

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**AKUT KORONER SENDROM HASTALARINDA  
SERUM GEBELİKLE İLİŞKİLİ PLAZMA PROTEİN A  
VE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-I  
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞAHİKA ÖZEN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. BÜNYAMİN KAPTANOĞLU

DENİZLİ – 2009

Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU danışmanlığında Dr. Şahika ÖZEN tarafından yapılan “Akut Koroner Sendrom Hastalarında Serum Gebelikle İlişkili Plazma Protein A ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I Düzeylerinin Değerlendirilmesi” başlıklı çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU



ÜYE: Prof. Dr. S. Simin ROTA



ÜYE: Doç. Dr. Hülya AYBEK



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../2009  
(gün/ay/yıl)

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANI

Prof. Dr. Zafer AYBEK



## TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalıŐmalarım s¼recinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danıŐmanım Prof. Dr. B¼nyamin KAPTANOĞLU'na uzmanlık eğitimimdeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Diler ASLAN'a, Prof. Dr. S.Simin ROTA'ya, Prof. Dr. S¼leyman DEMİR'e, Doç. Dr. H¼lya AYBEK'e, Yrd. Doç. Dr. YaŐar ENLİ'ye; tez çalıŐmalarımdaki yardım ve desteklerinden dolayı Dr. Murat ÇELİKER, d¼nem arkadaŐım Dr. Funda ERCAN ve Dr. Mehmet T¼RK baŐta olmak üzere Dr. Ramazan AKBAY'a, Dr. Feride SERT'e, Dr. Didem PINARBAŐILI'ya, Dr. Koray KORKMAZCAN'a, Dr. Emine KAVALCI'ya, Dr. Fatih YAMAN'a, Dr. Cafer G¼NEN'e, Dr. Mahmut ŐENYURT'a, Dr. Dilek İREN'e ve Dr. Esin AVCI ÇİÇEK'e; tezime katkılarından dolayı Doç. Dr. Beyza AKDAĞ ve Doç. Dr. B¼lent ERDUR'a teŐekk¼r ederim. Uzmanlık eğitimim ve tez d¼nemimde her t¼rl¼ fedakarlık ve desteğini benden esirgemeyen canım annem ve babama, anlayıŐla her zaman olduğu gibi Şimdi de yanımda olan sevgili eŐım Mert'e sonsuz teŐekk¼r ederim.

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|   |    |
|---|----|
| <b>GİRİŞ</b> .....  | 1  |
| <b>GENEL BİLGİLER</b> .....   | 2  |
| <b>AKUT KORONER SENDROM</b> .....   | 2  |
| Etiyoloji ve Patofizyoloji.....   | 2  |
| Sınıflandırma.....  | 5  |
| Risk Faktörleri.....  | 7  |
| Klinik.....   | 7  |
| Tam.....  | 7  |
| <b>BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER</b> .....   | 8  |
| Miyoglobin.....   | 9  |
| Kreatin Kinaz.....  | 9  |
| Troponin.....   | 10 |
| Matriks Metalloproteinazlar.....  | 11 |
| Gebelik İlişkili Plazma Protein-A.....  | 11 |
| İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I.....   | 14 |
| <b>İLK BAŞVURUDA BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN<br/>    KULLANIMI İÇİN ÖNERİLER</b> ..... | 15 |
| <b>ACİL SERVİS VE AKUT KORONER SENDROM</b> .....                                      | 16 |
| <b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....  | 17 |
| <b>BULGULAR</b> .....   | 23 |
| <b>TARTIŞMA</b> .....   | 27 |
| <b>SONUÇLAR</b> .....   | 35 |
| <b>ÖZET</b> .....   | 37 |
| <b>YABANCI DİL ÖZETİ</b> .....  | 39 |
| <b>KAYNAKLAR</b> .....  | 41 |

## TABLÖLAR ÇİZELGESİ

|  | <b>Sayfa No</b> |
|--|-----------------|
| <b>Tablo-1</b> Hasta grubu ile kontrol grubunun özelliklerinin karşılaştırılması.....                      | 23              |
| <b>Tablo-2</b> Hasta grubu ile kontrol grubunun serum PAPP-A ve IGF-I düzeylerinin karşılaştırılması ..... | 25              |

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

|  | <b>Sayfa No</b> |
|--|-----------------|
| <b>Şekil-1</b> Plak gelişimi .....   | 4               |
| <b>Şekil-2</b> Plak yırtılması.....  | 5               |
| <b>Şekil-3</b> Akut Koroner Sendromların Sınıflandırılması .....   | 6               |
| <b>Şekil-4</b> PAPP-A geninin kromozomal lokalizasyonu .....   | 12              |
| <b>Şekil-5</b> Akut koroner sendromun patofizyolojik süreci .....  | 13              |
| <b>Şekil-6</b> PAPP-A kalibrasyon eğrisi.....  | 21              |
| <b>Şekil-7</b> Kontrol ve hasta gruplarında serum PAPP-A düzeyleri.....  | 24              |
| <b>Şekil-8</b> Kontrol ve hasta gruplarında serum IGF-I düzeyleri.....   | 24              |
| <b>Şekil-9</b> Serum PAPP-A düzeyleri ile IGF-I düzeyleri arasındaki korelasyon.....                           | 25              |
| <b>Şekil-10</b> Serum PAPP-A düzeylerinin AKS tanısındaki yeterliliğinin ROC eğrisi ile değerlendirilmesi..... | 26              |

## KISALTMALAR

|               |   |
|---------------|---|
| ACC           | : Amerika Kardiyoloji Komitesi “ <i>American College of Cardiology Committee</i> ”    |
| AKS           | : Akut Koroner Sendrom  |
| CK            | : Kreatin Kinaz   |
| EDTA          | : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit   |
| EKG           | : Elektrokardiyografi   |
| ESC           | : Avrupa Kardiyoloji Derneği “ <i>European Society of Cardiology</i> ”                |
| g             | : Gravite   |
| IGF-I         | : İnsülin benzeri büyüme faktörü I  |
| IL-1 $\beta$  | : İnterlökin 1 $\beta$  |
| kDa           | : Kilodalton  |
| LDL           | : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein “ <i>Low Density Lipoprotein</i> ”                     |
| MMP           | : Matriks Metalloproteinaz  |
| NACB          | : Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi “ <i>National Academy Clinical Biochemistry</i> ” |
| PAPP-A        | : Gebelikle ilişkili plazma protein-A   |
| Pro MBP       | : Proeozinofilik majör basic protein  |
| ROC           | : “ <i>Receiver Operating Characteristic Curves</i> ”                                 |
| TEKHARF       | : Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı Risk Faktörleri                                    |
| TF            | : Doku Faktörü  |
| TNF- $\alpha$ | : Tümör Nekroz Faktörü $\alpha$   |
| VKİ           | : Vücut Kütle İndeksi   |

## GİRİŞ

Akut koroner sendrom akut miyokart iskemisine bağlı ortaya çıkan semptom ve klinik bulgularla karakterize bir durumdur. Akut koroner sendrom tanı ve tedavide son yıllarda sağlanan gelişmelere rağmen halen ülkemizde ve tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir.

Göğüs ağrısının klinik olarak önemi kalple ilgili olmayan nedenlerin akut koroner sendromlardan ayırt edilmesidir. Günümüzde kullanılan kreatin kinaz-MB troponin I ve troponin T gibi belirteçler miyokardiyal enfarktüste nekroza bağlı olarak yükselmektedir ancak erken miyokardiyal enfarktüs ve kararsız anjina pektoriste yükselmemiştir (1, 2).

Gebelikle ilişkili plazma protein A, insülin benzeri büyüme faktörü I'in spesifik aktivatörüdür. Bu etkiyi insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 4 ve 5'i parçalayarak, insülin benzeri büyüme faktörü I'in serbest kalmasını sağlayarak yapar (3, 4). Akut koroner sendromlu hastalarda insülin benzeri büyüme faktörü I ile gebelikle ilişkili plazma protein A düzeyleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (5).

Gebelikle ilişkili plazma protein A'nın kararsız aterosklerotik plakta üretildiği tespit edilmiştir. Plaktaki düşük yoğunluklu lipoproteinlerin makrofajlarca alınımını ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokin salgısını artırarak plak oluşumunun ilerlemesine ve kararsızlığına neden olduğu bildirilmektedir(6). Bugüne kadar yapılan pek çok çalışmada akut koroner sendromlu hastalar, sağlıklı erişkinlerle karşılaştırıldığında serum gebelikle ilişkili plazma protein A düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (5, 7).

Tüm bu bilgiler göz önünde tutularak çalışmadaki amacımız; gebelikle ilişkili plazma protein A düzeylerinin, yüksek riskli aterosklerotik plağın yırtılıp akut miyokardiyal enfarktüse yol açmadan erken belirteç olarak kullanılmasının önemini ve insülin benzeri büyüme faktörü I ile arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.



## GENEL BİLGİLER

### AKUT KORONER SENDROM

Akut koroner sendrom (AKS), akut miyokart iskemisi sonucu ortaya çıkan semptomların bütünüdür. AKS aterosklerotik plağın yırtılması ve sonrasında oluşan tromboza bağlı koroner arter kan akımının kısmen ya da tamamen engellenmesi sonucu oluşmaktadır. Klinikte kararsız anjina pektoris, ST yükselmeli miyokardiyal enfarktüs ve ST yükselmesiz miyokardiyal enfarktüs olarak karşımıza çıkmaktadır (8).

AKS'larda hedef, erken tanı ve uygun tedavi ile morbidite ve mortalitenin azaltılmasıdır. Ancak tanı ve tedavideki gelişmelere rağmen tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam etmektedir. Koroner kalp hastalıkları tüm ölümlerin üçte birini oluşturmaktadır (9). 2002 yılında tüm dünyada iskemik kalp hastalığı nedeniyle 7.2 milyon kişi ölmüştür (10). Batı Avrupa ülkelerinde ve Kuzey Amerika'da tanı ve tedavideki gelişmeler ve yaşam şekli değişiklikleri (sigara içiciliğinin azalması, kan basıncı ve kan kolesterolünün düşürülmesi) sonucunda koroner kalp hastalığı mortalitesi azalmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde ise koroner kalp hastalığı mortalitesi artmaya devam etmektedir (11). Ülkemizde Türk Kardiyoloji Derneğinin 1990 yılında başlattığı Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasının 10 yıllık izlem verilerine göre yıllık tüm ölüm oranı erkeklerde yüzde 1.23, kadınlarda yüzde 0.8 olarak hesaplanmıştır. Koroner kalp hastalıklarından yıllık ölüm oranı erkekler için yüzde 0.52, kadınlar için yüzde 0.32 bulunmuştur. Bu oran Avrupa ülkeleri arasında en yüksek düzeydedir. Ülkemizde tüm ölümler arasında kalp hastalıkları ilk sırada yer almaktadır (12). TEKHARF çalışmasının 2007 taraması verilerine göre ülkemizde tüm nedenli ve kardiyovasküler kökenli ölümlerde gerileme eğilimi olduğu gösterilmiştir. Kırsal kesimde oturanlarda ölümler, kentlilere kıyasla yüksekliğini korumaktadır (13).

### Etiyoloji ve Patofizyoloji

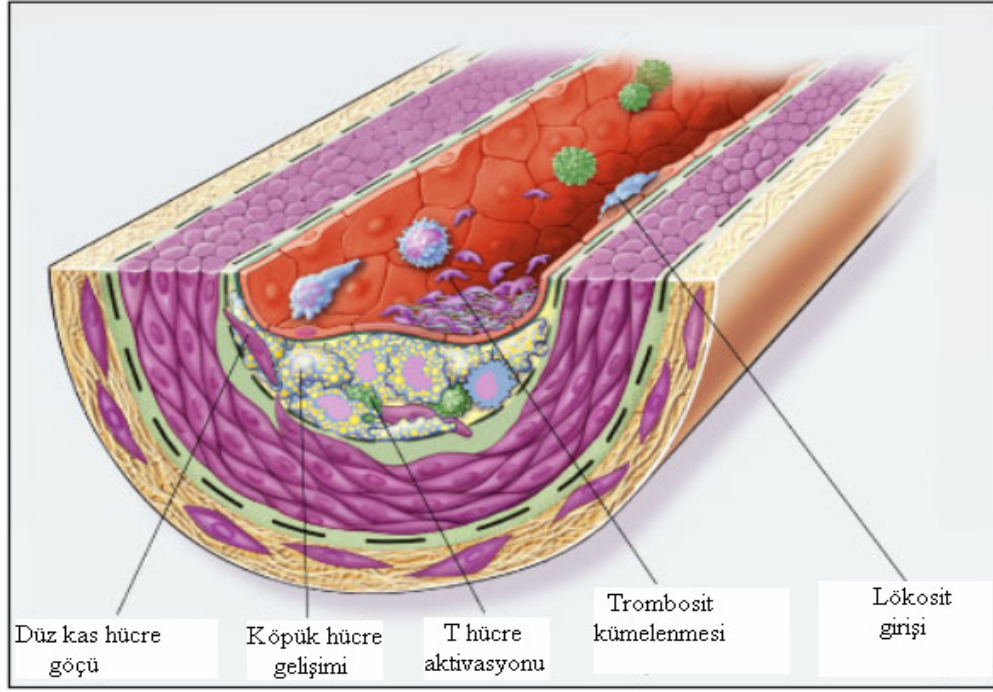
AKS'larda ortak etiyoloji, ateroskleroz zemininde gelişen koroner plakların koroner arterleri kısmen ya da tamamen tıkanmasıdır (14, 15). Müller ve arkadaşları

AKS'a neden olabilecek potansiyeldeki plakları hassas plak olarak tanımlamışlardır (16).

Kararsız anjina pektoris ve miyokardiyal enfarktüste aterosklerozun akut komplikasyonu olan trombozis rol oynar. Akut trombotik olayların patofizyolojisinde ise inflamasyon yer almaktadır (17). Aterosklerotik plağın oluşumu lipid birikimi, endotel disfonksiyonu ve inflamasyonu içeren karmaşık bir süreçtir. Plak oluşumunu başlatan mekanizma henüz tam olarak anlaşılammıştır. Fakat aterosklerozun erken döneminde dolaşımdaki düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), arter duvarının en iç tabakasında (intima) okside olur (9). Okside LDL'nin kompleman faktörlerinin üretilmelerine ve aktivasyonlarına yol açtığı ve bu yönüyle endotel işlevlerini bozan önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (18). Modifiye LDL adı da verilen okside LDL, lipoproteindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu apolipoprotein B-100'deki lizin kalıntılarının değişimi ile ortaya çıkar (19). Okside LDL makrofajlar tarafından alınır ve köpük hücreleri oluşur. LDL'lerin damar duvarında birikmesi ile aterosklerozun öncül şekli olan yağlı çizgilenmeler oluşur (20). Yağlı çizgilenmeler çocukluk döneminden itibaren görülmeye başlar (9). Lipid yüklü köpük hücreleri apoptozise uğramakta ve nekrotik bir çekirdek oluşmaktadır. Bazı plaklarda da kalsiyum toplanmakta ve kalsifiye plak oluşmaktadır (21).

Arterlerin özellikle dallanan ve kavisli bölgelerinde oluşan strese bağlı düzensiz kan akımı oluşmaktadır. Bu durum endotelial disfonksiyona ve LDL gibi makromoleküllerin geçirgenliğinin artışına sebep olur. Aterosklerotik lezyonlarda görülen endotelial disfonksiyon; proinflamatuvar ajanların üretimi, vazodilatasyonun bozulması ile ilişkili olup endotel hücrelerinden adezyon moleküllerinin salınmasına sebep olur. Plak oluşumuna arterlerin dallanan ve kavisli bölgelerinde daha sık rastlanılmaktadır (22).

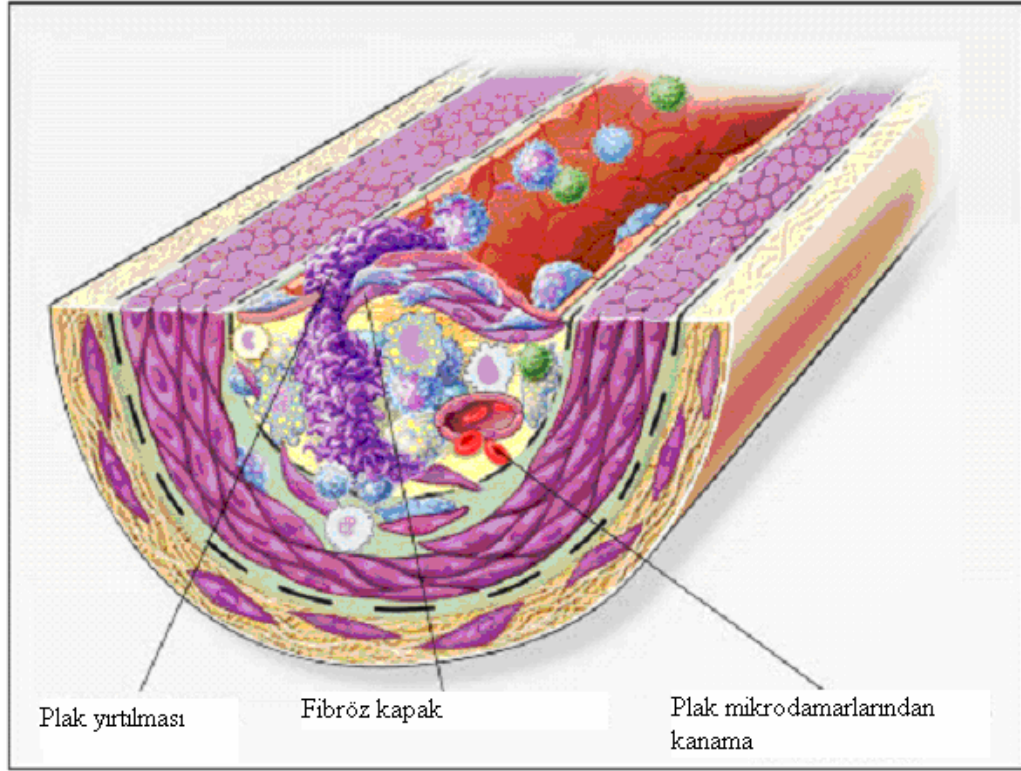
Oluşan plağa başlıca makrofajlar ve T hücreleri olmak üzere inflamatuvar hücreler girer. Bu toplanma damar duvarından ve endotelial hücrelerden adezyon moleküllerinin salınması ile olur. T hücreleri, makrofajlar, endotel ve düz kas hücreleri sitokin salınımını aktive etmektedir (9).



Şekil 1: Plak gelişimi (17).

Aktif makrofajlar ve T hücrelerinden salınan sitokinler, düz kas hücrelerinin arter duvarının orta katından (media) iç katına doğru göç etmesine ve proliferasyonuna sebep olur (Şekil 1). Arter duvarının iç katındaki düz kas hücreleri ekstrasellüler matriks proteinlerini üretir ve lipid çekirdeğini örten fibröz bir kapsül oluşturur (9). Makrofajlardan salınan matriks metalloproteinazlar plak gelişiminin ileri evrelerinde kollajen gibi yapısal proteinleri yıkar ve fibröz kapsülü zayıflatır. Ayrıca aktif makrofajlar ve T hücreleri, düz kas hücrelerinden kollajen üretimini de azaltır. Bu yüzden fibröz kapsülün özellikle makrofajların bol olduğu omuz kısmı yırtılma oluşumuna yatkındır (21).

Akut koroner sendromlarda ortak mekanizma aterosklerotik plak yırtılmasıdır. Bu özellikle lipid çekirdeğini örten makrofajlardan zengin fibröz kapsülün omuz bölgesinde olmaktadır (Şekil 2). Okside lipidleri ve makrofajlardan salınan doku faktörünü (Tissue faktör- TF) içeren plak çekirdeği, yüksek trombojenik materyale etkileşmekte ve plak yapısı bozulmaktadır. TF; trombotik olayların düzenleyicisi bir transmembran glikoproteinidir. TF etkisi ile koagülasyon kaskad mediatörleri salınmakta, trombositler uyarılmakta ve arter içinde trombüs oluşmaktadır (23).



Şekil 2: Plak yırtılması (17).

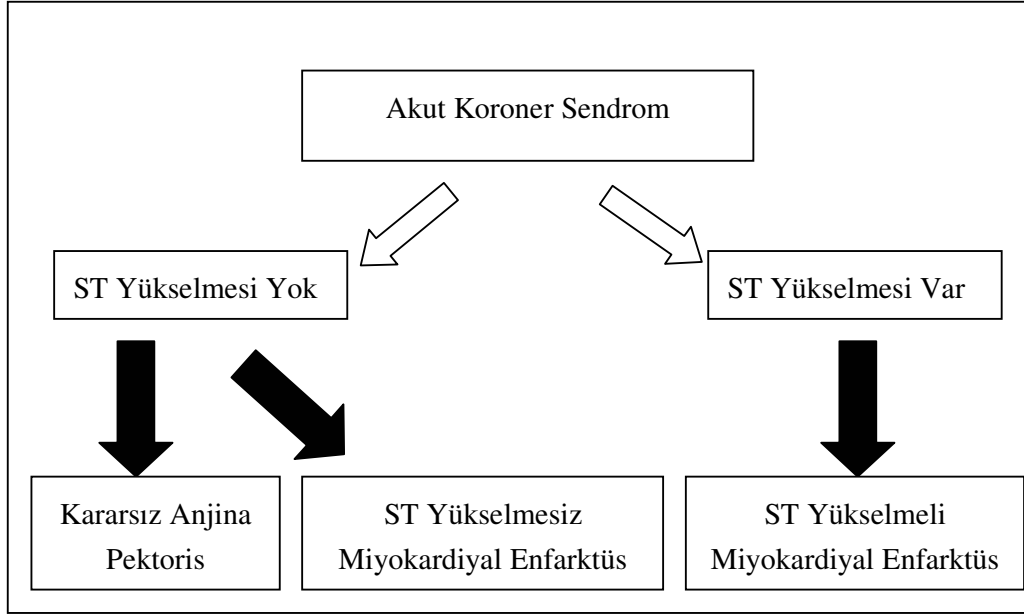
Hassas plağın yırtılması genellikle tetikleyici bir faktör olmadan meydana gelir. Ancak aşırı fiziksel aktivite, ağır duygusal travma ve akut infeksiyon gibi durumlar başlatıcı faktör olabilir (24).

Plak büyüdükçe arter lümenini daraltır ve kan akışını kısmen ya da tamamen engeller. Sonuçta fiziksel egzersiz gibi oksijen ihtiyacının arttığı durumlarda oksijenlenmenin yetersizliğine bağlı olarak göğüs ağrısı ve miyokart iskemisi oluşur (9).

### **Sınıflandırma**

Akut koroner sendromlu hastalar elektrokardiyografi (EKG) görüntülerine göre iki gruba ayrılır. EKG’de ST segmentinin yükselmesi ST yükselmeli miyokardiyal enfarktüs, sürekli veya geçici ST segment çökmesi veya T dalgası değişikliği ya da EKG değişikliği olmaması ST yükselmesiz AKS olarak isimlendirilir. ST yükselmesiz AKS’lar kararsız anjina pectoris ve ST yükselmesiz miyokardiyal

enfarktüs olmak üzere ikiye ayrılır (9, 25,26) (Şekil-3).



Şekil 3: Akut Koroner Sendromların Sınıflandırılması.

Kararsız anjina pektoris: Son iki ay içinde yeni başlayan veya şiddeti, süresi ve sıklığı giderek artan ya da enfarktüsten sonra olan tüm anjinal şikayetler kararsız anjina pektoris olarak isimlendirilir (26). Kararsız anjina pektoriste miyokardiyal nekroz henüz gelişmemiştir. Bu açıdan erken dönemde tanı ve tedavi ile miyokart nekrozu önlenebilmektedir.

ST yükselmesiz miyokardiyal enfarktüs: AKS şikayetlerine ilave olarak biyokimyasal kardiyak belirteçlerin yüksekliğinin eşlik ettiği ancak EKG’de Q dalgasının görülmediği akut koroner sendrom tipidir. ST yükselmesiz miyokardiyal enfarktüsde nekroz subendokardiyaldir. Koroner arter trombus ile tama yakın tıkanmıştır ancak kendiliğinden ya da trombolitik tedavi ile açılmıştır (25).

ST yükselmeli miyokardiyal enfarktüs: ST yüksekliği ile seyreden akut koroner sendromdur. ST yükselmeli miyokardiyal enfarktüsde trombus koroner arteri tam olarak tıkamakta ve oluşan nekroz transmural olmaktadır. Koroner arterdeki tıkanıklık ST yükselmesiz miyokardiyal enfarktüse göre daha proksimaldedir ve

prognoz daha kötüdür. ST yükselmeli miyokardiyal enfarktüs geçirenlerde yeni bir enfarktüs geçirme riski fazladır (25).

### **Risk Faktörleri**

Koroner kalp hastalığı risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemez faktörler olarak iki gruba ayrılır. 2004 yılında 52 ülkede tüm coğrafik bölgelerden ve etnik gruplardan bireyleri içeren vaka-kontrol çalışmasında dokuz değiştirilebilir risk faktörü açıklandı (27). Bunlardan hiperlipidemi, sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet, abdominal obezite ve psikolojik faktörler riski artırırken günlük sebze ve meyva tüketimi, egzersiz ve alkol koruyucu rol oynamaktadır (27).

Değiştirilemeyen risk faktörleri ise ileri yaş, heredite, cinsiyet ve etnik kökendir (27).

### **Klinik**

Akut koroner sendrom klinikte çok çeşitli semptomlarla karşımıza çıkar (25). Bunlar dinlenme ya da egzersiz sırasında oluşan göğüs, epigastrik, kol, bilek ya da çene ağrısıdır. Akut miyokardiyal enfarktüste ağrı en az 20 dakika sürer. Ağrı genellikle orta ya da sol göğüstedir ve kola, çeneye, sırtta ya da omuza yayılabilir. Ağrıya nefes darlığı, terleme, bulantı, kusma, bayılma hissi ya da bayılma eşlik edebilir ya da bu semptomlar göğüs ağrısı olmadan görülebilir. Özellikle yaşlı ve diabetes mellitus olan hastalarda semptomlar atipiktir ve sessiz miyokardiyal iskemi siktir (28, 29).

### **Tanı**

Göğüs ağrısı ile acil servise başvuran hastalarda AKS tanısı iskemik komplikasyonlar ve yüksek kardiyak ölüm riski açısından hızla konulmalıdır. Göğüs ağrısı olan hastanın değerlendirmesinde ilk olarak klinik öykü alınmalı, fizik muayene yapılmalı, EKG değerlendirilmeli ve biyokimyasal belirteçler istenmelidir (30, 31). EKG'nin akut miyokardiyal enfarktüs tanısındaki duyarlılığı % 55 – 75'dir (32). Biyokimyasal belirteçlerin ise AKS tanısında diğer tanısal yöntemlerden üstün olduğu belirtilmiştir (33). Erken dönemde kardiyak belirteçler istenmelidir. ST

segment yükselmesi olmayan ve ilk başvuru sırasında troponin düzeyleri normal olan hastalarda altıncı ve onikinci saatlerde tekrar troponin düzeyi ölçülmesi önerilmektedir (30).

Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) ve Amerika Kardiyoloji Komitesi (ACC) 2000 yılında miyokardial enfarktüs tanı kriterlerini tekrar yayınladı (25).

1. Miyokardiyal nekrozu gösteren biyokimyasal belirteçlerde tipik yükselme ve kademeli düşme (troponin) ya da daha hızlı yükselme ve düşmeyle (CK-MB) birlikte aşağıdakilerden en az bir tanesinin olması;

- iskemik semptomlar,
- EKG'de patolojik Q dalgası görülmesi,
- EKG'de iskemiyi gösteren değişiklikler (ST segment yükselmesi ya da çökmesi),
- Koroner artere girişim yapılmış olması.

2. Akut miyokardiyal enfarktüsün patolojik bulguları.

## **BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER**

Akut miyokardiyal enfarktüsün erken tanısı hem biyokimya hem de kardiyoloji uzmanları için en heyecan verici araştırma alanlarından biridir. Yıllar içinde bu alandaki gelişmeler oldukça fazladır. İlk olarak 1954'de La Due ve arkadaşları aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz gibi biyokimyasal belirteçlerin kullanılabileceğini belirtmişlerdir (34). Daha sonraki yıl bir grup araştırmacı laktat dehidrojenazın ve 1960 yılında Dreyfus ve arkadaşları kreatin kinazın akut miyokardiyal enfarktüs tanısında kullanılabileceğini belirtmişlerdir (35, 36). 1975'de miyoglobinin ilk olarak radyoimmünassay ile ölçülmüş ve 1990'ların başında nefelometrik yöntem kullanılmaya başlamıştır (37, 38). Cummis ve arkadaşları 1987 yılında ilk kez troponin I'nın kullanımını rapor etmişlerdir (39). Şu an için elimizdeki tarama yöntemleri akut olayı öncesinde tanımaya yeterli değildir. Bu sebepten dolayı son yıllarda hassas plağın oluşum evrelerinde tanınmasını sağlayan biyokimyasal belirteçler araştırılmaktadır (40).

## **Miyoglobin**

Miyoglobin 17 kilodalton (kDa) ağırlığında, hem grubu içeren, kalp kası ve çizgili kasta bulunan sitoplazmik bir proteindir. Miyoglobin düşük molekül ağırlıklı olması ve hücre içi yüksek konsantrasyonda bulunmasından dolayı miyokardiyal enfarktüsden 1 – 3 saat sonra kanda hızla yüksek düzeylere ulaşır. Miyoglobin 5 – 10. saatte pik seviyesine ulaşır ve 24 – 36 saat içindedir normale döner (41). Miyoglobin hala erken belirteç olarak kullanılmaktadır. Ancak miyoglobinin iskelet kasında bulunması tanı özgüllüğünü kısıtlar. Semptomların ilk 4 – 8 saatleri içinde diğer biyokimyasal belirteçler yükselmedikçe akut koroner sendrom lehine yorumlanmamalıdır. Miyoglobinin 2 – 6 saatler arasında seri olarak çalışılması duyarlılığını > 90'lara çıkarabilir (42). Başlangıçta troponin düzeyi negatif hastalarda miyoglobin düzeyindeki artış tanıda önemlidir (43).

## **Kreatin Kinaz**

Kreatin kinaz (CK) yüksek enerjili fosfatın adenozin trifosfattan kreatine transferini katalize eden ve kas hücrelerinin mitokondri ve sitozölü içinde bulunan bir enzimdir. Kreatin kinaz M ve/veya B alt ünitelerinden oluşan dimerik bir moleküldür. CK – BB, CK – MB, CK – MM olmak üzere 86 – 89 kDa ağırlığında üç izoenzimi vardır. CK – MM düz kasta, CK – BB beyinde ve aynı zamanda böbreklerde bulunur. CK – MB yüksek düzeyde kalpte daha düşük düzeyde iskelet kasında bulunur ve miyokardiyal enfarktüs tanısında kullanılır. Akut koroner sendrom tanısında CK – MB ölçümünün dezavantajı iskelet kası hasarında da yükselmesidir. CK – MB'nin serum (CK – MB1) ve doku (CK – MB2) tipi olmak üzere iki izoformu vardır. CK – MB2'nin 1 U/L üzerinde olması veya CK – MB1'e oranı 1.5'in üzerinde olması akut koroner sendrom lehinedir (44, 45). CK – MB ölçümü enzim aktivitesi olarak veya kütle düzeyi olarak yapılabilir. Kütle ölçümü ilk olarak 1985 yılında Chan ve ark. tarafından anti CK – M ve anti CK – B kullanılarak yapılmıştır (46).

Miyokardiyal enfarktüsün başlangıcından 3 saat sonra CK – MB düzeyinde artış görülmektedir. En yüksek düzeyine 24 saatte ulaşır ve 36 – 72 saat içinde normal düzeylerine iner (47). Akut miyokardiyal enfarktüs tanısında CK – MB seri yapılan ölçümleri 20 yıldan daha uzun süre altın standart olarak kullanılmıştır (9).



Ancak şimdi kardiyak spesifik troponinler iskelet kası hasarında da yükselen CK – MB'nin yerini almıştır (25).

## **Troponin**

Troponin kompleksi iskelet kası ve kalp miyofibrillerindeki aktin-miyozin etkileşiminin kalsiyuma bağlı düzenlenmesinde rol alır (48). Bu kompleks tüm çizgili kas hücrelerinde bulunur, düz kas hücrelerinde bulunmaz. Troponin kompleksinin üç alt birimi vardır: bunlar troponin T (Tn T), troponin I (Tn I) ve troponin C (Tn C)'dir. Tn T, kompleksin tropomiyozine bağlanmasını sağlar. Tn C, kalsiyum bağlayıcı alt birimdir, kas kasılması sırasında fibrillerin aktivasyonunu düzenler. Tn I kalsiyum yokluğunda kasılmayı engeller bunu aktin – miyozin etkileşimini inhibe ederek yapar (9).

Tn I'nın farklı genlerde kodlanan üç alt tipi vardır. Kardiyak alt tipi (cTn I) 23.9 kDa ve 209 aminoasitten oluşan en büyük alt tipidir. Diğer kaslarda bulunmaz kalbe özgüdür (49). Tn T'nin farklı genlerde kodlanan kalp kasına (cTn T), hızlı ve yavaş iskelet kasına özgü alt tipleri de vardır (50). Bu yüzden cTn I ve cTn T hızlı ve doğru bir şekilde ölçülebilmektedir. Tn C'nin de ayrı genlerde kodlanan kalp kasına yavaş ve hızlı iskelet kasına özgü alt tipleri vardır. Ancak kalp kasına özgü tip yavaş iskelet kasına özgü tiplerle yüksek düzeyde benzerlik göstermektedir (51, 52).

Kardiyak troponinlerin kan düzeyleri göğüs ağrısının başlangıcından sonra 4. saatte yükselmeye başlamakta, 24 saatte pik değerlerine ulaşmakta ve cTn T 14 gün cTn I 10 gün süre ile yüksek kalmaktadır. cTn T'nin yarı ömrü 120 dakikadır bu da enfarktüs sırasında devamlı salındığını göstermektedir. cTn I'nın yarıömrü ile ilgili doğru bilgi henüz yoktur. Troponinlerin uzamış salınımları reenfarktüs tanısında kullanımlarını kısıtlamaktadır (9). Troponinler hücrede iki şekilde bulunmaktadır. Sitolozde serbest olarak bulunan % 3 – 5 kadarı miyokart hasarının başında plazmaya geçerken ileri saatlerde kontraktıl yapıya bağlı ve miktarca çok olan kısmı yavaş olarak plazmaya çıkar bu da kanda uzun süre yüksek kalmalarını açıklamaktadır (53).

Troponinler değerlendirilirken yanlış pozitif sonuçların olabileceği

unutulmamalıdır. Yanlış pozitiflik yapan durumlar akut romatizmal ateş (54), amiloidoz (55), kronik böbrek yetmezliği (56), miyokardit (57), perikardit (58), sepsis (59), pulmoner embolidir (60).

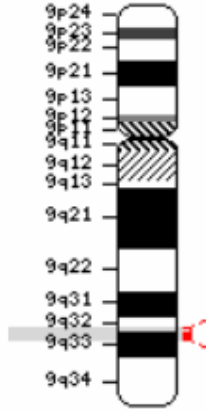
### **Matriks Metalloproteinazlar**

İnflamasyon plak yırtılmasında önemli rol oynar. Akut koroner sendrom ve inflamasyon arasındaki ilişki dikkati inflamatuvar belirteçler üzerine çekmiştir. Yırtılan plaklarda monosit ve makrofaj gibi inflamatuvar hücreler bol miktarda bulunmaktadır. İnflamatuvar hücreler T hücreleri ve mast hücrelerini aktive etmektedir. Aktive olan bu hücreler matriks metalloproteinaz gibi proteolitik enzimler salgılayarak hücre dışı matriksi yıkmaktadırlar. Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko bağlayan endopeptidaz ailesinin bir üyesidir. MMP'lar etki ettikleri substratlara göre (örneğin kollajenazlar, jelatinazlar gibi) gruplara ayrılırlar (61). MMP'ların ateroskleroz gelişiminde önemli rol aldığı kanıtlanmıştır (62). MMP'lar özellikle aterosklerotik plağın makrofajlardan zengin fibröz kapsülün omuz bölgesinde bulunur (63). Yapılan çalışmalarda AKS'lu hastalar sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında MMP düzeyi yüksek bulunmuştur (64, 65). Koroner anjiyografi ile koroner kalp hastalığı tanısı konmuş 1227 hastada yapılan bir çalışmada koroner kalp hastalığı ve MMP-9 düzeyinin arttığı gösterilmiş ve gelecekteki kardiyovasküler nedenlerden ölüm ile ilişkilendirilmiştir (66). MMP'ların plak karasızlığındaki rolü kesin olmakla beraber hassas plağın risk derecelendirmesinde klinik faydasını kanıtlamak ya da çürütmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (40).

### **Gebelikle İlişkili Plazma Protein-A**

Gebelikle ilişkili plazma protein-A (PAPP-A) 1974'de ilk olarak Lin ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (67). Yüksek molekül ağırlıklı çinko bağlayan bir metalloproteinazdır (68, 69). İlk olarak gebelerde yüksek düzeyleri saptanmıştır ve Down sendromunun fetal tanısında kullanılmaktadır (70).

PAPP-A geni 9. kromozomun uzun kolunun 33.1 loküsünde lokalize olmuştur (71) (Şekil 4). 22 ekson içerir (72). PAPP-A 1547 aminoasit rezüdüsünden oluşan bir polipeptiddir (73).



Şekil 4: PAPP-A geninin kromozomal lokalizasyonu (71).

PAPP-A, insülin benzeri büyüme faktörü I'in (IGF-I) spesifik aktivatörüdür. Bu etkiyi IGF bağlayıcı protein 4 ve 5'i parçalayarak, IGF-1'in serbest kalmasını sağlayarak yapar (69, 74).

PAPP-A molekülünün tanımlanması ve tespitinden sonra yapılan ilk çalışmalarda düşük tehditi, ektopik gebelik gibi durumlardaki öngörü değeri ve plasental fonksiyonu araştırılmıştır (75). PAPP-A düzeyleri preeklemtik gebelerde yüksek bulunmuştur hatta hipertansiyon ve albuminüri gelişmeden yüksekliği saptanmıştır. Diabetik gebelerde PAPP-A düzeyleri ile makrozomik plasenta ve yenidoğan arasında ilişki saptanmamıştır. 1990 yıllarında çalışmalar daha çok Down sendromu ile ilişkisini incelemeye yönelik yapılmıştır (75).

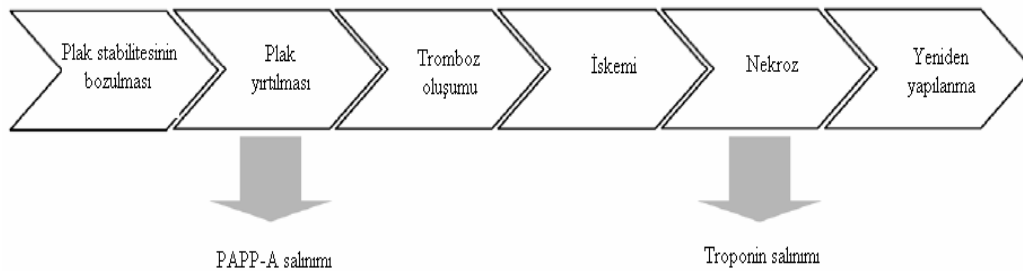
Gebelik sırasında plasentadan salınan PAPP-A, 500 kDa ağırlığında dolaşımında proeozinofilik majör basic protein (proMBP) ile kompleks yapmış 2:2 heterotetramer şeklinde bulunur (76). Ancak gebelikte çok az miktarda (< %1) proMBP ile kompleks yapmamış PAPP-A'ya da rastlanılmıştır (77). PAPP-A'ya kovalent bağlı proMBP, PAPP-A'nın proteaz aktivitesini inhibe eder (78). Gebelik sırasında PAPP-A düzeyi doğuma kadar artmaya devam eder (79). PAPP-A'nın düşük seviyeleri Down sendromu için önemlidir (70) ve birinci trimestır Down sendromu tarama testi olarak yaygın kullanılmaktadır (80). Kompleks PAPP-A gebelik dışında sağlıklı bireylerde de düşük düzeylerde saptanmıştır (81, 82). PAPP-A over, endometrium

ve myometrium gibi reproduktif dokulardan salındığı gibi böbrek, kolon ve kemik iliği gibi reproduktif olmayan dokulardan da salınabilir (83).

PAPP-A'nın gebelikte kompleks bir yapıda bulunması farklı moleküler formların olabileceği görüşünü oluşturmuştur. PAPP-A in vitro yapılan bir çalışmada insan ve domuz koroner arter düz kasından üretildiği tespit edilmiştir (84). Akut koroner sendromda tespit edilen PAPP-A 400 kDa ağırlığında pro-MBP'den yoksun homodimerik aktif izoformudur (75, 85).

Gebelik sırasında PAPP-A ölçümü, gebe serumundan elde edilen monoklonal antikorlar kullanılarak yapılmaktadır (86). Bu ölçüm biri PAPP-A ve diğeri proMBP'ye özgün iki antikor kullanılarak sandwich immun ölçüm yöntemi ile yapılmaktadır (81). Akut koroner sendromda PAPP-A düzeyinin ölçümünde gebelikte kullanılan yöntem uygun değildir (85). Akut koroner sendromda PAPP-A ölçümü için enzim bağlı immunosorbent yöntemi (ELISA – *Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay*) kullanılmaktadır (87).

Gebelikle ilişkili plazma protein-A stabil plaklarda değil stabil olmayan plaklarda tespit edilmiştir (88). PAPP-A plağın instabilite sürecinde rol almaktadır ve bu etkisini IGF-I' i aktive ederek yapar (9). IGF-I LDL geri alımını ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokin salınmasını artırır. Ayrıca vasküler düz kas hücrelerinin göçünü ve çoğalmasını da artırır (89). Matriks metalloproteinaz olan PAPP-A, plak ekstrasellüler matriksinde rol alarak fibröz kapsülün zayıflamasına neden olur (90). İskemi ve nekroz gelişmeden akut koroner sendromun erken döneminde PAPP-A ölçümü faydalı olabilir (91) (Şekil 5).



Şekil 5: Akut koroner sendromun patofizyolojik süreci

## **İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü- I**

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF-I ve IGF-II) büyüme hormonuna bağlı mitojenik ve metabolik etkilerin ortaya çıkmasına aracılık eden peptid ailesidir (92, 93). Somatomedinler de denilen IGF'ler aminoasit dizisi olarak insüline oldukça benzeyen polipeptidlerdir (94). IGF-I 70 aminoasitten oluşan tek zincirli ve molekül ağırlığı 7649 kDa olan bir peptiddir. IGF'ler başlıca karaciğerde üretilir. Ancak bu faktörler vücutta pek çok hücreden sentez edilebilir. IGF'le embriyonik gelişim döneminde başlayan ve yaşam boyu devam eden fizyolojik olaylarda rol alır. Metabolik olaylarda özellikle glukoz metabolizmasında önemlidir. Hücre içine aminoasit alımını ve protein sentezini artırır. IGF-I hücre siklusunun denge içinde olmasını sağlar ve çeşitli hücrelerde apoptozisi engeller (89).

IGF'ler özel membran reseptörlerine bağlanarak etki gösterir. IGF'ler dolaşımında IGF bağlayıcı proteinlerle taşınmaktadır. Yapısal olarak benzer altı bağlayıcı protein tanımlanmıştır (95). Dolaşımında %90'dan fazlası IGF bağlayıcı protein 3 tarafından taşınır (89).

Aterosklerotik plak gelişimi inflamatuvar hücre sızması, düz kas hücre çoğalması, ekstrasellüler matriks birikimi, fibröz kapsül oluşumu ve damar oluşumunu içeren uzun bir süreçte olmaktadır. Aterosklerozda farklı hücrelerden IGF-I salgılır. Aterosklerotik plakta düz kas hücrelerinde, inflamatuvar hücrelerde ve arter endotel hücrelerinde IGF reseptörleri gösterilmiştir (89).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda IGF-I'nin yüksek düzeyleri ile prostat, meme, kolorektum ve akciğer kanserleri ile korelasyonu gösterilmiştir (96, 97). IGF-I kalp miyozitlerindeki içeren birçok hücrenin büyümesi ve gelişmesinde rol oynar (98, 99). Ayrıca IGF-I'nin anabolik özelliklerinden başka, kardiyovasküler riskin göstergesi olabileceği belirtilmektedir (100, 101). Yüksek riskli bireylerde kronik hastalığın önlenmesinde IGF-I ölçümleri yardımcı olabilir (102, 103).

## **İLK BAŞVURUDA BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN KULLANIMI İÇİN ÖNERİLER**

Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi (National Academy Clinical Biochemistry, NACB) akut koroner sendromun erken tanısında biyokimyasal belirteçlerin kullanımı ile ilgili önerileri içeren kılavuz yayınlamıştır (104). Bu kılavuzda önem derecelerine göre sınıflandırma yapılmıştır.

### **Sınıf I:**

1. AKS şikayetleri olan tüm hastalarda biyokimyasal belirteçler ölçülmelidir.
2. Miyokardiyal enfarktüs şüphelenilen hastalarda öykü, fizik muayene, EKG ve biyokimyasal belirteçler birlikte değerlendirilmelidir.
3. Miyokardiyal enfarktüs tanısında kardiyak troponin ölçümü tercih edilir. CK-MB kütle kardiyak troponin ölçülemediği zaman ölçülmelidir.
4. Hastaneye başvurudan sonra seri olarak örnek alınmalıdır. Hastaların çoğunda hastaneye başvuruda örnek alınmalı ve 6 – 9 saat sonra tekrarlanmalıdır.
5. Anlamlı klinik öykü varlığında AKS olabilir, miyokardiyal nekroz ve miyokardiyal enfarktüs tanısı için aşağıdaki kriterler dikkate alınmalıdır.
  - a. Kardiyak troponin düzeyi kontrol grubunun 99 persentilinden yüksek olması
  - b. CK-MB düzeyi ard arda alınan iki örnekte cinsiyete göre normal grubunun 99 persentilinden yüksek olması

### **Sınıf II:**

1. Semptomların başlangıcının ilk 6 saatinde kardiyak troponine ek olarak miyokardiyal nekroz için erken belirteç dikkate alınmalıdır. Myoglobin bu durum için çok çalışılmış bir belirteçtir.
2. Tedavi miyokardiyal nekrozun ayırımına bağlı ise biyokimyasal belirteçler sık ve erken kullanılmalıdır.

### **Sınıf III:**

1. Total CK, CK-MB aktivitesi, aspartat aminotransferaz,  $\beta$ -hidroksibütirik dehidrojenaz ve/veya laktat dehidrojenaz miyokardiyal enfarktüs tanısında biyokimyasal belirteç olarak kullanılmamalıdır.

2. Klinik semptomlar ve EKG bulguları olan hastalarda tanı ve tedavi için biyokimyasal belirteçlerin sonucu beklenmemelidir.

## **ACİL SERVİS VE AKUT KORONER SENDROM**

Akut koroner sendromda görülen en sık şikayet göğüs ağrısıdır. Acil servise karın ağrısından sonra en sık başvuru sebebi göğüs ağrısıdır. ABD’de 2000 yılında yapılan bir çalışmada, acil servise göğüs ağrısı şikayeti ile başvurular tüm başvuruların %5.4’ünü oluşturmaktadır. Göğüs ağrısının klinik olarak önemi kalp dışı sebeplerin akut koroner sendromdan ayırt edilmesidir (105).

Akut koroner sendrom tanısının erken dönemde konulması sonucunda trombolitik tedavi ve girişimsel tedavi yöntemlerinin zamanında yapılması ile morbidite ve mortalite oranı azaltılmaktadır. Acil servise AKS nedeni ile başvuruların % 4-6’sında AKS tanısı atlanarak hastalar farklı tanıları ile taburcu edilmektedir (106).

Acil servise akut koroner sendrom nedeni ile başvuruların üçte birinde şikayetler atipiktir ve yaklaşık yarısında EKG değişiklikleri AKS’a özgün değildir. Bu yüzden biyokimyasal belirteçlere çok sık başvurulmaktadır.

Miyokardiyal enfarktüs gelişmeden önce dolaşımda saptanabilecek biyokimyasal belirteçlere ilgi çok fazladır (107). Günümüzde kullanılan kreatin kinaz-MB ve troponin gibi belirteçler miyokardiyal enfarktüsde yükselir ancak erken miyokardiyal enfarktüs ve kararsız anjina pektorisde yükselmemektedir (1, 2). Bu yüzden acil serviste AKS tanısı dışlanamayan hastalarda 6 saat sonra ikinci bir troponin çalışılmaktadır. Yoğun bir acil serviste bu bekleyişten kurtaracak belirteçler oldukça yararlı olacaktır. AKS’un erken döneminde yükselecek bir belirteç hem klinisyenin iş yükünü hafifletecektir hem de gereksiz yatışı engelleyecek ve maliyetin düşürülmesini sağlayacaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### GEREÇ

### ÇALIŞMA GRUBU

Mart 2008 - Haziran 2008 tarihleri arasında, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Acil servisine göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran, yapılan muayene ve tetkik sonuçlarına göre AKS tanısı konularak Kardiyoloji servisine yatırılan, 36-88 yaş arası 7 kadın, 34 erkek, toplam 41 hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu, hasta grubuna yaş ve cinsiyet olarak benzer, aynı dışlama kriterlerine uyan ve göğüs ağrısı şikayeti ile acil servise başvuran ancak yapılan muayene ve tetkikler sonucunda AKS tanısı dışlanan 39 bireyden oluşturuldu.

Çalışma öncesi Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'nun onayı alındı. Ayrıca çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" ile yapılacaklar hakkında bilgi verildi ve gönüllü olduklarına ilişkin imzaları ile izinleri alındı.

Çalışmaya katılan bireylerin anamnez ve fizik muayeneleri Acil Tıp Anabilim Dalı tarafından ilk başvurularında yapıldı. Hasta grubunun anjiyografileri ise Kardiyoloji Anabilimdalı anjiyografi laboratuvarı doktorları tarafından uygulandı.

Muayeneden hemen sonra hastalara anket yapıldı. Anket sırasında katılımcıların yaş, boy, kilo, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, böbrek yetmezliği, kronik enflamatuvar hastalıklar, akut miyokardiyal enfarktüs öyküsü, serebrovasküler olay öyküsü, kalp hastalığı açısından aile öyküsü ve sigara kullanımını içeren konular detaylı bir şekilde sorgulandı. Muayene sonrasında hastalardan kan numuneleri alındı. Fizik muayene, EKG bulguları, laboratuvar sonuçları ve anket formundan elde edilen bilgiler sonucunda, EKG'de ST segment yüksekliği, akut ve kronik enflamatuvar hastalık, böbrek yetmezliği, otoimmün hastalık, gebelik ve ilk troponin I düzeyi  $\geq 0.2$   $\mu\text{g/L}$  tespit edilen hastalar çalışmaya alınmadı.



Çalışma için hasta grubunda 61 kişi, kontrol grubunda ise 41 kişi değerlendirilmeye alındı. Hasta grubunda 15 kişi troponin I düzeyi  $\geq 0.2 \mu\text{g/L}$ , 3 kişi akut enfeksiyon, 2 kişi kronik inflamatuvar hastalık saptandığı için çalışma dışı bırakıldı ve sonuçta 41 kişi çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubunda ise, 2 kişide akut enfeksiyon tespit edildi ve çalışma dışı bırakıldı, sonuçta 39 kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

## **KULLANILAN CİHAZLAR**

- Masa üstü santrifüj (NF 1215, Nüve, Türkiye)
- Vorteks/Spin santrifüj (FVL-2400N, Biosan, Letonya)
- -20 °C Derin dondurucu (Beko, Türkiye)
- +4 °C Buzdolabı (Vestel, Türkiye)
- Ayarlanabilir otomatik pipet seti (1-10  $\mu\text{L}$ , 10-100  $\mu\text{L}$ , 100-1000  $\mu\text{L}$ ) (CLP, ABD)
- Çok kanallı otomatik pipet (30-300  $\mu\text{L}$ ) (CLP, ABD)
- ELISA okuyucu (Digital and Analog System (das), İtalya)
- Innotrak Aio Otaanalizör (Time resolved florometri, Finlandiya)
- Immulite 2000 (Immunoassay Analyzer, ABD)

## **KULLANILAN SARF MALZEMELER**

- 10-100  $\mu\text{L}$ , 20-200  $\mu\text{L}$ , 100-1000  $\mu\text{L}$ 'lik pipet uçları (CLP, ABD)
- 1.5 mL'lik Eppendorf mikro tüpler (ISOLAB, Almanya)
- Jelli vakumlu düz tüpler (VACUTEST, İtalya)
- EDTA'lı vakumlu tüp (VACUETTE, UK)

## **YÖNTEMLER**

Çalışmaya dahil edilen 80 hastadan hastaneye ilk başvuru anında Troponin I ölçümü için EDTA'lı tüplere, PAPP-A ve IGF-I ölçümleri için vakumlu jelli düz tüplere kan alındı. Kanlar alındıktan hemen sonra laboratuara ulaştırıldı. Troponin I ölçümleri aynı gün hemen yapıldı. Düz tüplere alınan kanlar 20 dakika oda ısısında pıhtılaşması beklendikten sonra, 1000 gravite (g)'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplere ayrılarak analiz yapılana kadar -20 °C'de

saklandı. Tüm hastalardan hastaneye başvurunun 6. saatinde tekrar Troponin I ölçümü için EDTA'lı tüplere kan alındı ve ölçüm hemen yapıldı.

### **Troponin I Çalışma Yöntemi**

Ölçüm EDTA'lı tüplere alınan tam kan örnekleri ile yapıldı.

Tam kan troponin I düzeyleri, Innotracs Aio Immunoanalyzer cihazında, immunoflorometrik yöntemi ile ölçüldü.

Ölçüm kaplarında hareketsiz hale getirilmiş troponin I monoklonal antikorları ve işaretli antikorlar mevcuttur. Örnek pipetlendikten sonra 15 dakika inkübasyon süresi vardır. Bu süre sonunda ölçüm kabı otomatik olarak yıkanır. *Europium* ile işaretlenmiş antikordardan gelen sinyaller zaman ayarlı florometri ile ölçülür. Troponin I konsantrasyonu direk olarak ölçülen *europium* sinyali ile doğru orantılıdır.

### **IGF-I Çalışma Yöntemi**

Serum IGF-I düzeyleri, Immulite 2000 cihazında, solid faz, enzim bağlı kemilüminesans immunölçüm yöntemi ile ölçüldü. Bu yöntemde Immulite test ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, IGF-I için özgün monoklonal murin antikoruna ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve protein/tampon matrisi test ünitesine eklenir ve 37 °C yaklaşık 20 dakika bekletilir. Bu sürede hasta örneğindeki IGF-I monoklonal antikor kaplı boncuğa bağlanır, bağlanmayan serum sentrifugal yıkama ile ayrılır. Daha sonra alkalen fosfataz bağlı poliklonal sığır anti-IGF-I antikoruna eklenir ve test ünitesi 20 dakika daha bekletilir. Bağlanmayan enzim konjugatı santrifugal yıkama ile ayrılır. Test ünitesine substrat eklenir ve 10 dk bekletilir. Kemilüminesans substrat alkalen fosfataz ile hidrolize olur ve ürün oluşur. Oluşan ürün etrafına ışın yayır. Yayılan ışın miktarı (fotonlar) luminometrede okutulur. Luminometrede okunan ışın miktarı ile örnek içindeki IGF-I düzeyi doğru orantılıdır.

### **PAPP-A Çalışma Yöntemi**

PAPP-A düzeyleri "ACTIVE PAPP-A ELISA" kiti ile serumdan manuel yöntemle çalışıldı. Kullanılan yöntem Sandwich ELISA immün yöntemidir.

### **Active PAPP-A ELISA Kiti (DSL, ABD)**

- PAPP-A Standartları (A= 0 mIU/mL, B= 0.1 mIU/L, C= 0.3 mIU/L, D= 1 mIU/L, E= 3 mIU/L )
- Düşük/Yüksek kontroller
- Mikrotitrasyon stripleri (her biri 8 kuyucuklu 12 adet strip)
- Tampon H
- Durdurma solüsyonu (0.2 M Sülfirik asit)
- 10X Yıkama tamponu (koruyucu olarak NaCl içeren tamponlanmış solüsyon içinde noniyonik deterjan)
- Substrat solüsyonu (tetrametilbenzidin)
- Enzim konjugat (Horsadish peroksidaz bağlanmış liyofilize anti-PAPP-A antikoru)

### **PAPP-A Reaktiflerinin Hazırlanması**

Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi.

Çalışmanın yapılacağı gün 10X yıkama tamponunu deiyonize su ile 1:10 seyreltilerek hazırlandı.

Çalışmadan 15 dakika önce liyofilize enzim konjugat, tampon H ile 1:50 seyreltilerek enzim konjugat solüsyonu hazırlandı. Kullanılana kadar 18-28 °C’de saklandı.

Liyofilize şekilde bulunan standart A 2 mL deiyonize su ile standartlar B – G 0.5 mL deiyonize su ile hazırlandı.

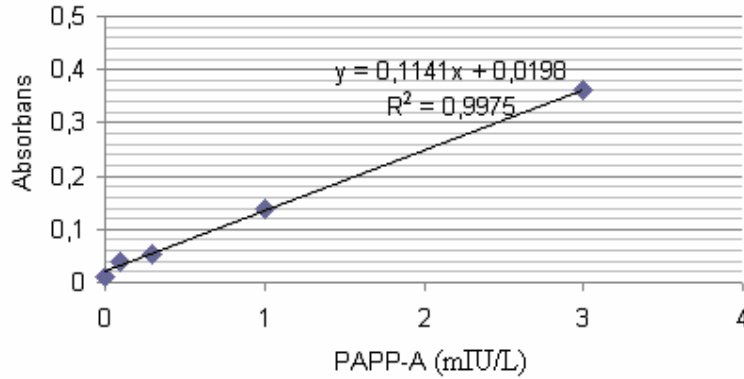
PAPP-A düşük düzey kontrol ve yüksek düzey kontrol 0.5 mL deiyonize su ile hazırlandı.

## PAPP-A Çalışma Basamakları

Serumlar -20 °C'den oda ısısına getirildi. Çözünmesi tamamlandıktan sonra vortekslendi.

1. Plakadaki 96 kuyucuğa, standart, kontrol ve serum örneklerinden 10 µL pipetlendi.
2. Üzerine 100 µL tampon H solüsyonu eklendi.
3. 18-28 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
4. Plaklar boşaltıldıktan sonra 0.35 mL yıkama solüsyonu eklenerek 5 kez 1 dakika yıkandı. Yıkama ile bağlanmamış olan antikorlar uzaklaştırıldı.
5. Enzim konjugat solüsyonundan her kuyucuğa 100 µL eklendi.
6. 18-28 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
7. Plaklar boşaltıldıktan sonra 0.35 mL yıkama solüsyonu eklenerek 5 kez 1 dakika yıkandı.
8. Her kuyucuğa tetrametilbenzidin kromojen solüsyonundan 100 µL eklendi. Plak üzeri gün ışığı almayacak şekilde kapatıldı.
9. 18-28 °C'de 20 dakika inkübe edildi.
10. Plaktaki renk değişikliği gözlemlendikten sonra 100 µL durdurma solüsyonu eklendi.
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonraki 30 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

Çalışılan PAPP-A standartları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.



Şekil 6: PAPP-A kalibrasyon eğrisi

Bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak kontrol serumları ve hasta serumlarındaki PAPP-A düzeyleri belirlendi. Kontrol düzeylerinin kit prospektüsünde verilen aralık içerisinde olduğu görüldü.

Kontrol I = 1.02 (0.95 ± 0.3 sd) mIU/L

Kontrol II= 3.09 (3.25 ± 1 sd) mIU/L

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirmesinde SPSS 11.0 (Chicago, ABD) paket programı kullanıldı. Çalışmadaki değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan ölçümsel değişkenlerin akut koroner sendrom ve kontrol grubu arasındaki fark, bağımsız örneklem t-testi ile analiz edildi ve ortalama ± standart sapma ( $\bar{X} \pm SD$ ) olarak ifade edildi. Normal dağılıma uymayan ölçümsel değişkenlerin, akut koroner sendrom ve kontrol grubu arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile analiz edildi ve ortanca olarak ifade edildi. Ölçümsel olmayan değişkenler bu iki grup arasında Ki-kare analiz yöntemi (Pearson Ki-kare testi) ile değerlendirildi ve % olarak ifade edildi.

Değişkenler arasındaki ilişkinin gücünü belirlemek amacı ile Korelasyon analizi yapıldı. Korelasyon analizinde r (pearson korelasyon katsayısı) değeri 0.000-0.49 aralığı zayıf ilişki, 0.50-0.69 aralığı orta ilişki,  $\geq 0.70$  olanlar güçlü ilişki olarak kabul edildi.

PAPP-A düzeylerinin AKS'da klinik duyarlılık ve özgüllüğünü göstermek için ROC eğrisi (*receiver operating characteristic curves*) çizildi. Eşik değeri belirlenerek duyarlılık ve özgüllük hesaplandı. Tüm istatistiksel analizler için anlamlılık sınırı  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya 12'si kadın, 27'si erkek, toplam 39 kontrol ve 7'si kadın, 34'ü erkek toplam 41 AKS hastası dahil edildi. Çalışma grubunun özellikleri Tablo – 1'de görüldüğü gibidir. AKS grubunda sigara içme alışkanlığı kontrol grubundan anlamlı yüksektir (p=0.001). Diabetes mellitus, hipertansiyon, ailesel kalp hastalığı öyküsü, hiperlipidemi gibi risk faktörlerine sahip olma oranı açısından ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo – 1). Yaş ve vücut kütle indeksi (VKİ) ortalamaları açısından da iki grup benzerdi (Tablo – 1).

Tablo 1: Hasta grubu ile kontrol grubunun özelliklerinin karşılaştırılması\*

| Değişken                      | Hasta (n=41)<br>( $\bar{X} \pm SD$ ) | Kontrol (n=39)<br>( $\bar{X} \pm SD$ ) | p değeri      |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|---------------|
| Yaş (yıl)                     | 57.39 ± 12.70                        | 58.87 ± 12.99                          | 0.607         |
| Erkek/Kadın oranı             | 34/7                                 | 27/12                                  | 0.192         |
| VKİ (kg/m <sup>2</sup> )      | 28.3 ± 2.74                          | 27.41 ± 3.90                           | 0.221         |
| Sigara içme oranı [n (%)]     | 28 (68.3)                            | 7 (17.9)                               | <b>0.0001</b> |
| Ailesel kalp hikayesi [n (%)] | 19 (46.3)                            | 11 (28.2)                              | 0.110         |
| Diabetes mellitus [n (%)]     | 8 (19.5)                             | 10 (25.6)                              | 0.597         |
| Hipertansiyon [n (%)]         | 13 (31.7)                            | 19 (48.7)                              | 0.171         |
| Hiperlipidemi [n (%)]         | 12 (29.3)                            | 6 (15.4)                               | 0.183         |

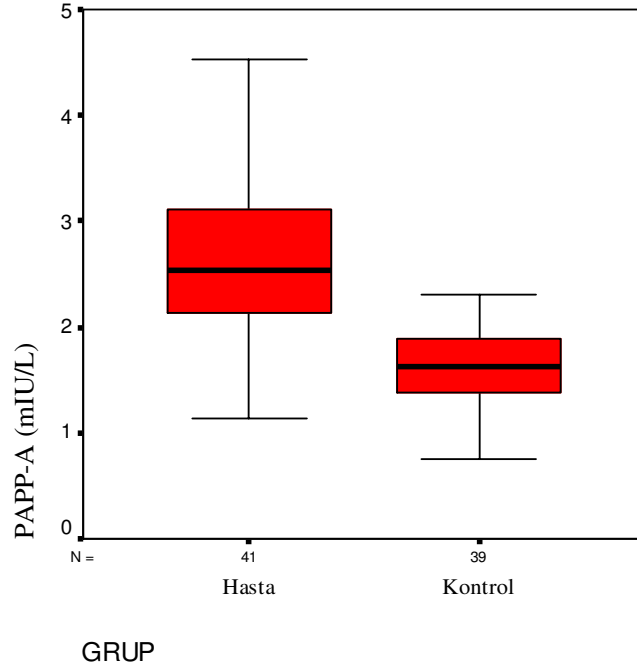
\* : Gruplar arası yaş ve VKİ düzeylerindeki farklılık bağımsız örneklem t-testi, cinsiyet farklılığı, sigara, ailesel kalp hikayesi, Diabetes mellitus, hipertansiyon ve hiperlipidemi varlığı Ki-kare testi ile değerlendirilmiştir.

( $\bar{X} \pm SD$ ): ortalama ± standart sapma.

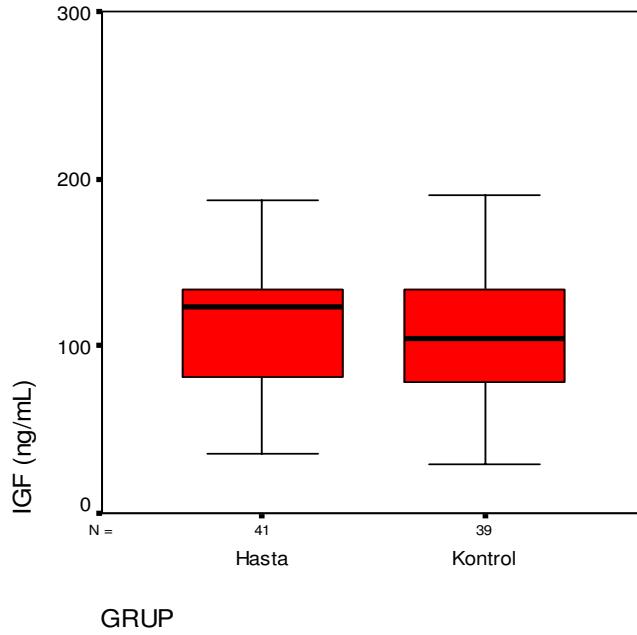
Hasta grubunun serum PAPP-A düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.001). Serum PAPP-A düzeylerinin hasta grubundaki ortalama değeri 2.53 mIU/L , veri aralığı 1.13-4.63 mIU/L; kontrol grubundaki ortalama değeri 1.62 mIU/L, veri aralığı 0.76-3.01 mIU/L olarak bulundu (Tablo 2) (Şekil 7).

Hasta ve kontrol grubunun serum IGF-I düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı (p=0.882). Serum IGF-I düzeylerinin hasta grubundaki ortalama değeri 111.9 ng/mL, standart sapması 33.4; kontrol grubundaki ortalama değeri 112.1 ng/mL, standart sapması 47.3 olarak bulundu (Tablo 2) (Şekil 8).

Hasta ve kontrol grubunun 0.saat troponin I düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.098$ ). Hasta grubunun 6.saat troponin I düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0.0001$ ) (Tablo 2).



Şekil 7: Kontrol ve hasta gruplarında serum PAPP-A düzeyleri



Şekil 8: Kontrol ve hasta gruplarında serum IGF-I düzeyleri

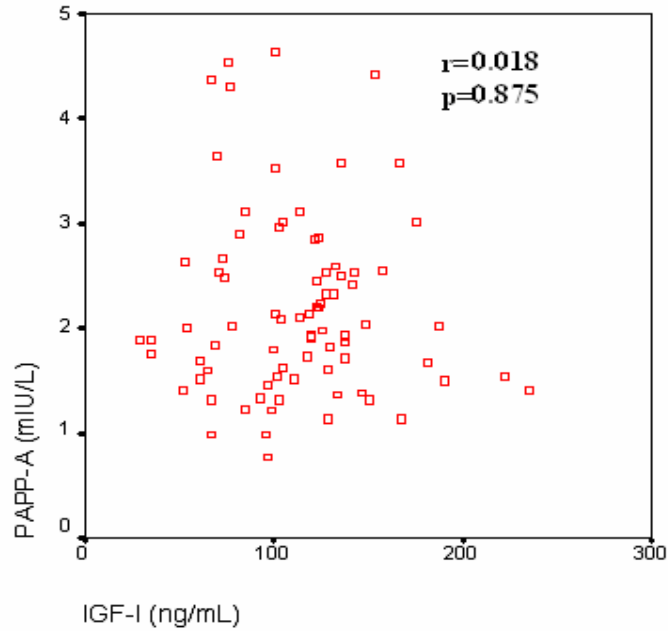
Tablo 2: Hasta grubu ile kontrol grubunun serum PAPP-A ve IGF-I düzeylerinin karşılaştırılması\*

| Değişken                       | K (n=39)<br>H (n=41) | ( $\bar{X} \pm SD$ ) | Veri aralığı | Ortanca | p             |
|--------------------------------|----------------------|----------------------|--------------|---------|---------------|
| PAPP-A (mIU/L)                 | K                    | 1.67 $\pm$ 0.47      | 0.76-3.01    | 1.62    | <b>0.0001</b> |
|                                | H                    | 2.68 $\pm$ 0.89      | 1.13-4.63    | 2.53    |               |
| IGF-I (ng/mL)                  | K                    | 112.1 $\pm$ 47.3     | 29.4-235     | 105     | 0.882         |
|                                | H                    | 111.9 $\pm$ 33.4     | 35.2-187     | 123     |               |
| Troponin I 0.saat ( $\mu$ g/L) | K                    | 0.06 $\pm$ 0.052     | 0.01-0.190   | 0.05    | 0.098         |
|                                | H                    | 0.08 $\pm$ 0.047     | 0.005-0.190  | 0.72    |               |
| Troponin I 6.saat ( $\mu$ g/L) | K                    | 0.04 $\pm$ 0.062     | 0.01-0.187   | 0.04    | <b>0.0001</b> |
|                                | H                    | 12.96 $\pm$ 21.2     | 0.28-100     | 3.62    |               |

\*Hasta ve kontrol grubu Troponin I 0.saat, Troponin I 6.saat ve PAPP-A düzeyleri Mann Whitney U, IGF I düzeyleri bağımsız örneklem t-testi ile değerlendirilmiştir.

H: hasta, K: kontrol, ( $\bar{X} \pm SD$ ): ortalama  $\pm$  standart sapma, Veri aralığı: en küçük ve en yüksek değerler.

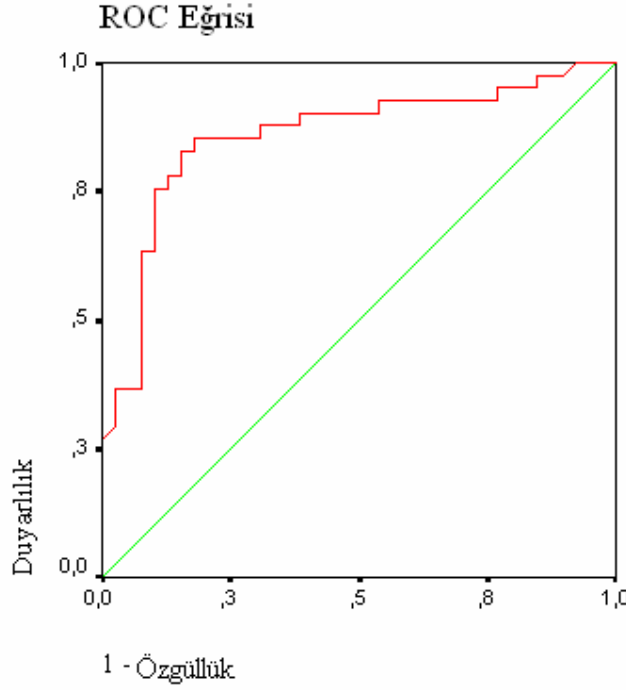
Serum PAPP-A düzeyleri ile IGF-I düzeyleri arasında pozitif yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $r= 0.018$ ,  $p= 0.875$ ) (Şekil 9).



Şekil 9: Serum PAPP-A düzeyleri ile IGF-I düzeyleri arasındaki korelasyon



AKS hastalarının kontrol grubu bireylerinden ayrılmasında PAPP-A düzeylerinin etkinliğini incelemek için ROC eğrisi çizildi (Şekil 10).



Şekil 10: Serum PAPP-A düzeylerinin AKS tanısındaki yeterliliğinin ROC eğrisi ile değerlendirilmesi.

Eğri altında kalan alan 0,858 bulundu ( $p=0.0001$ ). Bu önemli düzeyde yüksek alanı ifade etmektedir.

Akut koroner sendrom tanısı için en yüksek duyarlılık ve özgüllük birlikteliğini sağlayan eşik değeri 1.945 mIU/L bulundu. Eşik değeri 1.945 mIU/L alındığında duyarlılık 0.854, özgüllük 0.821 olarak hesaplandı.

## TARTIŞMA

Acil servise en sık başvuru şikayetlerinden biri göğüs ağrısıdır. Burada en önemli nokta göğüs ağrısının akut koroner sendromdan mı yoksa kalp dışı bir nedenden mi kaynaklandığının ayırt edilmesidir. Bu ayırımı biyokimyasal belirteçlerden faydalanılmaktadır. Yeni akut miyokardiyal enfarktüs tanımına göre miyokart nekrozu ya patolojik olarak ya da biyokimyasal belirteçlerin hastanın kan örneklerinde yükselmesi ile konulmaktadır (25). Bu amaçla kardiyak troponin ve kreatin fosfokinazın kardiyak izoenziminin kullanılması tavsiye edilmektedir. Bu belirteçler miyokardiyal nekrozu gösterdiklerinden dolayı kanda yüksekliklerinin ölçülmesi için semptomların başlangıcından sonra belirli bir süre geçmesi gerekir. Bu yüzden miyokardiyal nekroz gelişmeden önce yükselen bir belirteç hem tedavi etkinliğini artıracak ve hem de gereksiz yatışı engelleyecektir.

İdeal bir kardiyak belirteç risk faktörlerinden bağımsız olmalı, sadece miyokart hasarında ve erken dönemde yükselmeli, hasar düzeyi ile orantılı miktarda artmalı, tekrarlayan hasarı göstermeli, test istek-sonuç alma süresi kısa ve ölçümü standardize edilebilir olmalı, yaygın kullanılmalı ve maliyeti uygun olmalıdır. Bütün bunlar göz önünde bulundurularak yeni belirteçlere ihtiyaç duyulmuştur.

Aterosklerozun patofizyolojisi çok faktörlü ve karmaşık bir süreçtir. Bu sürecin başında inflamasyon rol oynar sonuçta plak stabilitesi bozulur ve plak kapsülü yırtılır. Patolojik çalışmalarda plak yırtılması ve erozyonunun olduğu alanlarda çok miktarda T lenfosit, monosit ve makrofaj gösterilmiştir. Endotel hücre disfonksiyonu sonucu salınan adezyon molekülleri inflamatuvar hücreler ile etkileşime girer. Monosit ve makrofajlardan salınan sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri ve integrinler düz kas hücre proliferasyonuna neden olur. Sonuçta aterosklerotik plak büyür ve oluşan fibröz kapsül matriks yıkımı sonucu zayıflar. Aterosklerozun patogeneziindeki çeşitli moleküller plak kararsızlığını ve yırtılmasını öngörebilir. Bu moleküller ateroskleroz ve klinik durumları için önemli araştırma alanları olmuştur (40).

Son yıllarda hassas plak kavramının ortaya çıkması ile hassas plağın tespiti ve tedavisine yönelik çalışmalar oldukça fazla yapılmaktadır. Bir matriks metalloproteinaz olan PAPP-A, in vitro vasküler hasar oluşturulan düz kas hücrelerinde gösterilmiştir (84). Kalp hastalıkları nedeni ile ölüm sonrası yapılan otopsilerde PAPP-A düzeyi, eroze ve fibröz kapsülü yırtılan aterosklerotik plaklarda stabil plaklara göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur (88). Tüm bu çalışmalarda elde edilen verilere göre PAPP-A aterosklerotik plak kararsızlığını gösteren yeni bir AKS belirteci olabileceği öne sürülmüştür.

Yaptığımız çalışmada göğüs ağrısı şikayeti ile acil servise başvuran troponin I düzeyi negatif olan ve başka herhangi bir AKS bulgusu olmayan ancak takipleri sırasında AKS tanısı ile Kardiyoloji servisine yatan hastalarda (n=41) ve yine göğüs ağrısı olan ve takiplerinde AKS tanısı dışlanan kontrol grubunda (n=39) PAPP-A düzeylerinin tanısal yeterliliğini ve IGF-I düzeyleri ile ilişkisini inceledik.

Çalışmamızda AKS grubunda sigara içme alışkanlığı yüzdesi (68.3) kontrol grubundan (17.9) belirgin olarak yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.0001). Yaş ve vücut kütle indeksi AKS ve kontrol grubunda benzer bulundu. AKS grubunda cinsiyet, ailesel kalp hastalığı hikayesi, hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi diğer risk faktörlerine sahip olguların yüzdesinin kontrol grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 1).

Elde ettiğimiz verilere göre AKS tanısı alan hastalarda acil servise ilk başvuru sırasında ölçülen PAPP-A düzeylerinin ( $2.68 \pm 0.89$  mIU/L) kontrol grubuna göre ( $1.67 \pm 0.47$  mIU/L) yüksekliğinin istatistiksel olarak da anlamlı olması (p=0.0001) çalışmamızın ilk önemli sonucudur (Tablo 2). PAPP-A'nın erken dönemde saptanan bu yüksekliğin AKS gelişme riski ile ilgili olduğu görüşünü desteklemektedir.

Son yıllarda PAPP-A düzeylerinin AKS tanısındaki yerini inceleyen pek çok çalışma yapılmıştır. Lund ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kararsız anjina pektoris tanısı ile hastaneye yatırılan troponin negatif hastalarda yatak başı ölçülen PAPP-A düzeylerinin 2.9 mIU/L'nin üzerinde olmasının erken dönem kötü prognoz ile ilişkili olduğu sonucu bulunmuştur (4). Bu çalışmada PAPP-A düzeyleri

immunoflorometrik yöntem ile ölçülmüştür. Çalışmamızda daha düşük değerlerin bulunmuş olması kullanılan PAPP-A ölçüm tekniğinin farklı olması ile açıklanabilir.

Bayes-Genis ve arkadaşları PAPP-A düzeylerini kararsız anjina pektoris ve miyokardiyal enfarktüs hastalarında, kararlı anjina pektoris ve kontrol grubu hastalarından daha yüksek bulmuştur (88). Kararsız anjina pektoris hastalarında PAPP-A düzeylerinin ortancası 14.9 (6.3-63.4) mIU/L akut miyokardiyal enfarktüs hastalarında ise ortanca 20.6 (9.2-46.6) mIU/L bulunmuştur. Çalışmamızda daha düşük değerlerin bulunması troponin I düzeyi pozitif hastaların çalışma dışı bırakılması ile açıklanabilir.

Elesber ve arkadaşları yaptıkları çalışmada acil servise göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran bir ya da daha fazla risk faktörü olan 59 hastada PAPP-A'nın akut kardiyak iskemi için ek bir belirteç olabileceğini gösterdi. Bu çalışmada pro MBP'ye bağlı olmayan PAPP-A düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü (105). AKS hastalarında PAPP-A düzeyi ortancası 2.0 mIU/L'di ve kardiyak olmayan göğüs ağrılı hastalarla karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ) (105). Bizde çalışmamızda aynı ölçüm yöntemini kullandık ve 41 AKS hastasında PAPP-A düzeyi ortancası 2.53 mIU/L'di ve 39 kontrol hastası ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulduk ( $p=0.0001$ ). Çalışmamızın sonuçları Elesber ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu bulundu.

Bayes-Genes ve arkadaşları kardiyak olay nedeni ile ölen hastaların otopsileri sırasında aldıkları aterosklerotik arter doku örneklerinde immunohistokimyasal yöntemler kullanarak yaptıkları çalışmada fibröz kapsülü yırtılan aterom plaktaki PAPP-A düzeylerini ( $7.1\pm 1.4\text{mm}^2$ ) kararlı aterom plakdan ( $5.7\pm 2.1\text{mm}^2$ ) daha yüksek bulmuştur (88).

Cosin-Sales ve arkadaşları kararlı anjina pektoris hastalarında PAPP-A ve PAPP-A'nın proteaz aktivitesinin inhibitörü olan pro MBP'nin koroner stenoz ile ilişkisini incelemişler (108). PAPP-A düzeylerindeki artış ve PAPP-A/pro MBP oranları ile koroner stenoz arasında ilişki bulurken, C reaktif protein düzeyleri ile koroner stenoz arasında ilişki saptanmamıştır (108). Kararsız anjina pektorisin

etiopatogenezindeki en önemli olay hassas plağın yırtılmasıdır. Aterosklerotik plağın yırtılmaya duyarlılığını belirleyen olaylardan biriside plak içinde gelişen inflamasyondur. AKS tanılı hastaların aterosklerotik plaklarında çok miktarda monosit, makrofaj ve T lenfosit bulunması ve bunların aktive olduğunun gösterilmesi, endotel hasarlanmasında inflamasyonun önemli rolü olduğunu desteklemektedir (40). Proinflamatuvar sitokinlerce yapımı tetiklenen PAPP-A'nın inflamasyon sürecinde rol oynadığı artık açıklık kazanmıştır. Bu nedenle çalışmamızda akut ve kronik inflamatuvar hastalığı olan bireyler çalışma dışı bırakılmıştır.

Resch ve arkadaşları yaptıkları çalışmada doku hasarı ve inflamasyona hücresel yanıtta PAPP-A'nın rol oynadığını bildirmişlerdir (109). Tamir sürecinde tümör nekroz faktörü  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve PAPP-A'nın gen ifadesinin arttığı saptanmış ve bunun sonucunda IGF bağlayıcı protein 4'ün parçalandığı ve IGF-I düzeylerinin arttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak PAPP-A'nın inflamasyon ve hücre hasarına bir yanıt olarak tamir sürecinde rol oynayan bir aracı olduğu ortaya konmuştur (109). PAPP-A'nın kararsız anjina pektoris oluşumunda bir neden mi yoksa sonuç mu olduğu henüz kesinlik kazanmamıştır. Bir taraftan matriks yıkımı yaptığı bilinen bu aracının son çalışmalardaki verilere göre doku iyileşmesinde de rolü olduğu gösterilmiştir (109). Mevcut veriler inflamasyon sürecinde PAPP-A'nın proinflamatuvar sitokinlerce gen ifadesindeki artışın ortaya konulması ve matriks yıkımında etkili olması nedeniyle daha çok bir neden olduğu lehinedir. Bunu matriks yıkımı ile zayıflayan aterosklerotik plaktaki kapsülün yırtılma olasılığını artırarak yaptığı düşünülmektedir. Çalışmamızda troponin I düzeyleri negatifken PAPP-A düzeylerinde yükseklik bulunması PAPP-A'nın miyokardiyal nekroza yanıt olarak üretilmediğini gösterir.

Koroner damarlara stent uygulaması sonrasında gelişen restenozda neointimal hiperplazinin rolü artık bilinmektedir. PAPP-A'nın doku hasarına hücre aracılı yanıtta aracılık etmesi restenoz içinde bir belirleyici olabileceği fikrini düşündürmektedir. Ancak bu konu ile ilgili henüz bir çalışma yapılmamıştır.

Qin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PAPP-A düzeylerinin AKS'lu hastalarda göğüs ağrısı şikayetinin başlamasından itibaren saatler içindeki seyrini araştırdı (110). PAPP-A düzeylerinin AKS hastalarında arttığını göstermişler fakat salınımındaki değişkenliğin fazla olması nedeni ile kullanışlı bir belirteç olamayacağını belirtmişlerdir (110). Lund ve arkadaşları ise ST yükselmeli MI hastalarında erken dönemde ve sık yapılan ölçümlerle PAPP-A düzeylerinin seyrini incelemişler ve başvurudan bir saat sonra en yüksek düzeye ulaştığını üç saat içinde hızla azaldığını ve onikinci saatte normal aralığa düştüğünü göstermişler (111).

Heeschen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PAPP-A düzeylerindeki yüksekliğin troponin düzeyleri negatif AKS hastalarının altı aylık izlemde miyokardiyal enfarktüs gelişme riski için ya da yüksek riskli hastalarda ölüm için bir öngörü sağladığını belirtmişlerdir (112). Beaudoux ve arkadaşları herhangi bir semptomu olmayan karotiste hiper/izoekoik aterosklerotik lezyonu olan hiperlipidemik hastalarda PAPP-A düzeylerini yüksek bulmuşlardır (113).

Dominguez-Rodriguez ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 80 kişiden oluşan akut ST yükselmeli miyokardiyal enfarktüs tanısı alan hastada PAPP-A düzeylerini 80 kişiden oluşan sağlıklı grup ile karşılaştırmıştır (3). İki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır (3). Bu çalışmada PAPP-A ölçümünde Down sendromu taraması için kullanılan yöntemin kullanılmış olması bunun nedeni olarak açıklanabilir.

Bir çok çalışmada kararsız anjina pektoris ve miyokardiyal enfarktüs tanılı hastalardaki PAPP-A düzeyleri sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur (4, 88, 105). Bizde çalışmamızda AKS hastalarında PAPP-A düzeyini yüksek bulduk. PAPP-A düzeylerinin AKS hastalarında tanısal yeterliliğini göstermek için ROC eğrisi çizdik eğri altında kalan alanı 0.858 ( $p=0.0001$ ) olarak hesapladık bu önemli düzeyde yüksek alanı ifade etmektedir. AKS tanısı için PAPP-A eşik değerini 1.945 mIU/L olarak tespit ettik. Bu değerde serum PAPP-A düzeyinin duyarlılığını 0.854, özgüllüğünü 0.821 bulduk.

Çeşitli çalışmalarda kararsız anjina pektoris tanısında kullanılan biyokimyasal belirteçlerin tanısal yeterliliği araştırılmıştır. Hamm ve arkadaşları kararsız anjina

pektoris için kalbe özgü troponinlerin tanısal duyarlılığını araştırmışlar ve troponin T için % 22, troponin I için %36 bulmuşlardır (1). C reaktif protein kararsız anjina pektoris için bir belirteç olabilir. Liuzzo ve arkadaşları kararsız anjina pektorisli 31 hastanın 20'sinde (%65) C reaktif protein düzeylerini yüksek bulmuştur (114). Bizim çalışmamızda PAPP-A eşik değeri 1.945 mIU/L alındığında 41 AKS hastasından 35'inde (%85) PAPP-A düzeyi bu değerin üstünde bulunmuştur. Troponin ve C reaktif protein düzeylerinin henüz yükselmediği AKS'larda PAPP-A düzeyindeki artış yüksek riskli hastaların belirlenmesi açısından önemli olacaktır.

Laterza ve arkadaşları acil servise göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran hastalarda ilk başvuruda, altıncı saat ve on ikinci saatte PAPP-A düzeylerini ölçmüşler ve hastaları altı ay izlemişler. Akut miyokardiyal enfartüs gelişen grupta PAPP-A düzeylerini yüksek bulunmuştur. PAPP-A'nın prognostik değerini araştırmışlar eşik değerini 0.22 mIU/L aldıklarında, duyarlılığı 66.7, özgüllüğü 51.5 bulunmuştur. Bu çalışmada troponininde prognostik değeri araştırılmış duyarlılığı 51.5 ve özgüllüğü 82.1 bulunmuştur. PAPP-A ve troponin düzeyleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (115).

Lund ve arkadaşları AKS tanısı için PAPP-A düzeyinin eşik noktasını 2.9 mIU/L olarak belirtmektedir (4). Bayes-Genes ve arkadaşları ise AKS tanısı için PAPP-A düzeyinin eşik değerini 10 mIU/L aldıklarında en yüksek duyarlılık ve özgüllük değerine ulaşmışlardır. Eşik değeri 10 mIU/L alındığında duyarlılığı 89.2 özgüllüğü 81.3 bulunmuştur (88). Çalışmalardaki eşik değerlerdeki farklılık kullanılan ölçüm yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. AKS'da PAPP-A düzeylerinin ölçümünde kullanılacak henüz standart bir yöntem yoktur. Matriks etkileşimi ve kalibrasyon hataları gibi preanalitik ve analitik laboratuvar kaynaklı hatalar konusunda yeterli veri yoktur. Teorik laboratuvar yaklaşımı ile ilgili verilerin yetersiz olmasına karşın klinik olarak AKS'da PAPP-A'nın öngörüselleşmesi hakkında sağlam kanıtlar mevcuttur.

IGF'ler insan plazmasının düzenleyici molekülleridir. Son on yılda dolaşımda bulunan IGF'lerin fonksiyonları aydınlatılmıştır ancak lokal üretilen IGF'lerin fonksiyonları tam olarak belirlenememiştir. Çeşitli çalışmalarda IGF ve diğer

düzenleyici proteinlerin kardiyovasküler sistem hücreleri tarafından salındığı gösterilmiştir. IGF'ler IGF bağlayıcı proteinlere bağlanır ve IGF ligand reseptör etkileşimi sonucunda IGF fonksiyonları düzenlenir. IGF bağlayıcı proteinlerin posttranslasyonel döngüsü ise özgün proteazlar tarafından düzenlenir. IGF, IGF bağlayıcı proteinler ve IGF bağlayıcı protein proteazlar arasındaki denge, IGF bağımlı hücre etkilerinden sorumludur. Bu dengedeki herhangi bir bozukluk koroner aterosklerozda düz kas hücre büyümesini, göçünü ve aterosklerotik plakta ekstrasellüler matriks sentezini etkiler. IGF düzeylerindeki artış makrofaj kemotaksisine, LDL kolesterol alımına ve proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olur (89). Bizde çalışmamızda AKS hastalarında IGF-I düzeylerini ölçtük ve PAPP-A ile ilişkisini inceledik.

Serum IGF-I düzeyleri ile AKS arasındaki ilişkiyi inceleyen çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bayes-Genes ve arkadaşları 17 akut miyokardiyal enfarktüs, 20 kararsız anjina pektoris, 19 kararlı anjina pektoris ve 13 sağlıklı bireyde total IGF, serbest IGF ve PAPP-A düzeylerini ölçmüşler. Sonuçta serbest IGF-I düzeyleri ile AKS'lar ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Serbest IGF düzeyleri ile PAPP-A düzeyleri arasında zayıf fakat istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ( $r=0.39$ ,  $p=0.02$ ). Total IGF-I düzeyleri ile AKS'lar ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır ve PAPP-A düzeyleri ile ilişki saptanmamıştır (88).

Janssen ve arkadaşlarının yaşlı bireylerde yaptıkları çalışmada kardiyovasküler hastalık ve karotis arterinde aterosklerotik plak olan hastalarda serbest IGF-I düzeyleri düşük bulunmuştur (101). Yine bu çalışmada kardiyovasküler hastalık ve/veya risk faktörü olmayan grupta total IGF-I düzeyleri düşük bulunmuştur (101).

Biz de çalışmamızda AKS tanısı alan hastalarda acil servise ilk başvuru sırasında ölçülen IGF-I düzeylerini ( $111.9 \pm 33.4$  ng/mL) kontrol grubu ile karşılaştırıldığımızda ( $112.1 \pm 47.3$  ng/mL) istatistiksel olarak anlamlı fark bulmadık (Tablo 2). IGF-I ve PAPP-A düzeyleri arasında pozitif yönde zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamsız bir ilişki saptandı ( $r= 0.018$ ,  $p= 0.875$ ) (Şekil 9). Sonuçlarımız Bayes-Genes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçları ile



uyumludur. Lokal üretilen IGF ve dolaşımdaki serbest IGF-I aterosklerotik lezyondaki damar düz kas hücre göçünden, monosit kemotaksisinden, sitokinlerin salınması ve aktivasyonundan sorumlu gösterilmektedir. Çalışmamızda total IGF-I düzeylerinin ölçülmesi ve AKS hastaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması bu durumu açıklamaktadır.

Göğüs ağrısı şikayeti ile acil servise başvuran ve akut koroner sendrom için troponin yüksekliği ya da özgün EKG değişikliği olmayan hastalarda altıncı ve onikinci saatlerde troponin düzeyi ölçülmesi önerilmektedir. Yoğun bir acil serviste klinisyeni bu bekleyişten kurtarmak oldukça faydalı olacaktır. AKS'un erken tanınması tedavi etkinliğini artıracak, gereksiz yatış ve tetkik nedeni ile oluşan maliyeti düşürecektir. Serum PAPP-A kardiyak göğüs ağrısı olan hastalarda erken tanı konulması, riskin belirlenmesi ve erken tedavi uygulanması açısından oldukça faydalı olacaktır.

## SONUÇLAR

41 akut koroner sendrom hastası ve 39 kontrol bireyinin serum PAPP-A ve IGF-I düzeylerinin değerlendirildiği çalışmamızdan elde edilen sonuçlar;

- Akut koroner sendrom grubunun serum PAPP-A düzeyi (ortanca değeri 2.53 mIU/L, veri aralığı 1.13-4.63 mIU/L), kontrol grubunun serum PAPP-A düzeyinden (ortanca değeri 1.62 mIU/L, veri aralığı 0.76-3.01 mIU/L) anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p=0.001$ ).
- Akut koroner sendrom grubunun serum IGF-I düzeyi (ortalama değeri 111.9 ng/mL, standart sapması 33.4) kontrol grubunun serum IGF-I düzeyi (ortalama değeri 112.1 ng/mL, standart sapması 47.3) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p=0.882$ ).
- Serum PAPP-A düzeyleri ile serum IGF-I düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $r= 0.018$ ,  $p= 0.875$ ).
- Akut koroner sendrom grubunun 0. saat troponin I düzeyi (ortanca değeri 0.72  $\mu\text{g/L}$ , veri aralığı 0.005-0.190  $\mu\text{g/L}$ ) kontrol grubunun 0. saat troponin I düzeyi (ortanca değeri 0.05  $\mu\text{g/L}$ , veri aralığı 0.01-0.190  $\mu\text{g/L}$ ) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi ( $p=0.098$ ).
- Akut koroner sendrom grubunun 6. saat troponin I düzeyi (ortanca değeri 3.62  $\mu\text{g/L}$ , veri aralığı 0.28-100  $\mu\text{g/L}$ ) kontrol grubunun 6. saat troponin I düzeyinden (ortanca değeri 0.04  $\mu\text{g/L}$ , veri aralığı 0.01-0.187  $\mu\text{g/L}$ ) anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p=0.0001$ ).
- Akut koroner sendrom hastalarını kontrol grubundan ayırmada PAPP-A düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olup çizilen ROC eğrisi altında kalan alan 0,858 bulundu ( $p=0.0001$ ).

- Serum PAPP-A düzeylerinin akut koroner sendrom için eşik değeri 1.945 alındığında duyarlılık 0.854, özgüllük 0.821 olarak saptandı.
- Akut koroner sendrom hastalarının yaş ortalaması ( $57.39 \pm 12.70$ ) ile kontrol grubu ( $58.87 \pm 12.99$ ) arasında fark yoktu.
- Akut koroner sendrom hastalarının cinsiyet oranı (erkek/kadın oranı %82.9) ile kontrol grubunun cinsiyet oranı (erkek/kadın oranı %69.2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
- Akut koroner sendrom hastalarında sigara içme yüzdesi (%68.3) kontrol grubundan (%17.9) yüksek bulundu ( $p=0.0001$ ).
- VKİ ortalamaları iki grupta istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
- Diyabetes mellitus, hipertansiyon, ailesel kalp hastalığı öyküsü, hiperlipidemi gibi risk faktörlerine sahip olma oranı açısından akut koroner sendrom hastaları kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

## ÖZET

### AKUT KORONER SENDROM HASTALARINDA GEBELİKLE İLİŞKİLİ PLAZMA PROTEİN-A VE İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-I DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DR. ŞAHİKA ÖZEN

Akut koroner sendrom akut miyokart iskemisine bağlı ortaya çıkan semptom ve klinik bulgularla karakterize bir durumdur. Akut koroner sendromlarda en sık başvuru şikayeti göğüs ağrısıdır. Burada en önemli nokta göğüs ağrısının akut koroner sendromdan mı ya da kalp dışı bir nedenden mi kaynaklandığının ayırt edilmesidir. Bu ayırimda biyokimyasal belirteçlerden faydanılmaktadır. Günümüzde kullanılan kreatin kinaz-MB ve troponin gibi belirteçler miyokardiyal enfarktüsde nekroza bağlı olarak yükselmektedir ancak erken miyokardiyal enfarktüs ve kararsız anjina pektorisde yükselmemiştir.

Gebelikle ilişkili plazma protein-A (PAPP-A) yüksek molekül ağırlıklı çinko bağlayan bir metalloproteinazdır. PAPP-A, insülin benzeri büyüme faktörü I'in (IGF-I) spesifik aktivatörüdür. Bu etkiyi IGF bağlayıcı protein 4 ve 5'i parçalayarak, IGF-I'in serbest kalmasını sağlayarak yapar.

Gebelikle ilişkili plazma protein A'nın kararsız aterosklerotik plakta üretildiği tespit edilmiştir. Plaktaki düşük yoğunluklu lipoproteinlerin makrofajlarca alınımını ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokin salgısını artırarak plak oluşumunun ilerlemesine ve kararsızlığına neden olmaktadır.

Çalışmamızda; akut koroner sendrom tanısı alan 41 hasta ve 39 sağlıklı kontrol grubunda serum PAPP-A ve IGF-I düzeyleri incelendi. PAPP-A ELISA yöntemi ile IGF-I immünokemilüminasans yöntemi ile ölçüldü.

Hasta grubunun PAPP-A düzeyi, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunurken ( $p=0.0001$ ); iki grubun IGF-I düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0.882$ ). Serum PAPP-A düzeyleri ile IGF-I düzeyleri arasında pozitif

yönde, zayıf derecede, istatistiksel olarak anlamsız bir ilişki saptandı ( $r= 0.018$ ,  $p= 0.875$ ). AKS hastalarını kontrol grubu bireylerinden ayırmada ki PAPP-A düzeylerinin etkinliğini incelemek için ROC eğrisi çizildi. Eğri altında kalan alan 0,858 bulundu ( $p=0.0001$ ). Akut koroner sendrom tanısı için en yüksek duyarlılık ve özgüllük birlikteliğini sağlayan eşik noktası 1.945 mIU/L bulundu. Eşik noktası 1.945 mIU/L alındığında duyarlılık 0.854, özgüllük 0.821 olarak hesaplandı.

Sonuçlarımız PAPP-A'nın AKS tanısının konulmasında kullanışlı bir belirteç olduğunu destekler görünse de, daha ileri çalışmalarla bu bulguların desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca, AKS'da IGF-I'in rolünü ve PAPP-A ile ilişkisini açıklayabilmek için daha geniş hasta gruplarında yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

## SUMMARY

### ESTIMATING LEVELS OF PAPP-A AND IGF-1 IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

DR. ŞAHİKA ÖZEN

Acute coronary syndrome is characterized with symptoms and clinical signs occurring because of acute myocardial ischemia. The most common complaint in acute coronary syndrome at the beginning of disease is chest pain. In this situation, the main point is differentiating whether the chest pain is originated from acute coronary syndrome or another reason that is not related with the heart. Biochemical markers are used in this differentiation. The recently used markers like CK-MB and troponin are elevated due to necrosis in circulation of patients with myocardial infarctuse, but not elevated in early myocardial infarctuse and unstable anjina pectoris.

PAPP-A is a high molecular weighed zinc binding metalloproteinase. PAPP-A is the spesific activator of IGF-1. It has this effect via degrading IGF binding protein 4 and 5 that results with releasing of IGF-1.

It was detected that PAPP-A is reproduced in unstable atherosclerotic plaque. This molecule increases the uptake of low density lipoproteins in the plaque by macrophages and the secretion of proinflamatuar cytokines from macrophages. As a result , formation of plaque progresses and the plaque becomes unstable.

In our study, levels of serum PAPP-A and IGF-1 are determined in both patient group including 42 individuals and control group including 39 healthy individuals. PAPP-A was detected with ELISA method and IGF-1 is detected with immunochemilumminescance method.

Serum PAPP-A levels in patient group was found signficiantly high compared with control group. ( $p=0.0001$ ); on the other hand, no signficiant difference was found between serum IGF-1 levels in two groups. ( $p=0.882$ ). A

positively correlated, weak degree, statistically non-significant relation was detected between serum PAPP-A and IGF-1 levels. ( $r= 0.018$ ,  $p= 0.875$ ). ROC curve was plotted to determine the effectiveness of PAPP-A levels in differentiating the patients with acute coronary syndrome from the individuals in the control group. The area located under curve was detected as 0.858 ( $p=0.0001$ ). The cut-off point which obtains togetherness of the most specificity and sensitivity for acute coronary syndrome was detected as 1.945 mIU/L. Sensitivity was estimated as 0.854 and specificity was estimated as 0.821 when cut-off point was selected as 1.945 mIU/L.

Our results support that PAPP-A might be a useful marker for diagnosis of acute coronary syndrome. Nevertheless, we think that these findings need to be supported with advanced studies. Also, we have the opinion that prospective studies conducted in larger patient groups are required to explain the role of IGF-1 and its relation with PAPP-A in acute coronary syndrome.

## KAYNAKLAR

1- Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreymann G, Berger J and Meinertz T. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *N Engl J Med* 1997; 337: 1648-1653.

2- Puleo PR, Meyer D, Wathen C, Tawa CB, Wheeler S, Hamburg RJ, et al. Use of a rapid assay of subforms of creatine kinase-MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1994; 331: 561-566.

3- Rodriguez AD, Gonzalez PA, Gonzalez MG, Ferrer J, Vargas M. Circulating pregnancy associated plasma protein A is not an early marker of acute myocardial infarction. *Clin Biochem* 2005; 38: 180-182.

4- Lund J, Qin QP, Ilva T, Pettersson K, Pulkki LMV, Porela P, et al. Circulating pregnancy-associated plasma protein A predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no Troponin I elevation. *Circulation* 2003; 108: 1924-1926.

5- Biasucci LM, Rizzello V. Pregnancy associated plasma protein-A: Do specific markers of vascular or plaque activation exist, and do we really need them? *Clin Chem* 2006; 52: 913-914.

6- Body R and Ferguson C. Pregnancy-associated plasma protein A: A novel cardiac marker with promise. *Emerg Med J* 2006; 23: 875-877.

7- Gonin J, Dreux S, Guimiot F, Menez F, Guibourdenche J, Biou D, et al. Comment on immunoassays developed for pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) in pregnancy may not recognize PAPP-A in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2006; 52: 1619-1620.

8- Roe MT, Ohman EM, Pollack CV, Peterson ED, Brindis RG, Harrington RA, et al. Changing the model of care for patients with acute coronary syndromes. *Am*



Heart J 2003; 146: 605-612.

9- Eriksson S, Wittfooth S, Pettersson K. Present and future biochemical markers for detection of acute coronary syndrome. Crit Rev Clin Lab Sci 2006; 43: 427-495.

10- The world health report 2004. Available from: URL: [http://www.who.int/whr/2004/en/report04\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2004/en/report04_en.pdf). 10 Mart 2008 tarihinde ulaşılmıştır.

11-Deaths from coronary heart disease. Available from: URL: [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/en/cvd\\_atlas\\_14\\_deathHD.pdf](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/cvd_atlas_14_deathHD.pdf). 12 Mart 2008 tarihinde ulaşılmıştır.

12- Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B, Erer B, ve ark. On yıllık TEKHARF çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı yüksek. Türk Kardiyol Dern Arş 2001; 29: 8-19.

13- Onat A, Dursunoğlu D, Bulur S, Küçükdurmaz Z, Kaya Z, Ordu S, ve ark. TEKHARF çalışması 2007 taraması: Mortalite ve koroner mortalitede azalma eğilimi sürüyor. Türk Kardiyol Dern Arş 2008; 36: 77-81.

14- Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. Circulation 2001; 104: 365-372.

15- Monaco C, Mathur A, Martin JF. What causes acute coronary syndromes? Applying Koch's postulates. Atherosclerosis 2005; 179: 1-15.

16- Müller J, Tofler G, Stone P. Circadian variation and triggers of onset of acute cardiovascular disease. Circulation 1989; 79: 733-743.

17- Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340: 115-126.

- 18- Hergenç G. Role of Complement system in atherosclerosis. *Türk Kardiyol Dern* 2004; 32: 28-37.
- 19- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta* 2006; 367: 36-47.
- 20- Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med* 2002; 8: 1211-1217.
- 21- Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-241.
- 22- Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87: 840-844.
- 23- Toschi V, Gallo R, Lettino M, Fallon JT, Gertz SD, Fernandez-Ortiz A et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997; 95: 594-599.
- 24- Shah PK. Mechanisms of plaque vulnerability and rupture. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 15-22.
- 25- Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 959-969.
- 26- Anderson JL, Adams CD, Antman EM, Bridges CR, Califf RM, Casey DE Jr, et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-Elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1-157.
- 27- Yusuf PS, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52

- countries (the interheart study): Case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937-952.
- 28- Airaksinen KE. Silent coronary artery disease in diabetes a feature of autonomic neuropathy or accelerated atherosclerosis? *Diabetologia* 2001; 44: 259-266.
- 29- Gregoratos G. Clinical manifestations of acute myocardial infarction in older patients. *Am J Geriatr Cardiol* 2001; 10: 345-347.
- 30- Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, et al. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2002; 23: 1809-1840.
- 31- Werf FV, Ardissino D, Betriu A, Cokkinos DV, Falk E, Fox KA, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The task force on the management of acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2003; 24: 28-66.
- 32- Yusuf S, Pearson M, Sterry H, Parish S, Ramsdale D, Rossi P, et al. The entry ECG in the early diagnosis and prognostic stratification of patients with suspected acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 1984; 5: 690-6.
- 33- Zarling EJ, Sexton H, Milnor P Jr. Failure to diagnose acute myocardial infarction. The clinicopathologic experience at a large community hospital. *JAMA* 1983; 250: 1177-81.
- 34- LaDue JS, Wroblewski F, Karmen A. Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. *Science* 1954; 120: 497-499.
- 35- Wroblewski F, LaDue JS. Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955; 90: 210-213.
- 36- Dreyfus JC, Schapira G, Resnais J, Scebat L. Serum creatine kinase in the

diagnosis of myocardial infarct. *Rev Fr Etud Clin Biol* 1960; 5: 386–387.

37- Stone MJ, Willerson JT, Gomez-Sanchez CE, Waterman MR. Radioimmunoassay of myoglobin in human serum. Results in patients with acute myocardial infarction. *J Clin Invest* 1975; 56: 1334–1339.

38- Delanghe JR, Chapelle JP, Vanderschueren SC. Quantitative nephelometric assay for determining myoglobin evaluated. *Clin Chem* 1990; 36: 1675–1678.

39- Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987; 113: 1333–1344.

40- Koenig W and Khuseyinova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 15-26.

41- Nieuwenhoven FAV, Kleine AH, Wodzig KWH, Hermens WT, Kragten HA, Maessen JG, et al. Discrimination between myocardial and skeletal muscle injury by assessment of the plasma ratio of myoglobin over fatty acid-binding protein. *Circulation* 1995; 92: 2848–2854.

42- Christenson RH, Duh SH. Evidence based approach to practice guides and decision thresholds for cardiac markers. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1999; 230: 90–102.

43- Sallach SM, Nowak R, Hudson MP, Tokarski G, Khoury N, Tomlanovich MC, et al. A change in serum myoglobin to detect acute myocardial infarction in patients with normal troponin I levels. *Am J Cardiol* 2004; 94: 864–867.

44- Puleo PR, Guadagno PA, Roberts R, Perryman MB. Sensitive, Rapid Assay of Subforms of Creatine Kinase MB in Plasma. *Clin Chem* 1989; 35: 1452-1455.

45- Puleo PR, Guadagno PA, Roberts R, Scheel MV, Marian AJ, Churchill D, et al.

Early diagnosis of acute myocardial infarction based on assay for subforms of creatine kinase-MB. *Circulation* 1990; 82: 759-764.

46- Chan DW, Taylor E, Frye R, Blitzer RL. Immunoenzymetric assay for creatine kinase MB with subunit-specific monoclonal antibodies compared with an immunochemical method and electrophoresis. *Clin Chem* 1985; 31: 465-469.

47- Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993; 88: 750-763.

48- Gomes AV, Potter JD, Cordary DS. The role of troponins in muscle contraction. *IUBMB Life* 2002; 54: 323-333.

49- Bodor G, Porterfield D, Voss E, Smith S, Apple F. Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem* 1995; 41: 1710-1715.

50- Anderson P, Malouf N, Oakeley A, Pagani E, Allen P. Troponin T isoform expression in humans. A comparison among normal and failing adult heart, fetal heart, and adult and fetal skeletal muscle. *Circ Res* 1991; 69: 1226-1233.

51- Schreier T, Kedes L, Gahlmann R. Cloning, structural analysis, and expression of the human slow twitch skeletal muscle/cardiac troponin C gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 21247-21253.

52- Gahlmann R, Kedes L. Cloning, structural analysis, and expression of the human fast twitch skeletal muscle troponin C gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 12520-12528.

53- Gerhardt W, Ljungdahl L. Troponin T: A sensitive and specific diagnostic and prognostic marker of myocardial damage. *Clinica Chimica Acta* 1998; 272: 47-57.

54- Gupta M, Lent RW, Kaplan EL, Zabriskie JB. Serum cardiac troponin I in acute

rheumatic fever. *Am J Cardiol* 2002; 89: 779–782.

55- Dispenzieri A, Kyle RA, Gertz MA, Therneau TM, Miller WL, Chandrasekaran K, et al. Survival in patients with primary systemic amyloidosis and raised serum cardiac troponins. *Lancet* 2003; 361: 1787–1789.

56- Apple FS, Murakami MM, Pearce LA, Herzog CA. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. *Clin Chem* 2004; 50: 2279–2285.

57- Franz WM, Remppis A, Kandolf R, Kubler W, Katus HA. Serum troponin T: Diagnostic marker for acute myocarditis. *Clin Chem* 1996; 42: 340–341.

58- Brandt RR, Filzmaier K, Hanrath P. Circulating cardiac troponin I in acute pericarditis. *Am J Cardiol* 2001; 87: 1326–1328.

59- Ammann P, Fehr T, Minder EI, Gunter C, Bertel O. Elevation of troponin I in sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2001; 27: 965–969.

60- Mehta NJ, Jani K, Khan IA. Clinical usefulness and prognostic value of elevated cardiac troponinI levels in acute pulmonary embolism. *Am Heart J* 2003; 145: 821–825.

61- Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research* 2006; 69: 562 – 573.

62- Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90: 251–262.

63- Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493–2503.

64- Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H, Fukushi T, Kamada T, Okumura K. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2001; 141: 211–217.

65- Eckart RE, Uyehara CF, Shry EA, Furgerson JL, Krasuski RA. Matrix metalloproteinases in patients with myocardial infarction and percutaneous revascularization. *J Interv Cardiol* 2004; 17: 27–31.

66- Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation* 2003; 107: 1579–1585.

67- Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 1974 15; 118: 223-236.

68- Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Kristensen L, Jensen LS. Isolation and characterization of circulating complex between human pregnancy associated plasma protein-A and proform of eosinophil major basic protein. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1201: 415-423.

69- Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Jensen LS, Gleich GJ, Hays LG, et al. The insulin-like growth factor (IGF) dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3149-3153.

70- Wald N, Stone R, Cuckle HS, Grudzinskas JG, Barkai G, Brambati B, et al. First trimester concentrations of pregnancy associated plasma protein A and placental protein 14 in Down's syndrome. *BMJ* 1992; 305: 28.

71- Silahatoglu AN, Tumer Z, Kristensen T, Sottrup-Jensen L, Tommerup N, Assignment of the human gene for pregnancyassociated plasma protein A (PAPPA)

to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and meiotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 1993; 62: 214–216.

72- Overgaard MT, Sorensen ES, Stachowiak D, Boldt HB, Kristensen L, Sottrup-Jensen L, et al. Complex of pregnancy-associated plasma protein-A and the proform of eosinophil major basic protein. Disulfide structure and carbohydrate attachment. *J Biol Chem* 2003; 278: 2106–2117.

73- Kristensen T, Oxvig C, Sand O, Moller NP, Sottrup-Jensen L. Amino acid sequence of human pregnancy-associated plasma protein-A derived from cloned cDNA. *Biochemistry* 1994; 33:1592–1598.

74- Laursen LS, Overgaard MT, Sjøe R, Boldt HB, Jensen LS, Giudice LC, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF: Implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A. *FEBS Lett* 2001; 504: 36–40.

75- Fialova L, Malbohan IM. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A): theoretical and clinical aspects. *Bratisl Lek Listy* 2002; 103: 194-205.

76- Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Gleich GJ, Jensen LS. Circulating human pregnancy associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 1993; 268: 12243–12246.

77- Overgaard MT, Haaning J, Boldt HB, Olsen IM, Laursen LS, Christiansen M, et al. Expression of recombinant human pregnancy associated plasma protein-A and identification of the proform of eosinophil major basic protein as its physiological inhibitor. *J Biol Chem* 2000; 275: 31128–33.

78- Overgaard MT, Glerup S, Boldt HB, Rodacker V, Olsen IM, Christiansen M, et al. Inhibition of proteolysis by the proform of eosinophil major basic protein (proMBP) requires covalent binding to its target proteinase. *FEBS Lett* 2004; 560: 147–152.



- 79- Folkersen J, Grudzinskas JG, Hindersson P, Teisner B, Westergaard JG. Pregnancy-associated plasma protein A: circulating levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981;139: 910–914.
- 80- Wapner R, Thom E, Simpson JL, Pergament E, Silver R, Filkins K, et al. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med* 2003; 349: 1405–1413.
- 81- Qin QP, Christiansen M, Oxvig C, Pettersson K, Sottrup-Jensen L, Koch C, et al. Double-monoclonal immunofluorometric assays for pregnancy-associated plasma protein A/proeosinophil major basic protein (PAPP-A/proMBP) complex in first-trimester maternal serum screening for Down syndrome. *Clin Chem* 1997; 43: 2323–2332.
- 82- Wittfooth S, Qin QP, Lund J, Tierala I, Takalo H, Pettersson K. Immunofluorometric point-of-care assays for the detection of ACS related non-complexed PAPP-A. *Clin Chem* 2006; 52: 1794–1801.
- 83- Overgaard MT, Oxvig C, Christiansen M, Lawrence JB, Conover CA, Gleich GJ, et al. Messenger ribonucleic acid levels of pregnancy-associated plasma protein-A and the proform of eosinophil major basic protein: expression in human reproductive and nonreproductive tissues. *Biol Reprod* 1999; 61: 1083–1089.
- 84- Bayes-Genis A, Schwartz RS, Lewis DA, Overgaard MT, Christiansen M, Oxvig C, et al. Insulin-like growth factor binding protein-4 protease produced by smooth muscle cells increases in the coronary artery after angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 335–341.
- 85- Qin QP, Kokkala S, Lund J, Tamm N, Qin X, Lepantalo M, et al. Immunoassays developed for pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in pregnancy may not recognize PAPP-A in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2006; 52: 398–404.
- 86- Bersinger NA, Meisser A, Bessou T, Seguin P, Birkhauser MH, Bischof P. Production and characterization of monoclonal antibodies against pregnancy-

associated plasma protein A. *Mol Hum Reprod* 1999; 5: 675–681.

87- Khosravia J, Diamandia A, Krishnab RG, Bodanib U, Mistryb J, Khajab N. Pregnancy associated plasma protein-A: ultrasensitive immunoassay and determination in coronary heart disease. *Clin Biochem* 2002; 35: 531–538.

88- Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR, et al. Pregnancy associated plasma protein-A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001; 345: 1022-1029.

89- Bayes-Genis A, Conover CA, Schwartz RS. The insulin-like growth factor axis: A review of atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 2000; 86: 125–130.

90- Li X, Liu Q, Zhou T, Zhao S, Zhou S. PAPP-A: A possible pathogenic link to the instability of atherosclerotic plaque. *Med Hypotheses* 2008; 70: 597–599.

91- Qin QP , Wittfooth S, Pettersson K. Measurement and clinical significance of circulating PAPP-A in ACS patients. *Clin Chim Acta* 2007; 380: 59–67.

92- Rotwein P. Structure, evolution, expression and regulation of insulin-like growth factors I and II. *Growth Factors* 1991; 5: 3–18.

93- Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16: 3–34.

94- Demers LM. Hipofizin işlevleri. Editör: Aslan D, Klinik Kimyada Temel İlkeler, Ankara: Palme Yayıncılık, 2005: 825.

95- Shimasaki S, Ling N. Identification and molecular characterization of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP-1, -2, -3, 4, -5 and -6). *Prog Growth Factor Res* 1991; 1: 243–266.

96- Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer

development and progression. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1472–1489.

97- Kaaks R, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud, et al. Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1592–1600.

98- Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Motoyoski T, Adachi S, Masayoshi S, et al. Insulin-like growth factor-I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes. *Circulation* 1993; 87: 1715–1721.

99- Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations. *Endocr Rev* 1989; 10: 68–91.

100- Scheinowitz M, Abramov D, Eldar M. The role of insulin-like and basic fibroblast growth factors on ischemic and infarcted myocardium: a mini review. *Int J Cardiol* 1997; 59: 1–5.

101- Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, Grobbee DE, Lamberts SW. Serum total IGF-I, free IGF-I and IGFBP-I levels in an elderly population. Relation to cardiovascular risk factors and disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 277–282.

102- Cohen P. Clinical implications of the IGF-cancer connection. *Growth Horm IGF Res* 2001; 11: 336–338.

103- Yee D. Are the insulin-like growth factors relevant to cancer? *Growth Horm IGF Res* 2001; 11: 339–345.

104- Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby KL, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical Characteristics and Utilization of Biochemical Markers in Acute Coronary Syndromes. *Clin Chem* 2007; 53: 552–574.

105- Elesber AA, Lerman A, Denktas AE, Resch ZT, Bunch TJ, Schwartz RS, et al. Pregnancy associated plasma protein-A and risk stratification of patients presenting with chest pain in the emergency department. *Int J Cardiol* 2007; 117: 365-369.

106- Collinson PO, Premachandram S, Hashemi K. Prospective audit of incidence of prognostically important myocardial damage in patients discharged from emergency department. *BMJ* 2000; 324: 1702–1705.

107- Apple FS, Wu AH, Mair J, Ravkilde J, Panteghini M, Tate J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2005; 51: 810–824.

108- Cosin-Sales J, Christiansen M, Kaminski P, Oxvig C, Overgaard MT, Cole D, et al. Pregnancy-Associated Plasma Protein A and Its Endogenous Inhibitor, the Proform of Eosinophil Major Basic Protein (proMBP), Are Related to Complex Stenosis Morphology in Patients With Stable Angina Pectoris. *Circulation* 2004; 109: 1724-1728.

109- Resch ZT, Chen BK, Bale LK, Oxvig C, Overgaard MT, Conover CA. Pregnancy-Associated Plasma Protein A Gene Expression as a Target of Inflammatory Cytokines. *Endocrinology* 2004; 145: 1124–1129.

110- Qin QP, Laitinen P, Majamaa-Voltti K, Eriksson S, Kumpula EK, Pettersson K. Release patterns of pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) in patients with acute coronary syndromes. *Scand Cardiovasc J* 2002; 36: 358–361.

111- Lund J, Qin QP, Ilva T, Nikus K, Eskola M, Porela P, et al. Pregnancy associated plasma protein A: a biomarker in acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI). *Ann Med* 2006; 38: 221–228.

112- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Simoons ML, Zeiher AM. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation,

and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 229–237.

113- Beaudoux JL, Burc L, Imbert-Bismut F, Giral P, Bernard M, Bruckert E, et al. Serum plasma pregnancy-associated protein A: a potential marker of echogenic carotid atherosclerotic plaques in asymptomatic hyperlipidemic subjects at high cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 7–10.

114- Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331: 417-424.

115- Laterza OF, Cameron SJ, Chappell D, Sokoll LJ, Green GB. Evaluation of pregnancy-associated plasma protein A as a prognostic indicator in acute coronary syndrome patients. *Clin Chim Acta* 2004; 348: 163–169.