Aho, M., Hilvo, M., Vihervaara, T., Kauhanen, D., Suoniemi, M., Hurme, R., März, W., Scharnagl, H., Stojakovic, T., Vlachopoulou, E., Lokki, M. L., Nieminen, M. S., Klingenberg, R., Matter, C. M., Hornemann, T., Jüni, P., Rodondi, N., ... Lüscher, T. F. (2016). Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. *European Heart Journal*, 37(25), 1967–1976. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw148>
- Lauer, M. S. (2012). Advancing cardiovascular research. *Chest*, 141(2), 500–505. <https://doi.org/10.1378/chest.11-2521>

- Li, H., Meininger, C. J., Kelly, K. A., Hawker, J. R., Jr., Morris, S. M., Jr., & Wu, G. (2002). Activities of arginase I and II are limiting for endothelial cell proliferation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 282(1), R64–R69. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2002.282.1.R64>
- Libby, P. (2002). Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420(6917), 868–874. <https://doi.org/10.1038/nature01323>
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(6917):868–874. doi:10.1038/nature01323
- Luengo-Fernandez, R., Walli-Attaei, M., Gray, A., Torbica, A., Maggioni, A. P., Huculeci, R., Bairami, F., Aboyans, V., Timmis, A. D., Vardas, P., & Leal, J. (2023). Economic burden of cardiovascular diseases in the European Union: A population-based cost study. *European Heart Journal*, 44(45), 4752–4767. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad583>
- Marcinek, D. J., Kushmerick, M. J., & Conley, K. E. (2010). Lactic acidosis in vivo: Testing the link between lactate generation and H⁺ accumulation in ischemic mouse muscle. *Journal of Applied Physiology*, 108(6), 1479–1486. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01189.2009>
- Martin, K. (2021). Dietary supplementation with L-arginine, single nucleotide polymorphisms of arginase 1 and 2, and plasma L-arginine. *The Journal of Nutrition*. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa431>
- McCoin, C. S., Knotts, T. A., Ono-Moore, K. D., Oort, P. J., & Adams, S. H. (2015). Long-chain acylcarnitines activate cell stress and myokine release in C2C12 myotubes: Calcium-dependent and -independent effects. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 308(11), E990–E1000. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00602.2014>
- McGarrah, R. W., Crown, S. B., Zhang, G. F., Shah, S. H., & Newgard, C. B. (2018). Cardiovascular metabolomics. *Circulation Research*, 122(9), 1238–1258. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311002>
- McGarrah, R. W., & White, P. J. (2023). Branched-chain amino acids in cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*, 20(2), 77–89.
- Moreno-Vedia, J., Llop, D., Rodriguez-Calvo, R., Plana, N., Amigó, N., Rosales, R., ... & Ibarretxe, D. (2023). Serum branch-chained amino acids are increased in type 2 diabetes and associated with atherosclerotic cardiovascular disease. *Cardiovascular Diabetology*, 22(1), 249.
- Müller, J., Bertsch, T., Volke, J., Schmid, A., Klingbeil, R., Metodiev, Y., & Bornstein, S. R. (2021). Narrative review of metabolomics in cardiovascular disease. *Journal of Thoracic Disease*, 13(4), 2526–2537.

- Murcy, F., Borowczyk, C., Gourion-Arsiquaud, S., Torrino, S., Ouahrouche, N., Barouillet, T., Dussaud, S., Couralet, M., Vaillant, N., Merlin, J., Berquand, A., Kaikkonen, M., McClelland, R., Tressel, W., Stein, J., Thorp, E., Bertero, T., Barbry, P., Bailly-Maitre, B., Gautier, E., Karjalainen, M., Kettunen, J., Duca, L., Shea, S., & Yvan-Charvet, L. (2024). GLS2 links glutamine metabolism and atherosclerosis by remodeling artery walls. *Nature Cardiovascular Research*. <https://doi.org/10.1038/s44161-024-00566-1>
- Newgard, C. B., An, J., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Stevens, R. D., Lien, L. F., Haqq, A. M., Shah, S. H., Arlotto, M., Slentz, C. A., Rochon, J., Gallup, D., Ilkayeva, O., Wenner, B. R., Yancy, W. S., Jr., Eisenson, H., Musante, G., Surwit, R. S., Millington, D. S., Butler, M. D., & Svetkey, L. P. (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metabolism*, 9(4), 311–326. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.02.002>
- Omori, K., Katakami, N., Yamamoto, Y., Ninomiya, H., Takahara, M., Matsuoka, T. A., Bamba, T., Fukusaki, E., & Shimomura, I. (2019). Identification of metabolites associated with onset of CAD in diabetic patients using CE-MS analysis: A pilot study. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 26(3), 233–245. <https://doi.org/10.5551/jat.42945>
- Ouyang J, Huang J, Wang H. The role of lactate in cardiovascular diseases. *Cell Communication and Signaling*. 2023;21:268.
- Pang Z, Chong J, Zhou G, et al. MetaboAnalyst 5.0: Narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(W1):W388–W396. doi:10.1093/nar/gkab382
- Puşcaş, A., Ştefănescu, R., Vari, C., Ősz, B., Filip, C., Bitzan, J., Buţ, M., & Tero-Vescan, A. (2024). Biochemical aspects that lead to abusive use of trimetazidine in performance athletes: A mini-review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1605. <https://doi.org/10.3390/ijms25031605>
- Rhee EP, Gerszten RE. Metabolomics and cardiovascular biomarker discovery. *Clinical Chemistry*. 2012;58(1):139–147. doi:10.1373/clinchem.2011.169573
- Ridker, P. M., Everett, B. M., Thuren, T., MacFadyen, J. G., Chang, W. H., Ballantyne, C., Fonseca, F., Nicolau, J., Koenig, W., Anker, S. D., Kastelein, J. J. P., Cornel, J. H., Pais, P., Pella, D., Genest, J., Cifkova, R., Lorenzatti, A., Forster, T., Kobalava, Z., ... Glynn, R. J. (2017). Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *The New England Journal of Medicine*, 377(12), 1119–1131. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707914>

- Roberts, L. D., Boström, P., O'Sullivan, J. F., Schinzel, R. T., Lewis, G. D., Dejam, A., Lee, Y. K., Palma, M. J., Calhoun, S., Georgiadi, A., Chen, M. H., Ramachandran, V. S., Larson, M. G., Bouchard, C., Rankinen, T., Souza, A. L., Clish, C. B., Wang, T. J., Estall, J. L., ... Spiegelman, B. M. (2014). β -Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic β -oxidation. *Cell Metabolism*, 19(1), 96–108.
- Rom, O., & Aviram, M. (2017). Pro-atherogenic vs. anti-atherogenic roles for amino acids in macrophage foam cell formation. *Current Opinion in Lipidology*, 28(1), 85–90.
- Ruiz-Canela, M., Guasch-Ferré, M., Razquin, C., et al. (2022). Plasma acylcarnitines and risk of incident heart failure and atrial fibrillation: The Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) study. *Revista Española de Cardiología*, 75(8), 649–658.
- Ruiz, M., Labarthe, F., Fortier, A., Bouchard, B., Legault, J., Bolduc, V., Rigal, O., Chen, J., Ducharme, A., Crawford, P. A., Tardif, J. C., & Des Rosiers, C. (2017). Circulating acylcarnitine profile in human heart failure: A surrogate of fatty acid metabolic dysregulation in mitochondria and beyond. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 313(4), H768–H781. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00820.2016>
- Sánchez, M., Fuentes, M., García, E., Chica, N., Muñoz, K., Huete, M., Molina, M., Osuna, A., & Wangenstein, R. (2024). Hydroxyproline in urine microvesicles as a biomarker of fibrosis in the renal transplant patient. *Biomedicines*, 12(12), 2836. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12122836>
- Shmet, M., Amasha, M., Khattib, A., Schweitzer, R., Khatib, S., Hamudi, J., Halabi, M., & Khatib, S. (2025). Untargeted metabolomics reveals biomarkers for the diagnosis of coronary artery plaques as observed by coronary cardiac computed tomography. *BioFactors*, 51(1), e2156. <https://doi.org/10.1002/biof.2156>
- Sim, W. C., Han, I., Lee, W., Choi, Y. J., Lee, K. Y., Kim, D. G., Jung, S. H., Oh, S. H., & Lee, B. H. (2016). Inhibition of homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and endothelial cell damage by L-serine and glycine. *Toxicology in Vitro*, 34, 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.04.004>
- Sun, H., Olson, K. C., Gao, C., Prosdocimo, D. A., Zhou, M., Wang, Z., Jeyaraj, D., Youn, J. Y., Ren, S., Liu, Y., Rau, C. D., Shah, S., Ilkayeva, O., Gui, W. J., William, N. S., Wynn, R. M., Newgard, C. B., Cai, H., Xiao, X., Chuang, D. T., Schulze, P. C., Lynch, C., Jain, M. K., & Wang, Y. (2016). Catabolic defect of branched-chain amino acids promotes heart failure. *Circulation*, 133(21), 2038–2049. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020226>

- Taegtmeyer, H., Young, M. E., Lopaschuk, G. D., Abel, E. D., Brunengraber, H., Darley-USmar, V., Des Rosiers, C., Gerszten, R., Glatz, J. F. C., Griffin, J. L., Gropler, R. J., Holzhuetter, H. G., Kizer, J. R., Lewandowski, E. D., Malloy, C. R., Neubauer, S., Peterson, L. R., Portman, M. A., Recchia, F. A., ... American Heart Association Council on Basic Cardiovascular Sciences. (2016). Assessing cardiac metabolism: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation Research*, 118(10), 1659–1701. <https://doi.org/10.1161/RES.0000000000000097>
- Taegtmeyer H, Young ME, Lopaschuk GD, et al. Assessing cardiac metabolism: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation Research*. 2016;118(10):1659–1701. doi:10.1161/RES.0000000000000097
- Tajima, G., Hara, K., Tsumura, M., Kagawa, R., Okada, S., Sakura, N., Maruyama, S., Noguchi, A., Awaya, T., Ishige, M., Ishige, N., Musha, I., Ajihara, S., Ohtake, A., Naito, E., Hamada, Y., Kono, T., Asada, T., Sasai, H., Fukao, T., Fujiki, R., Ohara, O., Bo, R., Yamada, K., Kobayashi, H., Hasegawa, Y., Yamaguchi, S., Takayanagi, M., Hata, I., Shigematsu, Y., & Kobayashi, M. (2017). Newborn screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency using (C16 + C18:1)/C2 and C14/C3. *Molecular Genetics and Metabolism*, 122(3), 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.07.011>
- Trimigno, A., Zhao, J., Michaud, W., Paneitz, D., Chukwudi, C., D'Alessandro, D., Lewis, G., Minie, N., Catricala, J., Vincent, D., Higueta, M., Bolger-Chen, M., Tessier, S., Li, S., O'Day, E., Osho, A., & Rabi, S. (2024). Metabolic choreography of energy substrates during DCD heart perfusion. *Transplantation* Direct, 10. <https://doi.org/10.1097/TXD.0000000000001704>
- Trindade, F., Vitorino, R., Leite-Moreira, A. F., & Falcão-Pires, I. (2019). Pericardial fluid: An underrated molecular library of heart conditions and a potential vehicle for cardiac therapy. *Basic Research in Cardiology*, 114, 10. <https://doi.org/10.1007/s00395-019-0716-3>
- Trindade F, Vitorino R, Leite-Moreira AF, Falcão-Pires I. Pericardial fluid: An underrated molecular library of heart conditions and a potential vehicle for cardiac therapy. *Basic Research in Cardiology*. 2019;114:10. doi:10.1007/s00395-019-0716-3
- Verhoef, P., Steenge, G. R., Boelsma, E., van Vliet, T., Olthof, M. R., & Katan, M. B. (2004). Dietary serine and cystine attenuate the homocysteine-raising effect of dietary methionine: A randomized crossover trial in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(3), 674–679. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.3.674>

- Wang, X., Yang, R., Zhang, W., Wang, S., Mu, H., Li, H., Dong, J., Chen, W., Yu, X., & Ji, F. (2021). Serum glutamate and glutamine-to-glutamate ratio are associated with coronary angiography defined coronary artery disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2021.09.021>
- Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B. J., Koeth, R. A., Levison, B. S., DuGar, B., Feldstein, A. E., Britt, E. B., Fu, X., Chung, Y. M., Wu, Y., Schauer, P., Smith, J. D., Allayee, H., Tang, W. H. W., DiDonato, J. A., Lusis, A. J., & Hazen, S. L. (2011). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472(7341), 57–63. <https://doi.org/10.1038/nature09922>
- Wei S, Zeng Z, Ke X, et al. β -Hydroxybutyrate in cardiovascular diseases: A minor metabolite, major medical manifestations. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2022;9:823602. doi:10.3389/fmolb.2022.823602
- Wishart, D. S. (2019). Metabolomics for investigating physiological and pathophysiological processes. *Physiological Reviews*, 99(4), 1819–1875. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2018>
- Wishart DS. Metabolomics for investigating physiological and pathophysiological processes. *Physiological Reviews*. 2019;99(4):1819–1875. doi:10.1152/physrev.00035.2018
- Wisneski, J. A., Stanley, W. C., Neese, R. A., & Gertz, E. W. (1990). Effects of acute hyperglycemia on myocardial glycolytic activity in humans. *Journal of Clinical Investigation*, 85(5), 1648–1656.
- World Health Organization. (2021). Cardiovascular diseases (CVDs) [Fact sheet]. World Health Organization. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
- World Health Organization. (2025). Glossary of health data, statistics and public health indicators. World Health Organization.
- World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [Fact sheet]. World Health Organization; 2025.
- World Health Organization Regional Office for Europe. (2018). Prevention and control of noncommunicable diseases in Turkey: The case for investment. World Health Organization. <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2018-3291-43050-60248>
- Yang, Y., Du, Z., Fang, M., et al. (2023). Metabolic signatures in pericardial fluid and serum are associated with new-onset atrial fibrillation after isolated coronary artery bypass grafting. *Translational Research*, 256, 30–40.

- Yang Y, Du Z, Fang M, et al. Metabolic signatures in pericardial fluid and serum are associated with new-onset atrial fibrillation after isolated coronary artery bypass grafting. *Translational Research*. 2023;256:30–40.
- Yannell, K. E., Ferreira, C. R., Tichy, S. E., & Cooks, R. G. (2018). Multiple reaction monitoring (MRM)-profiling with biomarker identification by LC-QTOF to characterize coronary artery disease. *Analyst*, 143(20), 5014–5022. <https://doi.org/10.1039/C8AN01017J>
- Yu, N., Wang, R., Liu, B., & Zhang, L. (2022). Bibliometric and visual analysis on metabolomics in coronary artery disease research. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 804463. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.804463>
- Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., McQueen, M., Budaj, A., Pais, P., Varigos, J., Lisheng, L., & INTERHEART Study Investigators. (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries: The INTERHEART study. *The Lancet*, 364(9438), 937–952. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17018-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17018-9)
- Zannad, F., Ferreira, J. P., Pocock, S. J., Anker, S. D., Butler, J., Filippatos, G., Brueckmann, M., Ofstad, A. P., Pfarr, E., Jamal, W., & Packer, M. (2020). SGLT2 inhibitors in patients with heart failure with reduced ejection fraction: A meta-analysis of the EMPEROR-Reduced and DAPA-HF trials. *The Lancet*, 396(10254), 819–829. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31824-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31824-9)
- Zaric, B. L., Radovanovic, J. N., Gluvic, Z., Stewart, A. J., Essack, M., Motwalli, O., ... & Isenovic, E. R. (2020). Atherosclerosis linked to aberrant amino acid metabolism and immunosuppressive amino acid catabolizing enzymes. *Frontiers in Immunology*, 11, 551758.
- Zhang, L., Wei, T. T., Li, Y., Li, J., Fan, Y., Huang, F. Q., Cai, Y. Y., Ma, G., Liu, J. F., Chen, Q. Q., Wang, S. L., Li, H., Alolga, R. N., Liu, B., Zhao, D. S., Shen, J. H., Wang, X. M., Zhu, W., Li, P., & Qi, L. W. (2018). Functional metabolomics characterizes a key role for N-acetylneuraminic acid in coronary artery diseases. *Circulation*, 137(13), 1374–1390. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031139>
- Zhang L, Wei TT, Li Y, et al. Functional metabolomics characterizes a key role for N-acetylneuraminic acid in coronary artery diseases. *Circulation*. 2018;137(13):1374–1390. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031139
- Zhong, Z., Liu, J., Zhang, Q., Zhong, W., Li, B., Li, C., Liu, Z., Yang, M., & Zhao, P. (2019). Targeted metabolomic analysis of plasma metabolites in patients with coronary heart disease in southern China. *Medicine*, 98(7), e14309. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014309>

ÖZ GEÇMİŞ KİŞİSEL BİLGİLER

Ad Soyadı : İsmail KOYUNCU
Öğrenci No : 205320001
E-posta : ikoyuncu@harran.edu.tr
Telefon : 5317939878
Doğum Yeri : Siverek/ŞANLIURFA
Doğum Tarihi : 1982/01/01
ORCID : 0000-0002-9469-4757
ABD (TR) : KALP VE DAMAR CERRAHİSİ/PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ
ABD (EN) : CARDIOVASCULAR SURGERY/PERFUSION TECHNOLOGY

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Adı, Bölüm	Yıl
1.	Harran Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Bilimleri Enstitüsü – Doktora / Kalp ve Damar Cerrahisi-Perfüzyon Teknolojisi	2020-
2.	Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü - Doktora / Tıbbi Biyokimya	2009-2013
3.	Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü - Y. Lisans / Biyoloji	2005-2008
4.	Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi / Biyoloji	2002-2005

DİĞER BİLGİLER

2025 yılında Tıbbi Biyokimya alanında Profesör unvanını aldı. 2025 yılında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalına Profesör Doktor olarak atandı ve görev yapmaktadır.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

TARİH	: 05.06.2023
OTURUM	: 10
SAAT	: 13. ³⁰

HRÜ/23.10.11

Karar: Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'nun yürüttüğü olduğu “**Kardiyopulmoner Bypass Yöntemi ile Koroner Arter Bypass Cerrahisi Olan Bireylerin Metabolomik Yapısının İncelenmesi**” başlıklı çalışmaya Etik Kurul Onayı verilmesine;

Oy birliğiyle / ~~çokluğuyla~~ karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Mehmet Ali EREN
Kurul Başkanı

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10813941
Yazar Adı / Soyadı	İSMAİL KOYUNCU
Orcid	0000-0002-9469-4757
T.C.Kimlik No	61807365556
Telefon	5317939878
E-Posta	ismailkoyuncu1@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	Bypass Operasyonu Geçiren Hastalarda Perikardiyal Sıvı ve Kan Plazmasında Metabolit Profilinin Değişimi
Tezin Tercümesi	Changes in Metabolite Profile in Pericardial Fluid and Blood Plasma in Patients Undergoing Bypass Operation
Konu	Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi = Thoracic and Cardiovascular Surgery
Üniversite	HARRAN ÜNİVERSİTESİ
Enstitü / Hastane	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ana Bilim Dalı	KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI
Bilim Dalı	Perfüzyon Bilim Dalı
Tez Türü	Doktora
Yılı	2026
Sayfa	122
Tez Danışmanları	PROF. DR. MEHMET SALİH AYDIN
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

07.07.2026

İmza:.....