

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA MATRİKS
METALOPROTEİNAZ 2 VE ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ
ENZİM GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. KADRİ GÖKÇE

DANIŞMAN

Prof.Dr. İBRAHİM TÜRKÇÜER

DENİZLİ – 2018

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA MATRİKS
METALOPROTEİNAZ 2 VE ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ
ENZİM GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. KADRİ GÖKÇE

DANIŞMAN

PROF.DR. İBRAHİM TÜRKÇÜER

BU ÇALIŞMA PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA
PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ'NİN 31.07.2018 TARİH VE 2018TIPF027
NO'LU KARARI İLE DESTEKLENMİŞTİR.

DENİZLİ – 2018

Prof.Dr.İBRAHİM TÜRKCÜER danışmanlığında Araş.Gör.Dr.KADRI GÖKÇE tarafından yapılan “Koroner Arter Hastalarında Matriks Metaloproteinaz-2 ve Anjiotensin Dönüştürücü Enzim Gen Polimorfizminin Araştırılması” başlıklı tez çalışması 25/12/2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Acil Tıp Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edildi.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

Prof. Dr. İskent ERAR
Prof. Dr. İbrahim TÜRKCÜER
Doç. Dr. Önder TOMRUK

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

25/12/2018

Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tez çalıőmam sűresince beni destekleyen tecrűbesi, engin bilgisi ile ilham veren Sayın Danıőman Hocam Prof. Dr. İbrahim TŪRKŪER'e

&

Her yardım istediğimde hiç geri çevirmeden destek veren Sayın Doç.Dr. Aylin KŌSELER'e

&

Akademisyenliėi ve kiőiliėi ile her zaman bana örnek olan, yetiőmemde katkıları olan Pamukkale Ūniversitesi Tıp Fakűltesi Acil Tıp AD 'daki hocalarım Prof.Dr Bűlent ERDUR'a, Dr. Őėretim űyesi Atakan YILMAZ'a, Dr. Őėretim űyesi Mert ŐZEN'e, Dr. Őėretim űyesi Murat SEYİT'e

&

Hayatımın her aşamasında sevgisiyle ve sabrıyla yanımda olan, beni destekleyen aileme, eőim Uz. Dr. Tuėçe GŌKE'ye ,canımdan çok sevdiğim kızım Aysima Elif'ime

&

Tez çalıőmam sűresince benden yardımlarını esirgemeyen Pamukkale Ūniversitesi Eėitim, Uygulama ve Araőtırma Hastanesi Acil Tıp A.D.'nda görevli meslektaőlarıma sonsuz TEŐEKKÜR EDERİM...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	II
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
KORONER ARTER HASTALIĞI	2
Tanımı ve etiyoloji.....	2
Epidemiyoloji	3
Risk Faktörleri	4
Fizyopatolojisi	5
Genetik Faktörler ve Koroner Arter Hastalığı	6
Anjiotensin Dönüştürücü Enzim ve Koroner Arter Hastalığı.....	8
Matriks Metalloproteinaz ve Koroner Arter Hastalığı.....	9
Tanı	12
Girişimsel Olmayan Yöntemler	13
Girişimsel Tanı Yöntemleri	15
Tedavi	17
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ (PCR).....	18
Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Oluşum Mekanizması	19
DNA'nın Denatürasyonu	19
Primerlerin Bağlanması (annealing)	19

Primerlerin uzatılması (extension) ve Amplifikasyon.....	20
PCR'ın Temel Bileşenleri.....	20
Kalıp DNA.....	20
Polimerazlar.....	21
Primerler.....	21
Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP).....	21
Tamponlar ve MgCl ₂	21
ELEKTROFOREZ.....	22
GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA.....	42
SONUÇLAR.....	48
KAYNAKLAR.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
AKS	: Akut Koroner Sendrom
ASKH	: Aterosklerotik Kalp Hastalığı
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
DM	: Diabetes Mellitus
dNTP	: Deoksiribonükleozid Trifosfat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EKG	: Elektrokardiyografi
ESM	: Ekstrasellüler Matriks
HT	: Hipertansiyon
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
MI	: Miyokard İnfarktüsü
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MPS	: Miyokard Perfüzyon Sintigrafisi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PTKA	: Perkutan Transkutanöz Koroner Anjiografi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hastalardaki mutasyon oranları	28
Şekil 2. Gruplara göre yaş dağılımı.....	30
Şekil 3. Gruplara göre kreatinin değerleri.....	30
Şekil 4. Gruplara göre hsTrop değerleri.....	31
Şekil 5. Gruplara göre CKMB değerleri	31
Şekil 7. Gruplara göre mutasyon oranları	32
Şekil 8. Yaş ile Hb arasındaki korelasyon grafiği.....	34
Şekil 9. Yaş ile total kolesterol arasındaki korelasyon grafiği.....	35
Şekil 10. Mutasyon türlerine göre yaş değerleri	36

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Koroner Arter Hastalığı Nedenleri	2
Tablo 2. Koroner arter hastalığında risk faktörleri ve koruyucu faktörler	4
Tablo 3. Koroner Arter hastalığı ile ilişkili genetik faktörler	7
Tablo 4. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırması.....	10
Tablo 5. Efor testi kontrendikasyonları.....	14
Tablo 6. Koroner arter hastalığında kullanılan testlerin sensitivite ve spesifitesi.....	16
Tablo 7. Hastaların demografik özellikleri ve komorbiditeleri.....	27
Tablo 8. Çalışmaya katılanların yaş, biyokimya ve hemogram sonucu değerleri	28
Tablo 9. Çalışmaya katılanların lipid, Na ve K değerleri	29
Tablo 10. Gruplara göre yaş ve hemogram değerlerinin karşılaştırılması	29
Tablo 11. Gruplar arasında mutasyon ve MMP-2 oranlarının karşılaştırılması.....	32
Tablo 12. Yaş, hemogram ve biyokimyasal değerler arasındaki korelasyon.....	33
Tablo 13. Yaş ve lipid değerlerinin korelasyonu	35
Tablo 14. Mutasyon türüne göre yaş, hemogram ve biyokimyasal değerleri	36
Tablo 15. Mutasyon türlerine göre hormon değerleri	37
Tablo 16. Mutasyon türlerine göre ek hastalık oranları	37
Tablo 17. Mutasyon türlerinin HT varlığı için risk faktörü analizi.....	38
Tablo 18. Cinsiyete göre grup, mutasyon ve ek hastalık oranları	38
Tablo 19. Cinsiyete göre yaş, biyokimya ve hemogram değerlerinin karşılaştırılması	39
Tablo 20. Cinsiyet ile lipid değerlerinin karşılaştırılması	40
Tablo 21. Ek hastalıkların varlığı ile yaş arasındaki karşılaştırma	40
Tablo 22. Gruplara göre mutasyon tiplerinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre tabakalandırılması	41
Tablo 23. Gruplara göre D/D mutasyon varlığının yaş ve cinsiyet gruplarına göre tabakalandırılması	41

ÖZET

Koroner arter hastalarında matriks metaloproteinaz-2 ve anjiotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizminin araştırılması

Dr. Kadri GÖKÇE

Matriks metaloproteinazlar (MMP'ler), normal biyolojik işlemler sırasında bağ dokusu rejenerasyonuna yol açan ekstraselüler matriksi parçalayan proteolitik enzimlerdir. ACE (Anjiotensin dönüştürücü enzim)'nin çeşitli biyolojik eylemleri iskemik kalp hastalığının patogenezinde yer alır. Çalışmadaki amacımız; MMP 2 ve ACE gen polimorfizmi ile ilişkili KAH riski arasındaki olası ilişkiyi klinik açıdan değerlendirmektir.

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Anabilimdalı'na başvuran 19 ile 91 yaş aralığında 100 kontrol ve 200 hasta olmak üzere toplam 300 kişiden toplanan periferik kan örnekleri steril, ortalama 2 ml antikogülanlı (K3EDTA) vakumlu tüpler içerisine alındı. Elde edilen genomik DNA'larda; PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi ile MMP-2 ve ACE genine özgü bölge çoğaltılarak ve bu bölgelerde yer alan polimorfik odaklar restriksiyon enzimi ile kesilerek, yüksek çözünürlükteki agaroz jelde gözlenecek ve PCR/RFLP tabanına dayalı genotipleme yapıldı. Ayrıca hastaların hemogram ve biyokimyasal parametreleri ve komorbiditeleri de bilgisayar ortamına aktarılarak istatistiksel analizler yapıldı.

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve hemogram değerleri karşılaştırıldığında; hastaların yaş, kreatinin, hsTrop ve CKMB değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü (hepsi için $p < 0.05$). Gruplar arasında mutasyon ve MMP-2 oranları karşılaştırıldığında; hasta grubunda D/D oranı (%50) kontrol grubuna göre (%37,00) daha yüksek iken kontrol grubunda I/D oranı (%45,00) hasta grubuna göre (%29,00) daha yüksektir ($p:0,021$). D/D mutasyonu olanların AST değeri ($39,42 \pm 39,11$), I/I mutasyonu ($31,74 \pm 32,94$) ve I/D mutasyonu olanlara göre ($31,26 \pm 34,12$) daha yüksektir ($p:0,031$).

Sonuç olarak, tek başına D allel frekansı hastalarda kontrol grubuna göre daha sık bulunurken, DD alleli HT açısından risk faktörü olarak saptandı.

Anahtar Kelimeler: ACE, kardiyovasküler hastalık, koroner arter hastalığı, mutasyon, MMP

SUMMARY

Research of matrix metalloproteinase-2 and angiotensin converting enzyme gene polymorphism in coronary artery disease.

Dr. Kadri GÖKÇE

Matrix metalloproteinases (MMPs) are proteolytic enzymes that break down the extracellular matrix, which leads to connective tissue regeneration during normal biological processes. Various biological actions of ACE (Angiotensin converting enzyme) are involved in the pathogenesis of ischemic heart disease. The aim of this study was to evaluate the possible association between the risk of CAD associated with MMP 2 and ACE gene polymorphism.

Peripheral blood samples collected from a total of 300 people, including 100 controls and 200 patients aged 19 to 91 years, admitted to Pamukkale University Faculty of Medicine Emergency Department were taken into sterile, mean 2 ml anticoagulated (K3EDTA) vacuum tubes. In genomic DNA obtained; PCR (Polymerase Chain Reaction) method by multiplying the region specific to MMP-2 and ACE gene and the polymorphic foci in these regions by restriction enzyme cut, high-resolution agarose gel will be observed on the basis of PCR / RFLP based genotyping has been done. In addition, hemogram and biochemical parameters and comorbidities of the patients were transferred to computer and statistical analyzes were done.

When age and hemogram values were compared between patient and control groups; age, creatinine, hsTrop and CKMB values of the patients were higher than the control group ($p < 0.05$ for all). When mutation and MMP-2 ratios were compared between the groups; D/D ratio (% 50) was higher in the patient group compared to the control group (% 37,00), while the I/D ratio in the control group (% 45,00) was higher than the patient group (% 29,00) ($p: 0,021$). AST values of D/D mutations ($39,42 \pm 39,11$) are higher than those with I/I mutations ($31,74 \pm 32,94$) and I/D mutations ($31,26 \pm 34,12$) ($p: 0,031$).

In conclusion, D allele frequency was found to be more frequent in patients compared to the control group, whereas DD allele was found to be a risk factor for HT.

Keywords: ACE, cardiovascular disease, coronary artery disease, mutation,
MMP

GİRİŞ

Matriks metaloproteinazlar (MMP'ler), normal biyolojik işlemler sırasında bağ dokusu rejenerasyonuna yol açan ekstraselüler matriksi parçalayan proteolitik enzimlerdir (1, 2). MMP'lerin lokal fibröz kapak üzerindeki etkisi aterosklerotik plakların kopmasına yol açar ve sonuç olarak kronik bir hastalığı akut miyokard enfarktüsüne çevirerek ani ölüme sebep olabilir (2). Vasküler remodeling, ateroskleroz ve restenoz dahil olmak üzere majör vasküler patolojilerin belirleyicisi olarak halen bilinmektedir ve MMP sisteminin düzenlenmesinin vasküler remodeling ve aterosklerozda önemli bir role sahip olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (3). Sigara içilmesi, diabetes mellitus, homosistein ve lipidlerin artması gibi en önemli risk faktörleri kan damarlarındaki oksidatif strese katkıda bulunur ve MMP'lerin aktivasyonuna neden olur (4). KAH ile ilişkili potansiyel aday genlerden biri MMP-2 dir (aynı zamanda jelatinaz A olarak adlandırılır) MMP-2'nin esas faaliyeti, jelatin ve tip IV kollajenin hidrolizidir (4, 5).

ACE (Anjiyotensin dönüştürücü enzim)' nin çeşitli biyolojik eylemleri iskemik kalp hastalığının patogenezinde yer alır (6, 7). Anjiyotensin I'in aktivasyonu ve bradikininin inaktivasyonu doku perfüzyonunun azalmasına neden olur (8). Anjiyotensin kaynaklı plazminojen etkinleştirici inhibitör uyarımı, tıkaçıcı koroner trombüs oluşumunu sağlayarak koroner arter hastalığına sebep olur (8, 9). Ayrıca anjiyotensin aracılı büyümenin uyarılması kardiyak hipertrofi ve ventriküler yeniden modellenmenin patogenezinde yer alır (10).

GENEL BİLGİLER

KORONER ARTER HASTALIĞI

Tanımı ve etiyoloji

Koroner arter hastalığının (KAH), aterosklerotik ve non-aterosklerotik nedenlerle oluşan, tutulan arterin beslediği miyokard alanında iskemi ile seyreden, stabil ya da unstabil angina pektoris, akut miyokard infarktüsü (MI), ritim bozukluğu ve benzeri klinik bulguları olan, hatta ani ölümlere yol açabilen bir hastalık olarak tanımlanır ve tüm dünyada en önemli mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (11). KAH nedenlerinin başında aterosklerotik kalp hastalığı (ASKH) gelmekle birlikte koroner vazospazm, koroner arter embolisi, koroner arter anomalileri, vaskülit ve romatizmal hastalıklar, travma gibi diğer birçok nedene bağlı olarak KAH görülebilir (Tablo 1) (11)

Tablo 1. Koroner Arter Hastalığı Nedenleri

Aterosklerotik kalp hastalığı	Travma
Koroner vazospazm	- Koroner laserasyon
Koroner arter embolisi	- Trombozis
- Yağ embolisi	- İyatrojenik
- Miksoma	- Radyasyon
- Kalsifik	Koroner mural kalınlaşma veya intimal proliferatif hastalıklar
- Hava embolisi	- Homosistinüri
- İnfektif endokardit	- Fabry hastalığı
Koroner arter anomalileri	- Mukopolisakkaridoz
- Anormal orijin	- Psödoksantoma elastikum
- Aberan koroner arter	- Amiloidoz
- Arteriovenöz fistül	- Kontraseptik steroidler
- Anevrizma	
Vaskülitler	Hematolojik
Romatizmal Hastalıklar	Miyokardiyal oksijen ihtiyaç-kaynak düzensizliği
Sifiliz	

Epidemiyoloji

Koroner arter hastalığı (KAH), tüm dünyada hala en önemli mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre 2015 yılında 17,7 milyon insanın kardiyovasküler hastalıklar yüzünden öldüğünü ve bunun 7,4 milyonunun KAH nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Yine DSÖ verilerine göre Türkiye'nin de içinde bulunduğu Avrupa'da tüm ölümlerin yarısından fazlasının kardiyovasküler sistem hastalıkları nedeniyle olduğu bildirilmiştir (2). Amerika Birleşik Devletleri'nde 17 milyondan fazla KAH ve 10 milyon civarında anjina pektoris olgusu olduğu tahmin edilmektedir (13). Kararlı KAH konusunda prevalans ve insidansla ilgili verilerin elde edilmesindeki zorluklar nedeniyle gerçek yaşama ait epidemiyolojik yorumlar yapmak kolay değildir. Bu durumun başlıca nedenleri, stabil göğüs ağrısının tanı ve ayırıcı tanısındaki zorluklar, bu alandaki standart değerlendirme yöntemlerinin farklılıkları, etnik ve coğrafi farklılıklardır (13, 14).

Genel olarak KAH olan olguların yarısında anjinal göğüs ağrısı başlangıç semptomu olarak seyreder. Popülasyon tabanlı araştırmalarda anjina pektoris sıklığı cinsiyet ayırt etmeksizin yaşla artmaktadır. Anjinal göğüs ağrısı prevalansı kadınlarda 45-64 yaş arasında %5-7 ve 65-84 yaşlar arasında %10-12 iken; erkeklerde 45-64 yaşları arasında %4-7 ve 65-84 yaşları arasında %12-14 civarındadır. Yani genel olarak prevalans yaş ile artış göstermektedir (15). Orta yaşlı kadınlarda mikrovasküler anjina sebebiyle fonksiyonel KAH daha sık görülürken ileri yaşlarda her iki cinstede daha yaygın ateroskleroza bağlı KAH sıklığı artar. Yıllık insifansı ise 45-64 yaş arası erkeklerde %1 civarındadır ve kadınlarda birazcık daha yüksek oranlarda görülür. 65-84 yaşlar arasında ise her iki cinste de insidans belirgin olarak artar ve %4 civarına ulaşır (16).

Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) ölüm verileri toplam ölümlerin içinde kalp hastalıklarının payının gittikçe artma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Kalp hastalıkları 1989'da %40, 1993'te %45, 2009'da %40, 2013'te %39,6, 2014 yılında %40,4 ile tüm ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almıştır. Kardiyovasküler sistem hastalıkları nedeniyle gerçekleşen ölümlerin %39,6'sı iskemik kalp hastalığından kaynaklanmıştır. Ölüm nedenleri yaş grupları itibariyle incelendiğinde dolaşım sistemi hastalıklarının en fazla 75-84 yaş grubunda görülmüştür. Ölüm nedenleri

daimi ikametgâha göre incelendiğinde ise dolaşım sistemi hastalıkları kaynaklı ölümlerin oranının en yüksek olduğu ilk beş il sırasıyla Denizli, Kırklareli, Yozgat, Samsun ve Artvin'dir (17). KAH ayrıca acil servise başvuruların en önemli nedenlerinden biridir ve üzerinde durulması gereken bir durumdur (18).

Risk Faktörleri

Epidemiyolojik çalışmalar ateroskleroz gelişen kişilerde bazı faktörlerin genel popülasyona göre daha sık bulunduğu göstermiş ve birtakım risk faktörleri tanımlanmıştır. En az bir risk faktörü olan bir kişide aterosklerotik bir olay gelişme olasılığının daha fazla veya daha erken olacağı düşünülmektedir. Altmış beş yaşın altındaki insanların bir çoğunda bir ya da daha fazla risk faktörü bulunmaktadır. Risk faktörleri çoğaldıkça aterosklerotik olay daha da hızlanmakta ve süreç daha erken görülmektedir. Hiperkolesterolemi, hipertansiyon (HT) ve sigara içimi en önemli risk faktörleri olmakla birlikte yüksek HDL değeri de koruyucu özelliğe sahiptir (Tablo 2) (11, 19-22).

Tablo 2. Koroner arter hastalığında risk faktörleri ve koruyucu faktörler

Risk Faktörleri
Yaş <ul style="list-style-type: none">- Erkeklerde 45 yıl üzeri- Kadınlarda 55 yıl üzeri olmak. Ayrıca östrojen replasman tedavisi almamış erken menapoz, uzun süreli doğum kontrol hapı kullanılması
Aile hikayesi <ul style="list-style-type: none">- Birinci derecede erkek akrabalarda ve kadın akrabalarda sırasıyla 55 ve 65 yaşlarından önce MI veya ani ölüm.
Dislipidemi <ul style="list-style-type: none">- Total Kolesterol seviyesinin 200 mg/dl üzerinde olması. (LDL-Kolesterol seviyesinin 130 mg/dl üzerinde olması- HDL Kolesterol seviyesinin 35 mg/dl altında olması
Hipertansiyon
Sigara
Diabetes mellitus
Obezite, sedanter hayat ve stres, genetik
Homosistein, Fibrinojen, Enfeksiyon, Lipoprotein (a)
Koruyucu Faktör
HDL Kolesterol seviyesinin 60 mg/dl üzerine olması

Fizyopatolojisi

Koroner arter hastalığı etiyolojisinin temelinde ateroskleroz yer alır. Aterosklerozun akut koroner sendrom (AKS) gibi yaşamı tehdit eden belirtileri genellikle kan akımındaki ani ve önemli azalmaya neden olan vazokonstriksiyonun eşlik ettiği ya da etmediği, rüptüre veya erode aterosklerotik plak üzerine yerleşen tromboz ile hızlanır. Bunun dışında KAH'ye neden olan arterit, vaskülit, travma, diseksiyon, konjenital anomali, kardiyak kateterizasyon gibi etiyolojilerde fizyopatoloji farklı seyreder (37).

Aterotromboz çoğunlukla lipid toplanmasına bağlı olarak orta boyutlu ve büyük arterlerde meydana gelen kronik ve multifokal immünoinflamatuvar, fibroproliferatif bir hastalıktır. Ateroskleroz yaşamın erken dönemlerinde gelişmeye başlar ve zaman içinde ilerler, fakat ilerleme hızı öngörülemez. Bireyler arasında değişkenlik gösterir.

Aterosklerotik sürecin lipid metabolizmasıyla doğrudan ilişkili bir süreç olduğu nettir. Kanda LDL kolesterol başta olmak üzere total kolesterol düzeyinin semptomatik KAH, KAH nedeniyle ölüm ya da kolesterol plağı gelişme riski o kadar fazladır. Bunun yanında HT, diabetes mellitus (DM), sigara, obezite majör risk faktörleri olarak sıralanabilir. Aile öyküsü, sedanter hayat ile birlikte ileri yaş gittikçe önem kazanan faktörlerdir; fakat hiperkolesterolemi en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir (22)

Yapılan çalışmaların artmasıyla aterosklerotik lezyonların oluşum mekanizması aydınlatılmaktadır. Bu bilgilere paralel olarak aterosklerotik sürecin tedavisinde de önemli aşamalar kat edilmiştir. Özellikle erken lezyonların oluşumu ve lezyonların progresif süreci multifaktöryeldir. Arteriyal endotelde fonksiyonel değişikliklere yol açmakta, lipid akümülyasyonunu arttırmakta ve vasküler duvarda inflamatuvar yanıtına yol açtığı görüşü savunulmaktadır. Ek olarak, monosit gibi diğer bazı inflamatuvar hücrelerin akümülyasyonu ile aterosklerotik süreç hızlanmaktadır. Stimüle edici faktörlerin devamlılığı da inflamasyonun kronik bir yanıt almasına, doku hasarına, dokuların yetersiz iyileşmesine ve nihai olarak da damarın trombus ile tıkanmasına neden olmaktadır (22).

Epidemiyolojik çalışmalar ile LDL, HDL (koruyucu) ve KAH gelişme riski arasındaki ilişki bugün net bir şekilde tanımlanmıştır. Kolesterol transportu HDL

kolesterol ile olduğundan HDL seviyesinin KAH gelişim riski ile ters korele olduğu gösterilmiştir. Yani HDL seviyesindeki artış, KAH riskinde azalma ile ilişkilidir. Böylece, HDL metabolizması, tersine kolesterol transportu ile aterogenezinin birbiriyle sıkı ilişkide olduğu, bu 3 farklı sürecin işleyişine göre KAH seyrinin değişebildiği saptanmıştır. HDL'nin ateroskleroz oluşumu ile olan ters ilişkisi, kısmen tersine kolesterol transportu dışı faktörlere bağlıdır (23).

Aslında aterosklerotik süreç koroner arterlerde erken yaşlarda, hatta infantlarda mikroskopik olarak başlamaktadır. Erken dönemde damarların membrana elastika interna tabakasında kırılma, dejeneratif ve rejeneratif süreç, endotel hücre ve fibroblast proliferasyonu ile mukopolisakkarid depolanması görülür. Ancak görülen bu erken değişiklikler mikroskopik düzeydedir (24).

Seri anjiyografik ve patoanatomik gözlemler, KAH'nin doğal ilerlemesinin iki farklı süreç içerdiğini gösterir. Birincisi, yavaş yavaş on yıllar boyu kademeli olarak lümenin daralmasına neden olan sabit ve hemen hemen hiç geri dönüşümü olmayan süreç (ateroskleroz) ve ikincisi hızlı koroner tıkanmaya neden olan, yavaş ilerlemeyi aniden ve öngörülemez şekilde noktalayan dinamik ve potansiyel olarak geri dönüşü olan süreç (tromboz veya vazospazm ya da her ikisi). Dolayısı ile semptomatik koroner lezyonlar kronik ateroskleroz ve trombozun değişken karışımını içerir. Kronik süreçteki hastalıkta genellikle ateroskleroz baskınken, AKS sorumlu lezyonlarda tromboz baskındır (44-46).

Genetik Faktörler ve Koroner Arter Hastalığı

Genetik faktörler ve KAH arasındaki ilişki daha önce gösterilmiştir. KAH ile ilgili genetik faktörler koagülasyon ile ilişkili, lipoproteinler ile ilişkili ve kan basıncının regülasyonu ile ilişkili genetik faktörler olarak 3 ana başlık altında toplanabilir (Tablo 3) (37).

Aterosklerozun sık görülen biçimleri multifaktöryeldir ve tek gen defektleri yerine çoğunlukla poligenik bozukluklar ile ilişkilidir. Bununla birlikte, nadir Mendelyan bozukluklar hastalık mekanizmalarının kavranmasını sağlamıştır. Bunlar LDL reseptör bozukluğunun görüldüğü ailevi hiperkolesterolemi ve ailevi apolipoprotein B-100 bozukluklarını içerir. Benzer şekilde, apolipoprotein A-1 eksikliği ve ABC taşıyıcı defektleri (Tangier hastalığı) gibi düşük HDL ile ilişkili tek gen defektleri de vardır. Belirli genetik özellikler hemostaz bozuklukları ile

ilişkilidir. Yüksek homosistezik, sistationin β -sentaz defektine (şiddetli tıkalıcı vasküler hastalık ile birlikte görülen gerileyici metabolik bozukluk) bağlıdır. Tip 2 DM, hepatosit nükleer faktör 4 α , hepatosit nükleer faktör 1 α ve glikokinazın değişen ekspresyonuyla ilişkilidir. Hipertansiyon, 11 β -hidroksilaz bozuklukları ve mineralokortikoid reseptör defektleri ile bağlantılıdır (37).

Tablo 3. Koroner Arter hastalığı ile ilişkili genetik faktörler

<p>Koagülasyon ile ilişkili genetik faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">- Glikoprotein IIb/IIIa- PI^{A2} mutasyonu- Faktör V leiden- Protrombin G20210A- Metilentetrahidrofolat redüktaz <p>Lipoproteinler ile ilişkili genetik faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">- Apo AI- Apo AIV- Kolesterol ester transfer protein- Lipoprotein lipaz- Apo B-100- Apo COO- Apo E- LDLR gen polimorfizmleri <p>Kan basıncının regülasyonu ile ilişkili genetik faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">- Anjiotensin converting enzim (ACE)- Anjiotensin II tip I reseptör- Endotelial nitrik oksik sentaz gen polimorfizmleri

Bunun aksine, nispeten sık görülen bir dizi genetik varyasyon koroner kalp hastalığına ve koroner kalp hastalığı risk faktörlerine katkıda bulunur. Bunlar, kolesterol düzeylerindeki (LDL ve VLDL) varyansların yaklaşık %5'ini açıklayan apolipoprotein E defektlerini içerir. Çeşitli polimorfizmler hepatik lipaz, lipoprotein lipaz ve transfer proteinlerdeki defektler aracılığıyla HDL'yi etkiler. Lipoprotein (a)'daki varyansın %90'dan fazlası bir dizi alel ile açıklanır. Polimorfizmler, terahidrofolat redüktazı ve dolayısı ile homosistein düzeylerini etkiler. Belirli polimorfizmler fibrinojen, plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 ve koagülasyon faktör VIII'i ve dolayısıyla koagülasyon ve endojen fibrinoliz defektlerini etkiler. Benzer şekilde anjiotensinojen, beta-2 reseptör ve α -adducin polimorfizmleri kan

basıncını etkiler. Belirli defektler, anjiotensin dönüştürücü enzim ve endotelial nitrik oksit sentazı etkileyerek vasküler tonusa katkıda bulunur. Matriks metalloproteinazları düzenleyenler de dahil, bir dizi polimorfizm plak rüptür riskini etkiler. Polimorfizm gruplarının rolünü açıklığa kavuşturan Genetik ve çevresel faktörler altta yatan genetik riskinin çevresel ve terapötik girişimlerle arttığı veya değiştiği belirli klinik fenotipler oluşturmak için birbiriyle etkileşim içindedir (37).

Anjiotensin Dönüştürücü Enzim ve Koroner Arter Hastalığı

Renin anjiotensin aldosteron sisteminin kardiyovasküler hastalıkların patogeneziindeki rolü bilinmektedir (38-41). ACE, anjiotensin I'den anjiotensin II'ye dönüşümü ve vazodilatör etkili bradikinin parçalanmasını sağlar. Anjiotensin II güçlü bir vazkonstrüktör bir madde olup, hipertrofi uyarıcı etkiye sahiptir. ACE inhibisyonunun sol kalp yetersizliği olan hastalarda mortaliteyi azalttığı, KAH primer ve sekonder korunmasında etkin olduğu bilinmektedir (38). Serum ve doku ACE düzeyleri, ACE genindeki insesiyon/delesyon (I/D) polimorfizmiyle ilişkilidir. Ankiotensin II düzeyi homozigot D aleline sahip kişilerde (17. Kromozomda bulunan ACE geninin 16. İntronundaki 287 baz çiftinin eksikliği), heterozigot veya homozigot I alelli kişilere göre daha yüksektir. ACE gen polimorfizminin kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkileri daha önce çalışılmıştır. Sol ventrikül hipertrofisiyle ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişki genel olarak kabul edilmiştir. Buna göre D/D genotipine sahip bireylerde sol ventrikül ve kalp kitlesinin daha fazla olduğu görülmüştür. HT ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda da ilişki saptanmıştır (38-41). Buna göre, KAH iskemik ve idiyopatik kardiyomiopatiyle ilişkili olduğuna dair raporlar bildirilirken, yine bu durumun aksi sonuçlar da mevcuttur. Türkiye'de yapılan çalışmalarda bazı yazarlar KAH olan grupta D alel sıklığını fazla bulurken yine karşıt görüşlerin olduğu çalışmalar da mevcuttur (41). Tip II DM olan Türk hastalarda HT, mikrovasküler komplikasyon ve ateroskleroz gelişimi üzerine ACE genotipinin etkisi bulunamamıştır (42) Buna karşılık ciddi esansiyel HT olan hastalarda D alelinin rolü olabileceği düşünülmüş, bir başka çalışmada da esansiyel HT'li hastalarda ACE genotipinin sol ventrikül hipertrofisi üzerine etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (43).

Matriks Metalloproteinaz ve Koroner Arter Hastalığı

Hücre-matriks etkileşmeleri, ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu olan proteolitik enzimler tarafından düzenlenir. Bu enzimler ESM yapısının bileşimini ve bütünlüğünü düzenleyerek matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin denetlenmesi, hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre ölümünde de temel rol oynar. Bu enzim sistemlerinin içinde matriks metalloproteinazlar (MMP) önemli bir yer tutar. MMP'ler, ekstrasellüler bileşenlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyum bağımlı endopeptidaz ailesidir. Türlerine göre; endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, damar düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitel hücreleri mezenşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar ve osteoblastlar gibi çok çeşitli hücre tipleri tarafından üretilirler (51).

Normal fizyolojik koşullarda MMP etkinliği; transkripsiyon düzeyinde, öncül zimojenlerin etkinleşmesi ve bazı hücre dışı matriks içeriği ile MMP'nin etkileşime girmesi ile düzenlenir. MMP etkinliğinin denetiminin kaybolması sonucunda artrit, kanser, ateroskleroz, ülser, fibrozis ve anevrizma gibi hastalıklara yakalanma olasılığında artış görülmektedir. Doku inhibitör metalloproteinazlar (TIMP) dokulardaki MMP'lerin bölgesel etkinliğini düzenlerler. Günümüze kadar 24 farklı MMP tanımlanmış olup, bunların 23 tanesi insanda bulunmaktadır. Substrat özgüllüğü, sekans benzerliği ve domain içeriği göz önüne alındığında vertebralılardaki MMP'ler kollajenaz, jelatinaz, stromelisin, matrilizin, membran tipi MMPO, diğer MMP'ler olmak üzere altı kümeye ayrılırlar (52, 61).

Tablo 4. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırması

Enzim	MMP	Kromozom	Substrat
Kollajenazlar			
İnterstisyel kollajenaz; kollajenaz 1	MMP-1	11q22-q23	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7, 10, jelatin, PG
Nötrofil kollajenaz; kollajenaz 2	MMP-8	11q21-q22	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
Kollajenaz 3	MMP-13	11q22.3	Kollajen Tip 1, 2, 3
Jelatinazlar			
Jelatinaz A	MMP-2	16q13	Jelatin, Kollajen IV, V, VII, X, XI, elastin
Jelatinaz B	MMP-9	20q11.2-q13.1	Jelatin, Kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelizinler			
Stromelizin 1	MMP-3	11q23	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Stromelizin 2	MMP-10	11q22.3-q23	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Stromelizin 3	MMP-11	22q11.2	PG, laminin, FN, jelatin, elastin, entaktin, versikan, Tenaskin, kollajen III, IV, IX, X
Matrilizinler			
Matrilizin 1	MMP-7	11q21-q22	Serin proteaz inhibitörleri
Matrilizin 2	MMP-26	11p15	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
Membran tip MMP'ler			
Transmembran			
MT1-MMP	MMP-14	14q11-q12	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
MT2-MMP	MMP-15	15q13-q21	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
MT3-MMP	MMP-16	8q21	Kollajen III, FN, jelatin
MT5-MMP	MMP-24	20q11.2	PG
GPI			
MT4-MMP	MMP-17	12q24.3	Jelatin
MT6-MMP	MMP-25	16p13.3	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri			
Makrofaj elastaz	MMP-12	11q22.2-q22.3	kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
Tanımsız	MMP-19	12q14	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
Enamelizin	MMP-20	11q22.3	Agrekan, amelogenin
XMMP	MMP-21	ND	Tanımlanmamıştır
CA-MMP	MMP-23	1p36.3	Tanımlanmamıştır
CMMP	MMP-27	11q24	Tanımlanmamıştır
Epilizin	MMP-28	17q21.1	Tanımlanmamıştır

Koroner arter hastalığında aterosklerotik plağın yırtılmasındaki etkenlerden birisi de MMP'lerdir. Makrofajlardan salınan TNF- α ve IL-1, trombositlerden salınan platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblastlar ve endotel hücrelerinden salınan bazik fibroblast büyüme faktörü gibi çeşitli büyüme faktörü ve sitokinler insanlarda vasküler düz kas gücreleri, endotel hücreleri, makrofajlar, lenfositler gibi farklı hücre tipleri değişen oranlarda olmak üzere MMP sentezini uyarırlar. Çeşitli deneysel ateroskleroz modellerinde oluşan aterosklerotik lezyonlarda ve aortik okluzif hastalığı ya da aortik anevrizması olan hastalardan alınan aterosklerotik arter örneklerinde MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP11, MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'ün ekspresyon ve etkinliklerinin arttığı gösterilmiştir (47, 52). Uyarılan MMP'ler kollajen, jelatik, elastin, laminin, proteoglikan gibi ekstrasellüler matriks proteinlerini yıkıma uğratırlar ve böylece düz kas hücre göçünü kolaylaştırır, çoğalmasını hızlandırır. Süregelen düz kas gücre çoğalması, göçü ve sonrasında ESM birikimi aracılığıyla damar duvar matriksi modifiye edilir ve sonuçta erken dönemde intimal kalınlaşma ileri evrede de aterosklerotik plak oluşumu gerçekleşir (48, 49). İntimal kalınlaşmanın önce yağlı çizgilenme daha sonra da fibröz aterosklerotik plağa dönüşmesinde ESM döngüsü (yapım ve yıkımı) önemlidir ve MMP'lerin de ESM döngüsünde temel rol oynadıkları kabul edilmektedir. Aterosklerotik plağın yırtılmaya eğilimli bölgeleri olan lezyonun omuz bölgesinde makrofaj kökenli köpük hücrelerinin biriktiğinin gösterilmesi, makrofaj kaynaklı MMP'lerin plak kırılabilirliği ve yırtılmasında önemli görevleri olduğunu düşündürmektedir. Lezyondaki makrofajlardan MMP'lerin üretiminin uyarılması aktive T hücreleri tarafından sağlanmaktadır (50-52). Aterosklerotik plak dokusunda çeşitli MMP türlerinin ekspresyon ve etkinliklerinin arttığının gösterilmesi plak destabilizasyonunda MMP'lerin önemli role sahip olduğu görüşünü desteklemektedir (52). Kardiyak yeniden yapılanma, kardiyak miyositlerde ve ESM'de değişikliklere neden olur. ESM, biyolojik olarak aktif moleküller için depo görevi görmekle birlikte fibriler kollajen, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi yapısal proteinleri de içermektedir. Kalp kası kollajenleri, yan yana bulunan kas hücrelerinin yapısal devamlılığını sağladığı için ESM'de olan değişiklikler kalp kasının işlev ve yapısının kaybolmasına neden olmaktadır (53). MMP'lerin kalpte birçok patolojik durumda etkinlikleri ve

ekspresyonları artar. MMP etkinliğindeki artış MI'dan bir gün sonra çok erken ortaya çıkmaktadır (54). MMP geni yok edilmiş sıçanlarla yapılan çalışmalarda, MMP-2 ve MMP-9'un MI sonrası kardiyak yırtılmalarda önemli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca son çalışmalarda MMP-14 düzeyinin iskemi-reperfüzyon sonrası arttığı bulunmuştur. MMP-3 ve MMP-9'un ise aterosklerotik plak üzerinde, plak büyümesini sınırlayarak ve plak kararlılığını artırarak koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Fakat MMP-12'nin aterosklerotik lezyonun genişlemesini sağlayıp ve plak kararlılığını azalttığı ortaya konulmuştur (55). MMP'ler içinde MMP-3 ve MMP-9 aterosklerotik plaklarda en yaygın bulunan enzimlerdir. MMP ekspresyonu ana olarak transkripsiyon düzeyinde ve çeşitli büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıt veren promoter genler düzeyinde düzenlenirler. Artan kanıtlar MMP promoter bölgesinde tek nükleotid polimorfizminin, MMP'nin transkripsiyonel etkinliğini değiştirdiği ve sonuç olarak koroner damar hastalığına duyarlılığı artırdığını göstermektedir (56). MMP-3, ESM proteinlerinden; tip 2, tip 4 ve tip 9 kollajen, proteoglikan, laminin, fibronektin, jelatin ve elastin üzerinde proteolitik etkiye sahiptir. Aynı zamanda çapraz bağ yapmış fibrini de parçalayabilmektedir. MMP-9 ise damar duvarı endotel altındaki yapıları ve damar düz kas hücrelerini çevreleyen bazal membranın ana yapıtaşısı olan tip 4 kollajeni parçalar. Bu çok yönlü enzimin damar ve kalp yeniden yapılandırılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca çok sayıda genetik epidemiyolojik çalışma MMP-3 polimorfizminin değişik kalp-damar hastalıkları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (56-59).

Bugün dikkatler daha çok MI'daki genetik duyarlılık ve bazı genetik belirteçlerin tanımlanması üzerinedir ve bulunan bulguların miyokard infarktüsünün erken tanısına yardımcı olacağı yönündedir (60). Birçok MMP gen polimorfizmi ile KAH, darlık, kalp krizi, koroner anevrizma, inme ve büyük damar ateroskleroza gibi kalp damar hastalıkları birlikte bulunmaktadır

Tanı

Koroner arter hastalığında korunma yöntemlerinin yanı sıra erken tanı konarak uygun tedavinin planlanması oldukça önemlidir. Girişimsel olan ve olmayan birçok tanı yöntemi kullanılmakla birlikte, koroner anjiyografi gold standart tanı yöntemi olmaya devam etmektedir (25).

Girişimsel Olmayan Yöntemler

Egzersiz elektrokardiyografi (EKG) stres testi, miyokard perfüzyon sintigrafisi (MPS), ekokardiyografi, egzersiz radyonüklid ventrikülografi, Elektron beam bilgisayarlı tomografisi, kardiyak manyetik rezonans görüntüleme (MRG), kardiyak bilgisayarlı tomografi (BT), pozitron emisyon tomografi girişimsel olmayan tanı yöntemleri olarak sıralanabilir.

Egzersiz EKG testi

Egzersiz EKG testi hem KAH tanısında hem de prognoz ve revaskülarizasyon sonrası değerlendirme amacıyla kullanılabilir. Uygun seçilen hastalarda oldukça güvenli bir yöntemdir. Sensitivitesi yaklaşık %70, spesifitesi ise %75'tir. Egzersiz EKG öncesi hastanın kullandığı ilaçlar, ailede ani ölüm öyküsü, kardiyak ve kalp dışı hastalıklar hakkındaki geniş bir anamnez alınıp, mutlaka patolojik üfürümlerin varlığı gözden geçirilmelidir (26).

Efor testinin pozitif kabul edilebilmesi için birbiriyle ilişkili en az 2 derivasyonda J noktasından itibaren, en az 80 msn devam eden 1 mm ve üzerinde ST depresyon görülmesi gerekmektedir. Depresyon horizontal olabildiği gibi aşağıya doğru da eğimli olabilir. Eğimin hızlı ve yukarı doğru olması (J noktasından 80 msn sonra 1 mm'nin altında ST depresyonu) egzersize normal bir yanıt olarak değerlendirilebilir; fakat yavaş yukarı doğru eğimli ST depresyonu göğüs ağrısı ile beraber olduğunda MI açısından anlamlıdır. Q dalgası olmayan derivasyonlarda ST elevasyonu görülmesi transmural iskemiyi gösterir ve efor testinde görülen ST depresyonunun aksine lokalizasyon verir. Efor testi sırasında süreksiz ventriküler taşikardi %2 oranında gözlenir ve genelde iyi tolere edilir. Efor testi rölatif ve mutlak kontrendikasyonları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Efor testi kontrendikasyonları

Mutlak	Rölatif
Akut MI sonrası ilk 2 gün	Sol ana koroner arter lezyonu
Sabilize olmamış unstabl anjina	Orta derecede kapak darlıkları
Kontrol edilemeyen aritmi	Elektrolit anormallikleri
Semptom gösteren ileri aort darlığı	Kontrol edilemeyen hipertansiyon
İleri kalp yetersizliği	Taşikardi veya bradikardi
Akut pulmoner enfarkt veya emboli	Hipertrofik obstruktif kardiyomyopati
Akut perikardit veya miyokardit	İleri derece atrioventriküler blok
Akut aort diseksiyonu	Mental veya fiziksel retardasyon

Miyokard perfüzyon SPECT

Talyum-201 ya da teknesyum-99m işaretli radyonüklid maddelerden birisi (sestamibi, tetrafosmin) ile SPECT yönteminin kombine edilerek miyokard perfüzyonunun görüntülenmesi amacıyla sık olarak kullanılmaktadır. Semptomatik hastalarda KAH tanısının konması ve kronik KAH olan veya akut MI atağı geçirenlerde risk değerlendirilmesi için kullanılabilir (27).

Radyonüklid ventrikülografi

Stress veya egzersiz koşullarında fokal ya da global olarak ventrikül fonksiyonunun değerlendirilmesi amacıyla kullanılır. KAH değerlendirmesi için MPS'ye bir alternatiftir. Bununla birlikte sensitivite ve spesifitesi MPS'ye göre daha düşüktür. Klinik pratikte çok yaygın kullanılmamaktadır.

Ekokardiyografi

Ekokardiyografi klinik olarak kolay ulaşılabilir olup, ventrikül hareketlerinin değerlendirilmesinde, sistolik ve diyastolik fonksiyon hakkında, geçirilmiş MR olması durumunda anevrizma, trombüs gibi komplikasyonların varlığı hakkında bilgi verir. İstirahat anında değerlendirme yapılacağı gibi egzersiz ve stres sırasında veya hemen sonrasında da yapılabilir. Kalp hızı değişikliği ile birlikte yeni saptanan bölgesel duvar hareketleri ekokardiyografi ile değerlendirilebilir. Ek olarak, hareketsiz veya diskinetik bölgelerde viable miyokard dokusunun gösterilmesi amacıyla da kullanılır. Kullanıcı bağımlı olması dezavantaj olmakla birlikte

deneyimli bir ekokardiyografi laboratuvarında sensitivite ve spesifitesi yüksek bir yöntemdir (25).

Elektron Beam Bilgisayarlı Tomografisi

Koroner arter duvarında bulunan kalsiyum, ateroskleroz için sensitif ve spesifik bir markıdır. Elektron Beam BT ile hastalarda ateroskleroza riskini saptamak için koroner arter kalsiyum skoru geliştirilmiştir. Semptomatik hastalarda kullanılabileceği gibi asemptomatik hastalarda da kullanılabilir. Koroner arter kalsiyum skoru yükseldikçe koroner ateroskleroz insidansı yükselmektedir. Fakat kalsiyum saptanmaması akut koroner sendrom gelişmeyeceği anlamına gelmez. Bunun nedeni ise koroner sendrom gelişimi plağın hassas olmasına bağlıdır. Sonuç olarak Elektron Beam BT'nin klinik olarak kullanılabilmesi için geliştirilmesi ve kanıta dayalı tıp bulguları ile daha fazla desteklenmesi gerekir.

Kardiyak Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kardiyak morfolojinin, anatomisinin değerlendirilmesi dışında beslenmesi ve viable dokunun değerlendirilmesi amacıyla kullanılan başarılı bir görüntüleme yöntemidir. MRG ile koroner arterler bile görüntülenebilmektedir. Teknolojik gelişmeler ile birlikte rezolüsyonun artması sonucu daha net görüntüler alınmaya başlanmıştır. Kardiyak MRG, fokal duvar hareketi, global olarak sol ventrikül fonksiyonu, miyokard perfüzyonu, viabilite ve KAH hakkında oldukça faydalı ve güvenilir bilgiler sağlamaktadır. Sensitivitesi %81, spesifitesi ise %99 olarak bildirilmiştir (26).

Girişimsel Tanı Yöntemleri

Koroner arter hastalığının girişimsel tanı yöntemlerine baktığımızda anjiyografi, sol ventrikülografi, koroner anjiyoskopi, intravasküler ultrasonografi ve damar içi basınç ölçümleri sayılabilir.

Koroner anjiyografi

Limitasyonları olmakla birlikte günümüzde KAH tanısı için hala gold standart görüntüleme yöntemi olarak sıkça kullanılmaktadır. KAH'de tıkaçıcı durumlar için kesin tanı konulmasında faydalıdır. Diğer yandan komplikasyon gelişebileceği ve limitasyonları da göz önünde bulundurulmalıdır. İnme, akut MI, kullanılan kontrast maddeye hipersensitivite reaksiyonları ve böbrek yetmezliği, vasküler yaralanmalar ve hatta anjiyo sırasında mortalite görülebileceği akılda tutulmalıdır (27). Anjiyografik

görüntülerin değerlendirilmesinde kişi bağımlı olması önemli bir limitasyondur ve inter-rater güvenilirlik oranı değişebilir. Maliyeti yüksek olması diğer bir dezavantajdır.

Koroner anjiyoskopi

Koroner anjiyoskopide fiberoptik endoskoplar aracılığıyla girilerek koroner arterlerin lümeni hakkında direk görsel bilgi sağlayan yöntemdir. Proksimal oklüzyon balonu ile tuzlu su püskürtülerek kan görüntü alanından uzaklaştırılır. Bu yöntem aterosklerotik plaklarla hakkında patofizyolojik bilgiler sağlasa da klinik pratikte kullanılmamaktadır.

İntravasküler ultrasonografi

Kateter uçlu iki boyutlu bir ultrason probu aracılığıyla yapılan invaziv bir yöntemdir. Koroner arterlerin lümeni ve duvarı aynı sekasnta görüntülenebilir. Böylece lümen içi patolojileri gösterebildiği gibi vasküler katmanlar hakkında da bilgi veririr. Arteriyal duvar veya plak içerisinde kalsifiye alanların görüntülenebilir. Tedavi kararı vermeye etkili olabilir. Pahalı bir yöntem olması dezavantajı olup rutin olarak kullanılmamaktadır. Daha çok çalışmalarda değerlendirme yöntemi olarak kullanılır (28).

Koroner arter hastalığı tanısında kullanılan testlerin sensitivite ve spesifitesi Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6. Koroner arter hastalığında kullanılan testlerin sensitivite ve spesifitesi

Tanı Yöntemi	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
Koroner BT anjiyografi	98	82
Stres ekokardiyografi	79	87
Pozitron emisyon tomografi	92	85
Miyokard perfüzyon sintigrafisi	92	86
Eforlu EKG testi	68	77
Stres Kardiyak MR Perfüzyon	81	99

Miyokard Perfüzyon Sintigrafisi

Miyokard perfüzyon sintigrafisi KAH tanısı ve revaskülarizasyon sonrasında görüntüleme yöntemi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Görüntüleme yönteminin ana mantığı intravenöz yoldan verilen radyoaktif maddenin miyokard dokusundaki tutulumunun ölçümüne dayanır. Stres halinde koroner kan akımı miyokard dokusunda göreceli olarak heterojen bir dağılım gösterir. Buna bağlı olarak da KAH'ye neden olan arter tespit edilir. Aynı zamanda miyokard dokusunda herhangi bir akım problemi olmayan bölgelerde de sintigrafik radyoaktif madde tutulumu normal olarak saptanabilir. SPECT tekniği ile Gama kamera kullanılarak alınan görüntüler sonucunda rekonstrüksiyon yapılarak 3 boyutlu görüntü elde edilir. Teknikte görüntüler 10-15 mm aralıklı olduğundan çözünürlüğü göreceli olarak düşüktür (29). KAH tanısında MPS' nin üç boyutlu görüntü verme özelliği sayesinde EKG'ye oranla daha anlamlı olduğu gösterilmiştir. KAH durumunda stress anında uygulanan EKG'nin sensitivitesi %85, spesifitesi %64'tir. Yapılan çeşitli araştırmalarda ise MPS'nin sensitivitesi ve spesifitesi sırasıyla %92 ve %86 olarak bulunmuştur (30,31).

Tedavi

Koroner arter hastalığında tedavi yaklaşımı değiştirilebilir risk faktörleri açısından koruyucu girişim stratejileri, sekonder korumada farmakolojik tedavi ve miyokardiyal revaskülarizasyon olmak üzere 3 aşamayı içerir (32).

Bazı ön haberci risk faktörleri girişimin potansiyel hedefleridir. Koruyucu bir girişim geliştirmede en önemli adım neden-sonuç ilişkisinin kurulmasıdır. Sigara bırakılması, kan basıncı kontrolü, lipid kontrolü, yaşam tarzının değiştirilmesi ve kan şekeri kontrolü koruyucu girişim stratejileridir (32).

Antitrombositer ilaçlar, lipid düşürücü ilaçlar, ACE inhibitörleri, beta blokerler ve kalsiyum kanal blokerleri prognozu iyileştirmek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte kısa ve uzun etkili nitratlar, beta blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, semptomların ve iskeminin farmakolojik tedavisinde yer almaktadır (32).

Koroner arter hastalarında revaskülarizasyon planlanmasındaki en önemli etken miyokard kanlanması ve oksijen talebi arası uyumsuzluklar sonucu hastanın semptomatik hale gelmesidir. Hastalarda medikal tedavi sayesinde afterload ve preload düşürülerek, kalp hızı yavaşlatılarak veya kontraktilesi azaltılarak bu

uyumsuzluk giderilmeye ve denge sağlanmaya çalışılır (32).

Tedavide girişimsel yöntemler olan perkütan translüminal koroner anjioplasti (PTKA) ve koroner bypass greftleme cerrahisi (KBGC) miyokard dokusunda kanlanma arttırılarak, arz-talep dengesi sağlanmaya çalışılır. KAH uzun dönem sağ kalım sonuçları incelendiğinde kanlanmanın arttırılmasının ve oksijen ihtiyacının azaltılmasının etkinliği ortaya konmuştur ve uzun dönemde hastalarda bu iki faktörün kombinasyonunun iyi sonuçlar verdiği görülmektedir (33-36).

Koroner bypass greftleme cerrahisi ile medikal tedavini karşılaştırıldığı birçok kontrollü çalışma yapılmıştır. Buna karşın 1980'lerde 3. bir yaklaşım olarak ortaya çıkan PTKA, bugün Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda ortalama 400,000 vakada uygulanır hale gelmiştir. PTKA daha önce KBGC ihtiyacını ortadan kaldırmak veya ertelemek üzere gelişmiş bir tedavi olarak düşünülürken, bugün bunun özellikle medikal tedavi planlanmış hastalarda uygulandığını görmekteyiz. Böylece ABD'de artan PTKA insidansı ile birlikte aynı oranda KBGC artışı da göze çarpmaktadır (33-36).

Dünyada cerrahi revaskülarizasyon giderek artan oranlarda uygulanmasına rağmen, bazı nedenlerden dolayı KAH'nin tedavi tercihleri konusunda halen şüpheler bulunmaktadır. KAH'li hastalarda sol ventrikül fonksiyonları, bunun beraberindeki önemli komorbiditeler, klinik ve anjiografi bakımından oldukça heterojen bir gruptur. Hastalar arasındaki bu çeşitlilik ve heterojenite nedeni ile uygulanan tedavilerin sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla planlanan prospektif ve randomize çalışmalar yapabilmek oldukça güçtür.

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TEKNİĞİ (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), bir organizmaya ait normal ya da parçalanmış DNA ya da RNA'nın *in vitro* ortamda çoğaltılarak genetik farklılıkların incelenmesine olanak veren bir yöntemdir. Teorik olarak 1970'lerde ortaya atılmıştır. Daha sonra 1980'lerde Kary Mullis ve arkadaşları *Escherichia coli* DNA Polimeraz I'in Klenow fragmanını kullanarak *in vitro* ortamda tek kopya memeli genini çoğaltmayı başarmışlardır. Saiki ve arkadaşları tarafından 1988 yılında termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus* ile yapılan çalışmalarda ısıya dayanıklı polimerazın kullanılmasıyla metod geliştirilmiş, otomasyonu sağlanmış ve bilim dünyasında

moleküler biyoloji, adli tıp, prenatal tanı ve arkeolojiye kadar uzanan geniş bir yelpazede kendisine kullanım alanı buldu (62).

PCR metodu ile 1 µg'dan daha az DNA örneğinin istenilen miktarda çoğaltılarak DNA analizinin saatlerle ifade edilen süreler içerisinde yapılması mümkündür. Ayrıca bu yöntemde DNA amplifikasyonu belirli bir noktada amplifikasyon durdurulduğunda onun devam etmediğinden emin olunmaktadır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Oluşum Mekanizması

Bu reaksiyon çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması prensibine dayanır. Oligonükleotid primerler, kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelere bağlanırlar. Primerlerin spesifik olarak hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar ve bu sayede kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur (63).

Bir PCR döngüsü üç evreden oluşmaktadır. Bunlar sırası ile denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) evreleridir.

DNA'nın Denatürasyonu

Bu aşamada çoğaltılması istenen çift sarmal DNA, sarmalları bir arada tutan hidrojen bağlarını ayırmak üzere denatüre edilerek tek sarmal haline getirilir. DNA sarmallarının birbirinden ayrılması için çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler olmakla birlikte 95-100 °C'ye kadar ısıtmak uygulanabilecek en basit ve ekonomik yöntemdir. Ancak PCR sırasında genellikle en etkin denatürasyon sıcaklığı 92-95 °C'dir (62).

Primerlerin Bağlanması (annealing)

Bu evrede primer adı verilen ve çoğaltılması istenen DNA için spesifik olan sentetik oligonükleotid, ilk evrede elde edilen DNA tek sarmalı üzerinde kendisine komplementer olan nükleotid dizisi ile bağlanır. Primerler, hedef DNA sarmalının amplifikasyonunu başlatmak amacıyla kullanılırlar. Primerler minimum 17-19 nükleotidden oluşmuş oligomerlerdir. Primerlerin bağlanması aşamasında deney ortamının ısısı 40-60 °C'ye düşürülür.

Primerlerin uzatılması (extension) ve Amplifikasyon

Primerlerin bağlanması aşaması tamamlandıktan sonra primer hibridleştiği tek sarmalın karşılığını sentezler. Bu sentez için termostabil olan ve *Thermus aquaticus* adlı bakteriden elde edilen Taq DNA polimeraz enzimi kullanılır. Nükleotidleri orijinal DNA sarmalına komplementer olacak biçimde primere ekler ve uzatır. Oluşan yeni DNA sarmalları bir sonraki döngüde primerler için kalıp olarak rol oynarlar.

Primerlerin uzatılması aşamasında 70-75 °C'lerde ısı uygulanır. 72 °C'de nükleotid eşleşme hızı, tampon, pH, tuz konsantrasyonu ve DNA kalıbının yapısına bağlı olarak saniyede 35-100 nükleotid olarak gerçekleşir. 72 °C'de bir dakikalık uzama süresi 2 kilobayt (kb) uzunluğundaki bir amplifikasyon ürünü için yeterli kabul edilir.

Polimeraz zincir reaksiyonu uygulamasında üç evre bir döngü olarak kabul edilir, bir döngü 3-5 dakika sürer ve 20-40 kez tekrarlanır. Her döngü sonunda DNA miktarı geometrik dizi şeklinde iki katına çıkar. Döngü sayısı "n" olarak kabul edilirse "2ⁿ" çoğaltılmış DNA materyali miktarını verir (62). Termostabil DNA polimerazları ve farklı sıcaklık derecelerini istenilen süreler için otomatik olarak ayarlanabilen PCR aletlerinin ("*thermal cycler*") kullanıma sunulması, PCR'nin verimi ve kullanımında önemli gelişmelere yol açtı (63).

Polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin uygulanabilmesi için öncelikle tam doğru bir baz dizisi bilgisine ihtiyaç bulunmaktadır. Yöntemin son derece duyarlı olması nedeniyle çok küçük miktarlardaki kontaminasyon bile yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. PCR çalışmalarında diğer bir dezavantaj ise, her primer çiftinin kendine özgü annealing ve uzama koşulları (ısı, döngü uzunluğu, primer yoğunluğu, Mg²⁺ konsantrasyonu, enzim ve DNA miktarı) olmasıdır (62).

PCR'ın Temel Bileşenleri

PCR'ın temel bileşenleri, kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) karışımı, tampon ve MgCl₂'dür.

Kalıp DNA

Polimeraz zincir reaksiyonu yönteminde insan genomik DNA'sı kullanılabilir gibi, plazmid ve faj DNA'ları, çeşitli genler ve hatta herhangi bir

DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir. PCR 'da kalıp olarak tek ya da çift iplikli DNA'nın yanı sıra RNA da kullanılması mümkündür.

Polimerazlar

DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere, orijinal iplikteki baz bilgisini kullanarak dNTP'lerden uzun polinükleotid zinciri sentezinin katalizinde rol oynarlar. Bu enzimler, sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan primerlere gerek duyarlar. Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup, primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapmalarıyla, fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerizasyonu gerçekleşir. Etkinliğine, büyük DNA ürünlerini çoğaltma yeteneğine göre değişik enzimler seçilebilir. Termostabil DNA polimerazlardan Taq DNA polimerazın polimerizasyon oranı (nükleotid/saniye) enzim için en uygun sıcaklık olan 70-80 °C'de 35-100'dür.

Primerler

DNA'nın istenilen bölgesinin çoğaltılması sırasındaki reaksiyonların verimini ve spesifikliğini etkileyen faktörler içerisinde en kritik basamak primer dizaynıdır. Titizlikle dizayn edilmiş primerler, yüksek kalitede ürün elde edilmesini ve istenmeyen bölgelerin çoğaltılmasının önlenmesini sağlarlar.

Primerler, hedef dizinin her iki ucuna uyan oligonükleotidlerdir. Bu iki oligonükleotidden biri, çift zincirli bir DNA molekülünün zincirlerinden birinin ucundaki hedef diziye, diğeryse, diğer uçtaki diziye tamamlayıcı olarak uyması için tasarlandı (64).

Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP)

Deoksiribonükleaz trifosfatlar (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) saflık oranı yüksek tek tek veya dörtlü karışım halinde bulunurlar. Taq DNA polimeraz μM ile ifade edilen düşük dNTP konsantrasyonlarında kalıba uygun doğru bazları seçmede daha başarılı olmakla birlikte, normal koşullarda PCR, 100 μM dNTP konsantrasyonu ile gerçekleştirilir (63).

Tamponlar ve MgCl_2

Tampon çözeltiler PCR'da ortam pH'ını ayarlamak için kullanılır. Tampon çözeltisinin içeriğindeki Tris-Cl, pH'yı oda sıcaklığında 8.3-8.8 aralığında tutar. 72°C'de sıcaklıkta pH 7.2'ye kadar düşer.

Bütün polimeraz enzimlerinin aktivitelerini gösterebilmeleri için reaksiyon ortamında kation bulunmalıdır. Bu amaçla genellikle Mg^{+2} 1-1,5 mM aralığında konsantrasyonlarda kullanılır. Düşük Mg^{+2} ürün oluşumunda azalmaya yüksek konsantrasyonlar ise spesifik olmayan ürün artışına yol açar.

Standart PCR tamponu, 50 mM KCl, 10 mM Tris-Cl ve 1,5 mM $MgCl_2$ içerir. PCR'da Mg^{+2} konsantrasyonunun iyi ayarlanamaması; primer yapışması, PCR ürünü ve kalıpların ayrılması ve ürün spesifikliğinde istenmeyen değişiklikler gibi sonuçlara yol açar (63, 65).

ELEKTROFOREZ

Ortamda çözülmüş olarak bulunan yüklü moleküllerin bir elektrik alanı içerisinde elektrik yüklerinin kitlelerine oranıyla belirlenen hızlarda alan içerisindeki dağılımının izlenmesi tekniğine dayanan yöntem elektroforez adı verilir. Analiz edilecek numune destek ortamı vazifesi gören selüloz veya jellere uygulanır. İşlem, içerisinde uygun bir tampon bulunan elektroforez aygıtına yerleştirilerek yapılır. Numune, jelin üzerine nokta şeklinde veya ince bir bant olarak uygulanır.

Moleküllerin jel üzerindeki hareketi moleküllerin yükü, boyutu, biçimi ve elektriksel alanın şiddetine bağlıdır. Elektroforez az miktardaki protein ya da nükleik asit karışımlarının saflaştırma ve analiz işlemlerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Tipi ya da konumu değişik elektroforez çeşitlerini görmek mümkündür. Dikey ya da yatay konumdaki destek ortamı selüloz ya da poliakrilamid veya agaroz ince jellerden hazırlanmış olabilir. Elektroforez, bir proteinin saflığının, kompozisyonunun ve antijenik özelliğinin analizinde çok faydalıdır (63).

GEREÇ VE YÖNTEM

Koroner arter hastalarında matriksmetaloproteinaz 2 ve anjiotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizminin araştırıldığı prospektif tipteki çalışmamız 1 Ocak 2018 ile 31 Aralık 2018 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Anabilimdalı'nda yürütüldü.

Çalışmaya başlanmadan önce Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (06.03.2018 tarih ve 05 sayılı kurul kararları ile). Araştırmaya katılan 18-91 yaş aralığında 100 kontrol ve 200 hasta olmak üzere toplam 300 bireyden Helsinki Deklarasyonuna uygun şekilde aydınlatılmış onam alındı.

Bireylerden toplanan periferik kan örnekleri steril, ortalama 2 ml antikogülanlı (K3EDTA) vakumlu tüpler içerisine alındı. Toplanan kanlar DNA izolasyon aşamasına kadar -20°C' de saklandı. Elde edilen genomik DNA'larda; PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi ile matriks metallo proteinaz 2 ve anjiotensin dönüştürücü enzim genine özgü bölge çoğaltılarak ve bu bölgelerde yer alan polimorfik odaklar restriksiyon enzimi ile kesilerek, yüksek çözünürlükteki agaroz jelde gözlenecek ve PCR/RFLP tabanına dayalı genotipleme yapıldı.

Ayrıca hastaların cinsiyet, yaş gibi demografik özelliklerinin yanı sıra; hemogram ve biyokimyasal parametreleri (BUN, Üre, Kreatinin, AST, ALT, CRP, Total Kolesterol, HDL, LDL, VLDL, Trigliserid, Na, K vb.) ve komorbiditeleri (HT, HL, KOAH vb.) de bilgisayar ortamına aktarılarak istatistiksel analizler yapıldı.

DNA İzolasyonu

1. Dokular bir doku homojenizatörü ya da steril havan içerisinde sıvıazot kullanılarak iyice ezilir ve toz haline getirilir ve daha sonra butoz mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Taze doku örnekleri direkt olarak mikrosantrifüj tüpüne alınır. (homojenizasyon)
2. lizis tamponu 50 mg' lık doku başına 0.5 ml olacak şekilde eklenir ve 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkube edilir. (Proteinaz-K ile lizis)
3. Eşit hacimde fenol örneklere eklenir ve iyice vortekslenir ve fazlar 13000 x g'de 5 dk. santrifüjlenerek ayrılır. (fenol ekstrak.)
4. Üstteki sıvı faz ara faza dokunulmadan dikkatli bir şekilde alınarak yeni bir mikrosantrifüj tüpüne eklenir.

5. Örnekler kloroform / izoamil alkol (24:1) karışımıyla tekrar ekstrakte edilir ve üst sıvı faz yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. (kloroformekst.)
6. 0.1 hacimlik 3 M'lık NaOAc (pH 5.2) örneklere eklenir, karıştırılır, daha sonra 2.5 hacim soğuk etanol eklenir ve DNA'nın presipite olması için 1 saatoda sıcaklığında beklenir. (presipitasyon)
7. DNA santrifüjlenerek (13000 x g, 10 dk) peletlenir vesolüsyon dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır.
8. Elde edilen pelet % 70'lik soğuk etanol içerisinde yıkanır ve 6. aşamadaki gibi santrifüjlenir. (yıkama)
9. Etanol uzaklaştırılır, artanın kağıt havlu üzerinde tüp ters çevrilerek kaybolması sağlanır. Tüpler 30dk. bu şekilde havada kurutulur.
10. DNA 100-200 µl steril suda çözülür. Buhazırlanan DNA'nın 1 µl'si PCR testinde kullanılır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bu çalışmada DNA analizi için tercih edilen PCR tekniği, ilgilenilen DNA dizisinin in vitro şartlarda çoğaltılmasına dayanan, pratik ve güvenilir olmasından dolayı günümüzde moleküler biyolojik çalışmalarda geniş kullanım alanına sahip bir tekniktir. PCR tekniğinin prensibi; tekrarlanan üç basamağa bağlıdır. Bir PCR döngüsü;

- Denatürasyon,
- Primerlerin bağlanması (annealing) ve
- Uzama (extension) basamaklarından oluşur.

Matriks metalloproteinaz gen bölgelerinin çoğaltılması işlemi PCR tekniği ile başarılmıştır.

Dahil Edilme Kriterleri

- Hasta grubuna dahil edilenlerin koroner arter hastalığının bulunması,
- Kontrol grubuna dahil edilenlerin sağlıklı olması, risk sınıflamasında düşük riskli olması
- MMP-2 gen polimorfizminin hastanemiz laboratuvarında analiz edilmesi,
- >18 yaş olması.

Dışlanma Kriterleri

- Hasta grubunda koroner arter hastalığı dışında herhangi bir kalp rahatsızlığı bulunması,
- Kontrol grubunda herhangi bir kalp rahatsızlığı ya da koroner arter hastalığı bulunması,
- Bireylerin MMP-2 sonuçlarına ulaşamaması ya da şüpheli sonuç,
- 18 yaşından küçük olması.

Koroner Arter Hastalığı Risk Sınıflaması

Düşük Risk*	En fazla 2 risk faktörü varlığı
Orta Risk**	≥ 3 risk faktörü varlığı <50 yaş Metabolik sendrom
Yüksek Risk	Aterosklerotik damar hastalığı Diabetes mellitus ≥50 Yaş Metabolik sendrom***

*Aterosklerotik Damar Hastalığı, DM, Metabolik Sendrom hariç.

**Aterosklerotik Damar Hastalığı, DM hariç olup <5 yaş Metabolik sendrom dahildir.

***Erkeklerde yaşı ≥ 50 olması, kadında ise yaşı ≥ 50 ve TK/HDL-K oranının > 5 olması

Örneklem Analizi

Yapılan güç analizi sonucunda, koroner arter hastalığı olan grupta % 30, kontrol grubunda % 5 polimorfizm saptama öngörüsüyle % 80 güç ve % 95 güven aralığında her bir grup için en az 27 kişiye ulaşılması hesaplandı. Çalışmaya 300 kişi (200 hasta grubu 100 kontrol grubu) alındı.

İstatistiksel Analizi

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 17.0 programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu histogram grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama, standart sapma, ortanca ve minimum-maximum değerler kullanıldı. 2x2

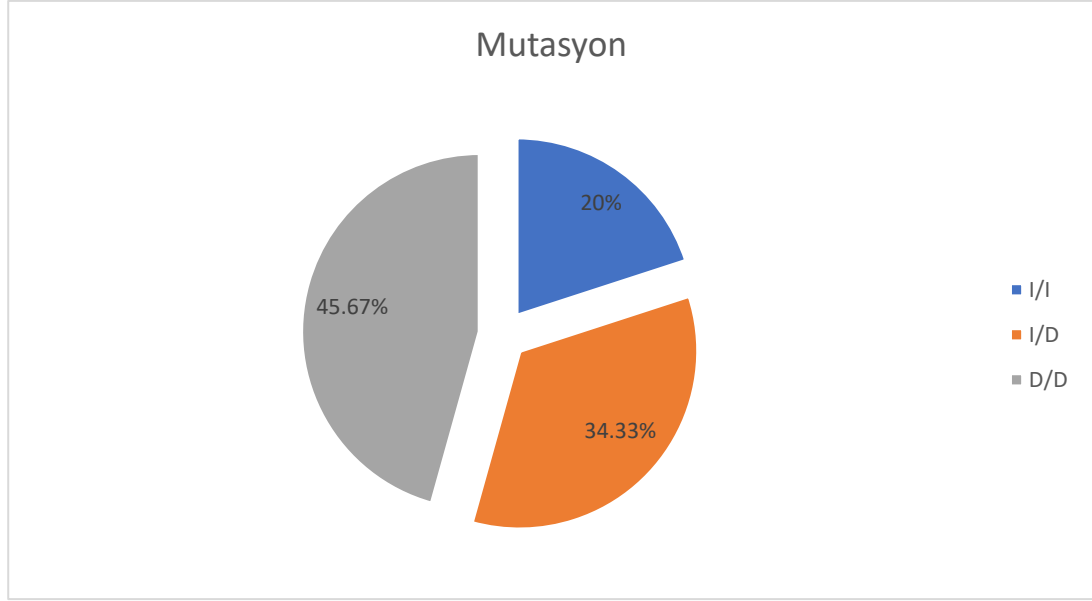
gözlerde Pearson Ki Kare ve Fisher's Exact Testleri ile karşılaştırıldı. Normal dağılım göstermeyen (nonparametrik) değişkenler ikili gruplar arasında değerlendirilirken Mann Whitney U Testi, daha fazla grup arasında değerlendirilirken Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Ölçümsel verilerin birbirleri ile analizinde Spearman Korelasyon Testi'nden faydalanıldı. P-değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya 200 hasta (%66,67) ve 100 kontrol (%33,33) olmak üzere toplam 300 kişi alınmıştır. Bunların 189'u (%63) erkek, 111'i (%37) kadındır. Hastaların 14'ünde (%7,00) SVH, 22'sinde (%11,00) KOAH, 55'inde (%27,50) DM, 65'inde (%32,50) HT ve 17'sinde (%8,50) HL vardır. (Tablo 7)

Tablo 7. Hastaların demografik özellikleri ve komorbiditeleri

		n	%
Cinsiyet	Erkek	189	(63,00)
	Kadın	111	(37,00)
Grup	Hasta	200	(66,67)
	Kontrol	100	(33,33)
Mutasyon	I/I	60	(20,00)
	I/D	103	(34,33)
	D/D	137	(45,67)
SVH	Yok	186	(93,00)
	Var	14	(7,00)
KOAH	Yok	178	(89,00)
	Var	22	(11,00)
DM	Yok	145	(72,50)
	Var	55	(27,50)
HT	Yok	135	(67,50)
	Var	65	(32,50)
HL	Yok	183	(91,50)
	Var	17	(8,50)



Şekil 1. Hastalardaki mutasyon oranları

Çalışmaya katılanların yaş ortalaması $58,52 \pm 19,74$ 'tür. Ortalama üre değeri $48,76 \pm 36,58$, WBC değeri $6483,07 \pm 5858,87$ ve Hb değeri $13,03 \pm 2,13$ 'tür. (Tablo 8)

Tablo 8. Çalışmaya katılanların yaş, biyokimya ve hemogram sonucu değerleri

	Ort	s.s.	Medyan	Minimum	Maximum
Yaş	58,52	$\pm 19,74$	63,00	18,00	91,00
BUN	24,53	$\pm 17,86$	20,00	6,00	137,00
Üre	48,76	$\pm 36,58$	39,00	12,00	305,00
Kreatinin	1,25	$\pm 4,48$,87	,31	78,00
AST	35,44	$\pm 36,52$	24,00	8,00	303,00
ALT	25,09	$\pm 26,37$	17,00	4,00	201,00
CRP	,72	$\pm ,71$,55	,01	5,99
WBC	9978,63	$\pm 6442,15$	8850,00	1500,00	9600,00
Hb	13,03	$\pm 2,13$	13,00	6,20	18,30
hsTrop	,06	$\pm ,37$,01	,00	4,38
CKMB	3,83	$\pm 6,86$	2,21	,41	61,46

Çalışmaya katılanların hormon değerleri Tablo 9’te verilmiştir.

Tablo 9. Çalışmaya katılanların lipid, Na ve K değerleri

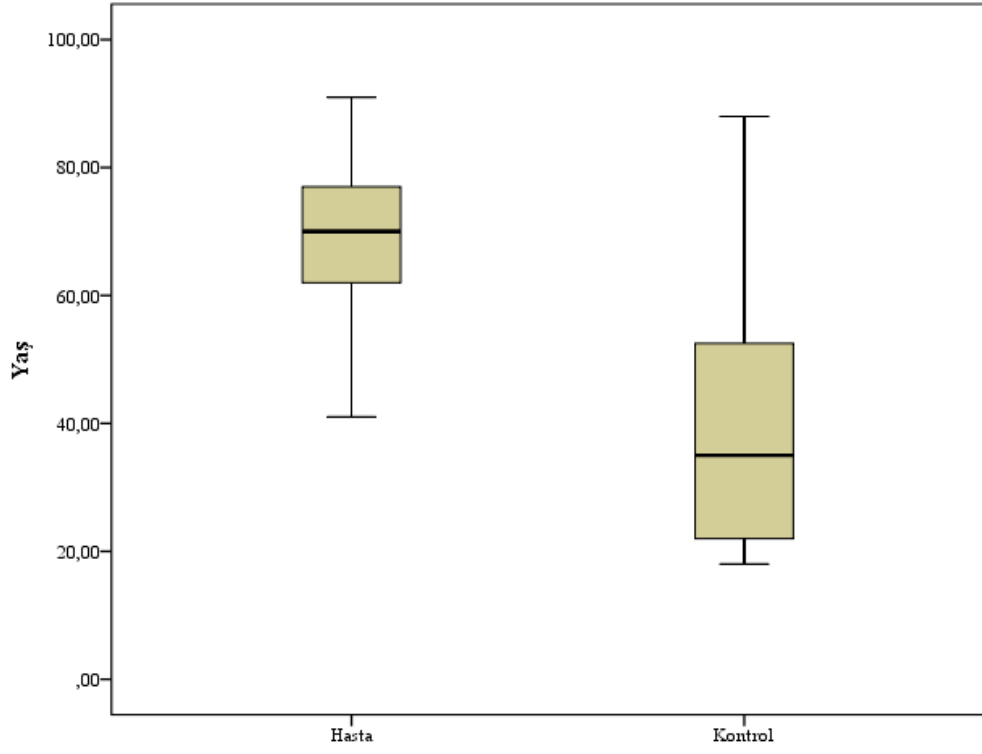
	Ort	s.s.	Medyan	Minimum	Maximum
Total Kolesterol	191,46	±47,44	187,50	91,00	325,00
HDL	48,61	±21,19	43,00	16,00	139,00
LDL	112,89	±43,20	109,00	9,00	235,00
VLDL	30,32	±22,21	25,00	9,00	250,00
Trigliserid	138,55	±72,33	117,00	43,00	425,00
Na	138,91	±2,93	139,50	131,00	145,00
K	4,33	±,38	4,30	3,34	5,19

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve hemogram değerleri karşılaştırıldığında; hastaların yaş, kreatinin, hsTrop ve CKMB değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. (Tablo 10)

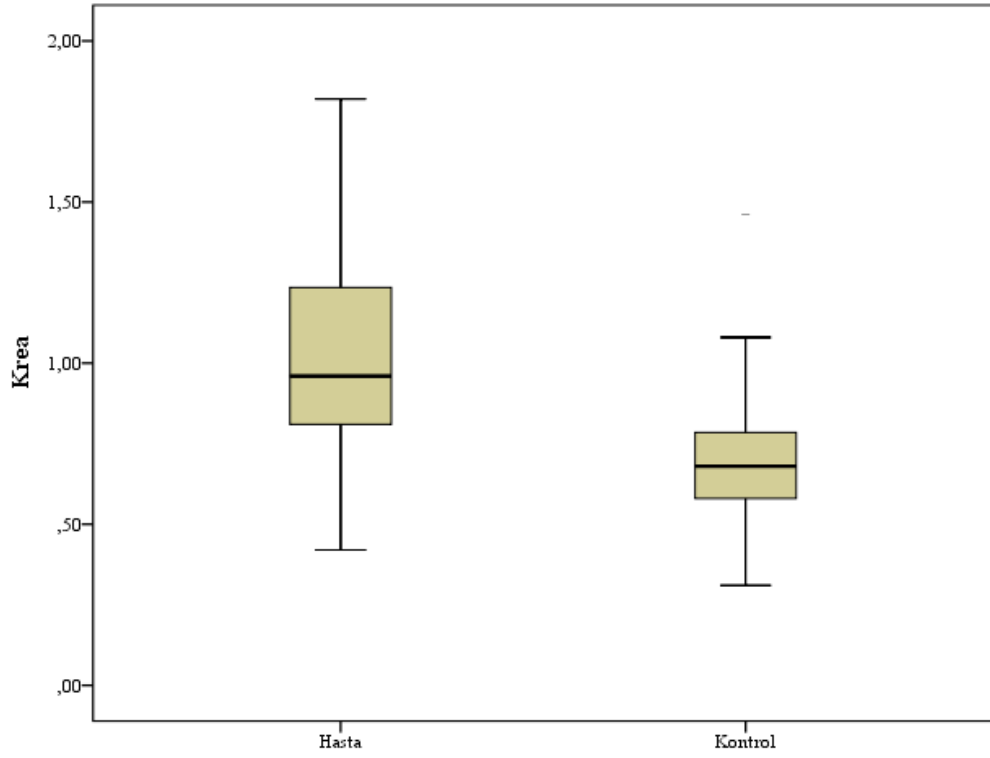
Tablo 10. Gruplara göre yaş ve hemogram değerlerinin karşılaştırılması

	Hasta			Kontrol			p ¹
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Yaş	68,26	±11,83	70,00	39,05	±17,92	35,00	<0,001
Kreatinin	1,13	±,60	,96	0,72	±0,23	,68	<0,001
WBC	9799,75	±4366,89	8840,00	10336,40	±9317,53	9165,00	0,598
Hb	13,14	±2,22	13,05	12,81	±1,95	12,85	0,266
hsTrop	,09	±,45	,02	,01	±,01	,01	<0,001
CKMB	4,65	±8,30	2,29	2,25	±1,34	2,11	0,006

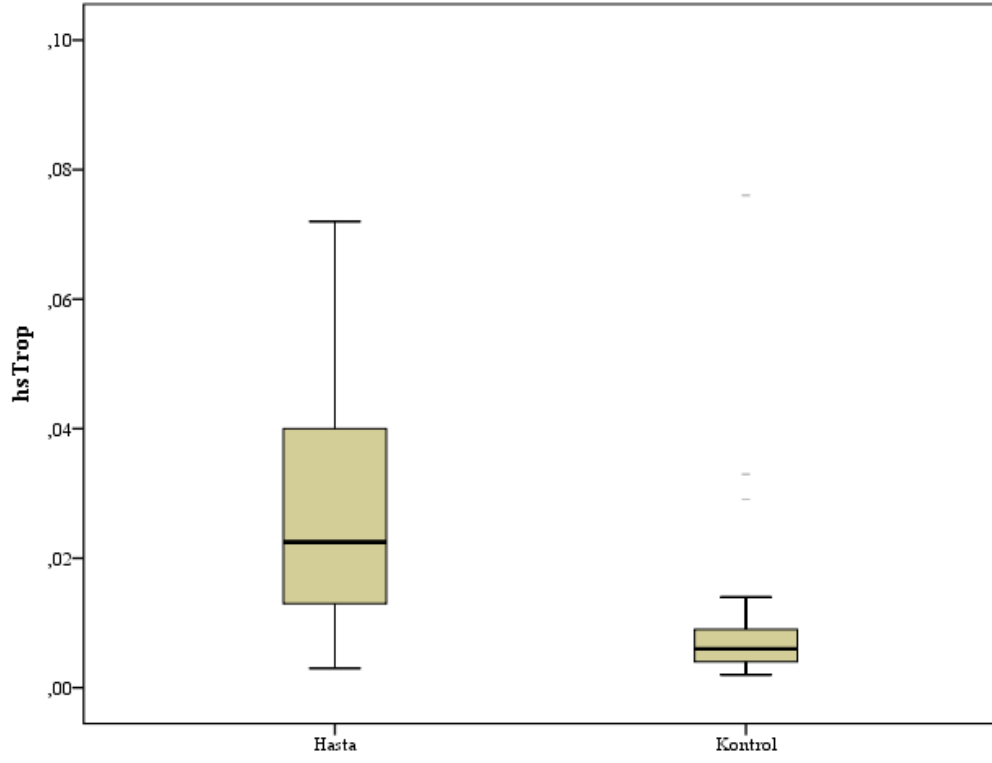
¹Mann Whitney U Testi



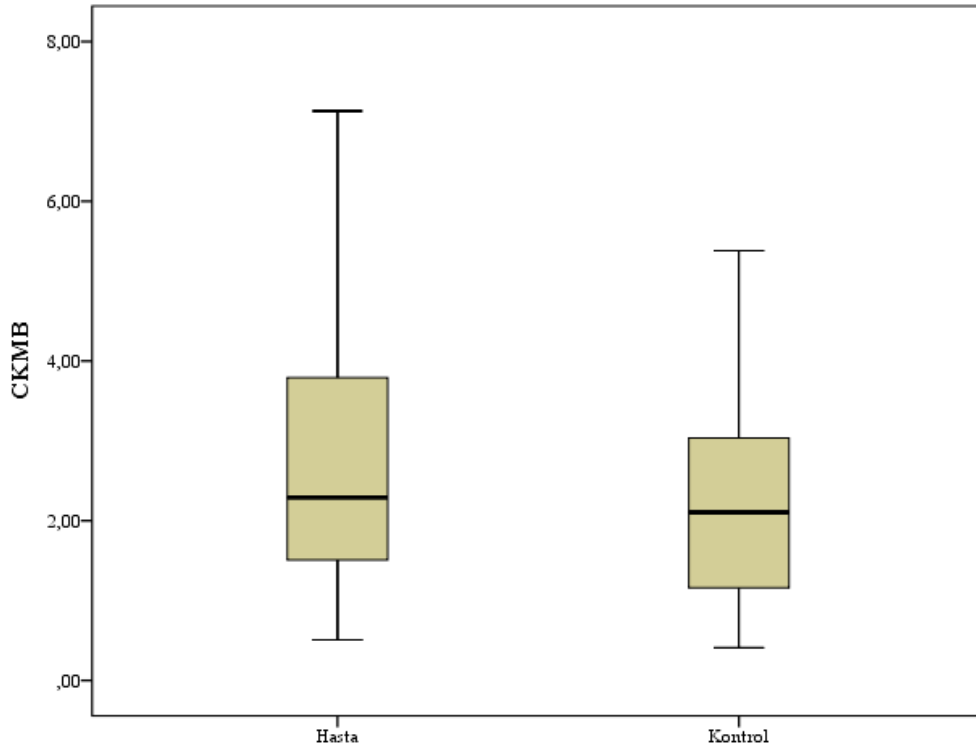
Şekil 2. Gruplara göre yaş dağılımı



Şekil 3. Gruplara göre kreatininin değerleri



Şekil 4. Gruplara göre hsTrop değerleri



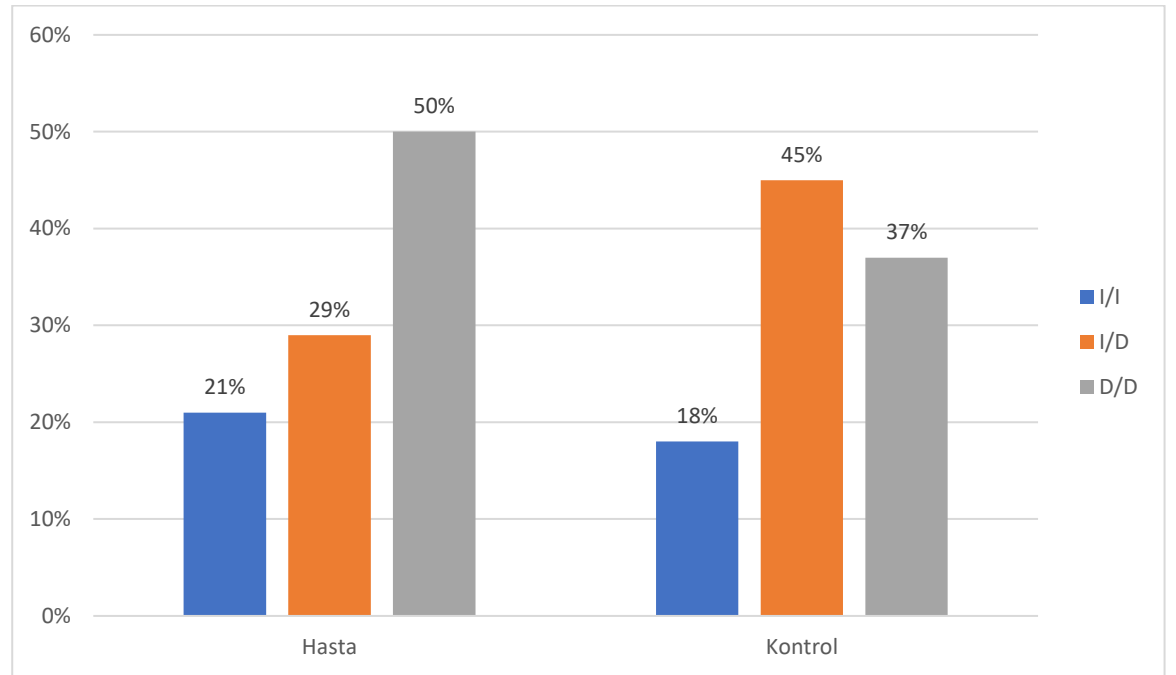
Şekil 5. Gruplara göre CKMB değerleri

Gruplar arasında mutasyon ve MMP-2 oranları karşılaştırıldı. Buna göre hasta grubunda D/D oranı (%50) kontrol grubuna göre (%37,00) daha yüksek iken kontrol grubunda I/D oranı (%45,00) hasta grubuna göre (%29,00) daha yüksektir (p:0,021). (Tablo 11)

Tablo 11. Gruplar arasında mutasyon ve MMP-2 oranlarının karşılaştırılması

		Hasta				Kontrol				p ¹
		n	%	Allel frekansı		n	%	Allel frekansı		
Mutasyon	I/I	42	(21,00)	I	0,35	18	(18,00)	I	0,41	0,021
	I/D	58	(29,00)	D	0,65	45	(45,00)	D	0,59	
	D/D	100	(50,00)			37	(37,00)			
MMP-2	wt/wt	200	(100,00)	wt	1,0	100	(100,00)	wt	1,0	>0,999
	wt/mt	-		mt	0	-		mt	0	
	mt/mt	-				-				

¹Ki-Kare Testi

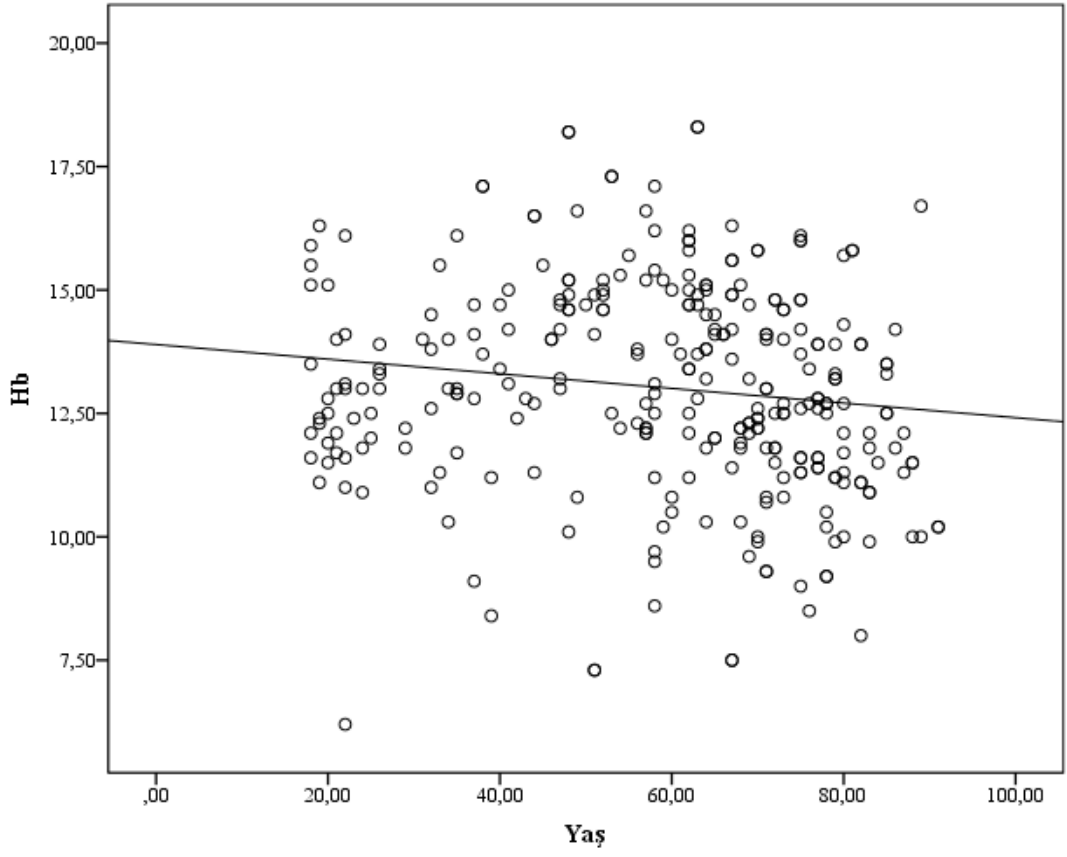


Şekil 6. Gruplara göre mutasyon oranları

Yaş ile BUN, üre, kreatinin, CRP, hsTrop arasında pozitif korelasyon, ALT, Hb ile negatif korelasyon vardır. BUN ile üre, kreatinin, CRP, hsTrop, CKMB arasında pozitif korelasyon, Hb ile negatif korelasyon vardır. Üre ile kreatinin, CRP, hsTrop arasında pozitif, Hb ile negatif korelasyon vardır. Kreatinin ile Hb arasında negatif, hsTrop ile pozitif korelasyon vardır. AST ile ALT, Hb, CKMB arasında pozitif korelasyon vardır. ALT ile Hb, CKMB arasında pozitif korelasyon vardır. CRP ile WBC, hsTrop arasında pozitif korelasyon, Hb ile negatif korelasyon vardır. Hb ile hsTrop arasında negatif, CKMB ile arasında pozitif korelasyon vardır. hsTrop ile CKMB arasında pozitif korelasyon vardır. (Tablo 12)

Tablo 12. Yaş, hemogram ve biyokimyasal değerler arasındaki korelasyon

		BUN	Üre	Krea	AST	ALT	CRP	WBC	Hb	hsTrop	CKMB
Yaş	r	,334**	,387**	,237**	-0,057	-,272**	,216**	0,013	-,418**	,233**	-0,122
	p	<0,001	<0,001	0,001	0,420	<0,001	0,002	0,825	<0,001	0,001	0,091
BUN	r		,802**	,536**	-0,020	-0,104	,171*	-0,027	-,491**	,294**	,167*
	p		<0,001	<0,001	0,779	0,142	0,015	0,707	<0,001	<0,001	0,021
Üre	r			,566**	-0,038	-0,125	,246**	0,015	-,546**	,332**	0,019
	p			<0,001	0,593	0,078	<0,001	0,832	<0,001	<0,001	0,793
Krea	r				0,024	-0,106	0,092	0,018	-,299**	,356**	0,017
	p				0,732	0,134	0,197	0,762	<0,001	<0,001	0,811
AST	r					,804**	0,028	0,128	,226**	0,040	,322**
	p					<0,001	0,695	0,072	0,001	0,578	<0,001
ALT	r						-0,051	0,120	,300**	-0,016	,275**
	p						0,469	0,090	<0,001	0,827	<0,001
CRP	r							0,156*	-,277**	,342**	0,033
	p							0,027	<0,001	<0,001	0,647
WBC	r								0,064	0,049	0,024
	p								0,272	0,405	0,678
Hb	r									-,213**	,170*
	p									0,003	0,018
hsTrop	r										,362**
	p										<0,001

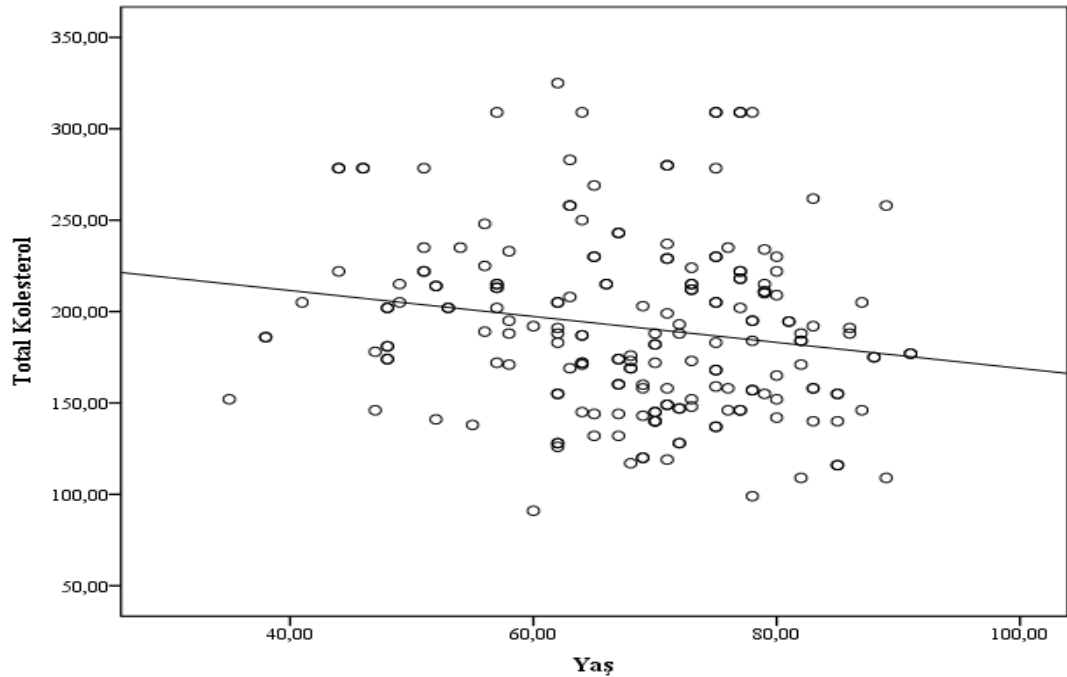


Şekil 7. Yaş ile Hb arasındaki korelasyon grafiği

Yaş ve hormon değerlerinin korelasyonuna bakılmıştır. LDL ile HDL arasında negatif korelasyon vardır. VLDL ile yaş, HDL arasında negatif, LDL ile arasında pozitif korelasyon vardır. Triglicerid ile LDL, VLDL arasında pozitif, HDL ile negatif korelasyon vardır. Total kolesterol ile LDL, VLDL, Triglicerid arasında pozitif korelasyon, yaş ile negatif korelasyon vardır. (Tablo 13)

Tablo 13. Yaş ve lipid değerlerinin korelasyonu

		Yaş	HDL	LDL	VLDL	Triglicerid
HDL	r	0,049				
	p	0,487				
LDL	r	-0,128	-0,150*			
	p	0,071	0,034			
VLDL	r	-0,200**	-0,341**	0,528**		
	p	0,004	<0,001	<0,001		
Triglicerid	r	-0,088	-0,252**	0,332**	0,710**	
	p	0,217	<0,001	<0,001	<0,001	
Total Kolesterol	r	-0,168*	0,083	0,880**	0,590**	0,353**
	p	0,018	0,240	<0,001	<0,001	<0,001



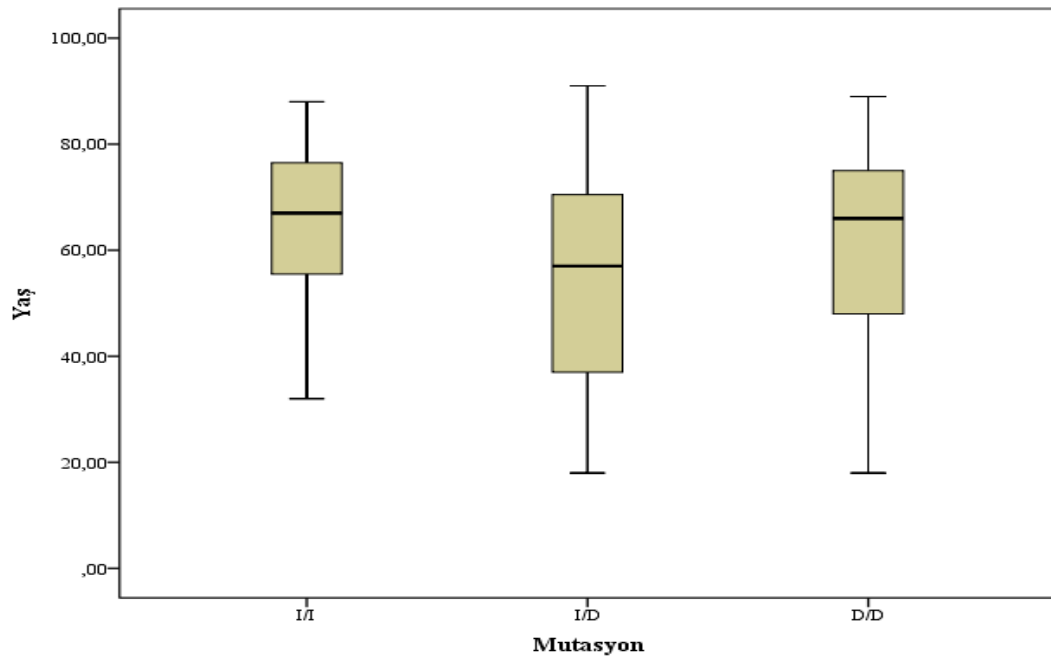
Şekil 8. Yaş ile total kolesterol arasındaki korelasyon grafiği

Mutasyon türüne göre yaş ile biyokimyasal parametreler ve hemogram değerleri karşılaştırılmıştır. I/D mutasyonu olanların yaş ortalaması ($53,96 \pm 20,62$), I/I mutasyonu ($62,70 \pm 17,44$) ve D/D ($60,12 \pm 19,49$) olanlara göre daha düşüktür ($p:0,011$). D/D mutasyonu olanların AST değeri ($39,42 \pm 39,11$), I/I mutasyonu ($31,74 \pm 32,94$) ve I/D mutasyonu olanlara göre ($31,26 \pm 34,12$) daha yüksektir ($p:0,031$). (Tablo 14)

Tablo 14. Mutasyon türüne göre yaş, hemogram ve biyokimyasal değerleri

	Mutasyon									p ¹
	I/I			I/D			D/D			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Yaş	62,70	$\pm 17,44$	67,00	53,96	$\pm 20,62$	57,00	60,12	$\pm 19,49$	66,00	0,011
BUN	24,43	$\pm 12,61$	22,00	25,64	$\pm 23,48$	19,50	23,92	$\pm 16,03$	18,00	0,404
Üre	43,10	$\pm 16,92$	42,50	54,52	$\pm 51,84$	41,00	47,79	$\pm 31,47$	38,00	0,979
Kreatinin	,95	$\pm ,39$,83	1,02	$\pm ,62$,83	1,56	$\pm 6,60$,90	0,665
AST	31,74	$\pm 32,94$	23,50	31,26	$\pm 34,12$	23,00	39,42	$\pm 39,11$	25,50	0,031
ALT	23,29	$\pm 25,83$	14,50	20,64	$\pm 19,87$	15,50	28,42	$\pm 29,49$	20,00	0,073
CRP	,73	$\pm ,67$,62	,78	$\pm ,92$,46	,68	$\pm ,57$,53	0,998
WBC	11366,67	$\pm 12052,94$	8870,00	9897,18	$\pm 3728,52$	9330,00	9431,97	$\pm 4078,79$	8740,00	0,347
Hb	12,58	$\pm 2,53$	12,45	13,17	$\pm 1,95$	13,20	13,12	$\pm 2,06$	13,00	0,256
hsTrop	,10	$\pm ,57$,02	,04	$\pm ,11$,01	,07	$\pm ,39$,02	0,556
CKMB	4,13	$\pm 8,59$	2,06	3,08	$\pm 4,70$	2,29	4,27	$\pm 7,38$	2,16	0,791

¹Kruskal Wallis Testi



Şekil 9. Mutasyon türlerine göre yaş değerleri

Mutasyon türlerine göre lipid değerleri karşılaştırıldığında; aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. (Tablo 15)

Tablo 15. Mutasyon türlerine göre hormon değerleri

	Mutasyon									p ¹
	I/I			I/D			D/D			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Total Kolesterol	198,32	±43,66	194,75	181,40	±44,75	171,50	194,42	±49,93	190,00	0,082
HDL	49,16	±21,38	43,50	48,42	±22,85	42,00	48,49	±20,30	43,50	0,722
LDL	118,15	±42,18	114,80	102,72	±41,68	99,06	116,57	±43,92	118,00	0,073
VLDL	28,36	±14,72	25,50	32,13	±32,18	25,00	30,09	±17,37	24,50	0,929
Trigliserid	127,86	±58,64	107,50	137,75	±69,67	117,50	143,50	±78,89	117,50	0,673

¹Kruskal Wallis Testi

Mutasyon türlerine göre ek hastalık oranları incelendiğinde; D/D mutasyon türünde HT görülme oranının (%39,00), I/I mutasyon türünde HT görülme oranına göre (%16,67) daha yüksek olduğu saptandı (p:0,035). (Tablo 16)

Tablo 16. Mutasyon türlerine göre ek hastalık oranları

		Mutasyon						p ¹
		I/I		I/D		D/D		
		n	%	n	%	n	%	
SVH	Yok	38	(90,48)	56	(96,55)	92	(92,00)	0,430
	Var	4	(9,52)	2	(3,45)	8	(8,00)	
KOA	Yok	36	(85,71)	52	(89,66)	90	(90,00)	0,744
	Var	6	(14,29)	6	(10,34)	10	(10,00)	
DM	Yok	34	(80,95)	38	(65,52)	73	(73,00)	0,230
	Var	8	(19,05)	20	(34,48)	27	(27,00)	
HT	Yok	35	(83,33)	39	(67,24)	61	(61,00)	0,035
	Var	7	(16,67)	19	(32,76)	39	(39,00)	
HL	Yok	39	(92,86)	51	(87,93)	93	(93,00)	0,512
	Var	3	(7,14)	7	(12,07)	7	(7,00)	

¹Ki-Kare Testi

Mutasyon türlerinin HT için risk faktörü olup olmadığı incelendi. Buna göre D/D mutasyon türünün HT için bir risk faktörü olduğu belirlendi ($p>0,050$). (Tablo 17)

Tablo 17. Mutasyon türlerinin HT varlığı için risk faktörü analizi

	B	Std. Hata	Exp(B)	%95 güven aralığı		p
				Alt sınır	Üst sınır	
D/D	0,599	0,307	1,820	0,998	3,319	0,051
Sabit	-1,046	0,228	0,351			<0,001

Cinsiyete göre grup, mutasyon ve ek hastalık oranları incelenmiştir. Buna göre erkeklerdeki hasta oranı (%76,19) kadınlara göre (%50,45) daha yüksektir ($p<0,001$). (Tablo 18)

Tablo 18. Cinsiyete göre grup, mutasyon ve ek hastalık oranları

		Cinsiyet				p ¹
		Erkek		Kadın		
		n	%	n	%	
Grup	Hasta	144	(76,19)	56	(50,45)	<0,001
	Kontrol	45	(23,81)	55	(49,55)	
Mutasyon	I/I	40	(21,16)	20	(18,02)	0,131
	I/D	71	(37,57)	32	(28,83)	
	D/D	78	(41,27)	59	(53,15)	
SVH	Yok	133	(92,36)	53	(94,64)	0,570
	Var	11	(7,64)	3	(5,36)	
KOAHA	Yok	128	(88,89)	50	(89,29)	0,936
	Var	16	(11,11)	6	(10,71)	
DM	Yok	105	(72,92)	40	(71,43)	0,832
	Var	39	(27,08)	16	(28,57)	
HT	Yok	97	(67,36)	38	(67,86)	0,946
	Var	47	(32,64)	18	(32,14)	
HL	Yok	129	(89,58)	54	(96,43)	0,119
	Var	15	(10,42)	2	(3,57)	

¹Ki-Kare Testi

Cinsiyete göre yaş, biyokimya ve hemogram değerleri karşılaştırıldı. Buna göre cinsiyet ile yaş, krea, Hb, hsTrop ve CKMB arasında anlamlı fark olduğu görüldü. Erkeklerin yaş ortalaması (62,01±16,82) kadınlara göre (52,59±22,79) daha fazladır (p:0,002). Ortalama krea değeri erkeklerde (1,50±5,63) kadınlara göre (0,83±0,36) daha yüksektir (p<0,001). Ortalama Hb değeri de erkeklerde (13,43±2,11) kadınlara göre (12,35±2,00) daha yüksektir (p<0,001). Benzer şekilde erkeklerde hsTrop (0,07±0,34) ve CKMB (4,26±6,92) değerleri kadınlardaki hsTrop (0,06±0,42) ve CKMB (3,08±6,73) değerlerine göre daha yüksektir (p<0,001). (Tablo 19)

Tablo 19. Cinsiyete göre yaş, biyokimya ve hemogram değerlerinin karşılaştırılması

	Cinsiyet						p ¹
	Erkek			Kadın			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Yaş	62,01	±16,82	65,00	52,59	±22,79	58,00	0,002
BUN	25,35	±18,96	21,00	22,41	±14,61	18,00	0,160
Üre	50,72	±40,65	41,00	43,70	±22,56	37,00	0,424
Krea	1,50	±5,63	0,93	0,83	±0,36	0,72	<0,001
AST	33,81	±30,75	25,00	39,63	±48,41	23,50	0,366
ALT	25,15	±23,57	18,00	24,91	±32,72	15,00	0,091
CRP	0,75	±0,75	0,55	0,66	±0,56	0,54	0,567
WBC	9904,13	±4131,49	9240,00	10105,50	±9143,83	8480,00	0,121
Hb	13,43	±2,11	13,80	12,35	±2,00	12,30	<0,001
hsTrop	0,07	±0,34	0,02	0,06	±0,42	0,01	<0,001
CKMB	4,26	±6,92	2,54	3,08	±6,73	1,78	<0,001

¹Mann Whitney U Testi

Cinsiyete göre lipid değerleri karşılaştırıldığında; erkekler ile kadınlar arasında lipid değerleri bakımından anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (hepsi için $p>0,050$). (Tablo 20)

Tablo 20. Cinsiyet ile lipid değerlerinin karşılaştırılması

	Cinsiyet						p ¹
	Erkek			Kadın			
	Ort	s.s.	Medyan	Ort	s.s.	Medyan	
Total Kolesterol	191,64	±49,40	187,00	191,00	±42,40	188,00	0,782
HDL	49,69	±23,76	43,00	45,84	±12,06	43,00	0,902
LDL	111,35	±46,16	106,34	116,83	±34,51	117,50	0,348
VLDL	30,42	±24,10	24,68	30,05	±16,54	27,13	0,557
Trigliserid	138,56	±75,05	117,00	138,51	±65,45	118,00	0,520

¹Mann Whitney U Testi

Ek hastalıkların varlığı ile yaş arasındaki ilişki incelendiğinde; KOAH ve HL ile yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğu görüldü. KOAH olanların yaş ortalaması ($73,36±8,78$) KOAH olmayanlara göre ($67,63±12,02$) daha yüksektir ($p:0,048$). HL olanların yaş ortalaması ($57,71±10,32$) ise HL olmayanlara göre ($69,24±11,50$) daha düşüktür ($p<0,001$). (Tablo 21)

Tablo 21. Ek hastalıkların varlığı ile yaş arasındaki karşılaştırma

		Yaş			p ¹
		Ort	s.s.	Medyan	
SVH	Yok	68,05	±12,04	70,00	0,419
	Var	71,00	±8,40	71,00	
KOAH	Yok	67,63	±12,02	70,00	0,048
	Var	73,36	±8,78	73,00	
DM	Yok	67,93	±12,06	69,00	0,512
	Var	69,13	±11,24	71,00	
HT	Yok	67,30	±11,60	69,00	0,074
	Var	70,26	±12,14	71,00	
HL	Yok	69,24	±11,50	71,00	<0,001
	Var	57,71	±10,32	63,00	

¹Mann Whitney U Testi

Gruplara göre mutasyon tiplerinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre tabakalandırılarak karşılaştırılması sonucu anlamlı ilişki olmadığı görüldü.

Tablo 22. Gruplara göre mutasyon tiplerinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre tabakalandırılması

Mutasyon		≤ 50 Yaş (Erkek)		>50 Yaş (Erkek)		≤ 50 Yaş (Kadın)		>50 Yaş (Kadın)	
		Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol
I/I	n	2	4	19	6	0	5	9	3
	%	(16,7)	(14,3)	(19,6)	(35,3)	(,0)	(11,1)	(23,1)	(30,0)
I/D	n	5	15	35	8	1	20	5	2
	%	(41,7)	(53,6)	(36,1)	(47,1)	(100,0)	(44,4)	(12,8)	(20,0)
D/D	n	5	9	43	3	0	20	25	5
	%	(41,7)	(32,1)	(44,3)	(17,6)	(,0)	(44,4)	(64,1)	(50,0)
p		0,784		0,098		0,544		0,704	

Gruplara göre D/D mutasyon varlığı yaş ve cinsiyet gruplarına göre tabakalandırılarak karşılaştırılmıştır. Buna göre 50 yaş üzeri erkeklerde D/D mutasyonu olma oranı hasta grubunda (%36,1) kontrol grubuna göre (%47,1) daha düşüktür (p:0,039).

Tablo 23. Gruplara göre D/D mutasyon varlığının yaş ve cinsiyet gruplarına göre tabakalandırılması

		≤ 50 Yaş (Erkek)		>50 Yaş (Erkek)		≤ 50 Yaş (Kadın)		>50 Yaş (Kadın)	
		Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol	Hasta	Kontrol
D/D Mutasyonu Yok	n	7	19	54	14	1	25	14	5
	%	(58,3)	(67,9)	(55,7)	(82,4)	(100,0)	(55,6)	(35,9)	(50,0)
D/D Mutasyonu Var	n	5	9	43	3	0	20	25	5
	%	(41,7)	(53,6)	(36,1)	(47,1)	(100,0)	(44,4)	(12,8)	(20,0)
p		0,563		0,039		0,375		0,414	

TARTIŞMA

Bu çalışmada KAH olan hastalarda MMP-2 ve ACE gen polimorfizminin araştırılması ve bulgularımızın güncel literatür verileri ışığında tartışılması amaçlandı. Çalışmamızın iki ana sonucu vardır. Birincisi ACE gen polimorfizmi KAH olan hastalarda farklı bulundu. KAH grubunda DD polimorfizmi daha sık görülürken, kontrol grubunda ID polimorfizmi daha sık saptandı. MMP-2 gen polimorfizmi ise KAH hastaları ile kontrol grubunda benzerdi.

Koroner arter hastalığı tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir (66). Bu nedenle altta yatan risk faktörlerinin belirlenmesi ve bu risk faktörlerinin eliminasyonu hem primer tedavi yani koruyucu önlemlerin alınması hem de sekonder tedavi yani erken tanı ve tedavi için oldukça önemlidir. Çok yönlü risk faktörlerinin kardiyak mortaliteyi azalttığını gösteren çalışmalar vardır. Bu bağlamda, genetik risk faktörlerinin KAH fizyopatolojisindeki rolü gittikçe dikkat çeken bir konu olmuştur (67-69). Renin anjiotensin aldosteron sistemi ana elemanlarından olan ACE reseptörlerinin geni oldukça polimorfiktir. Bu polimorfik genlerin de farklı klinik tablolarda farklı yansımaları olmaktadır. ACE geninin insandaki genotipleri insersiyon/insersiyon (II), insersiyon/delesyon (ID) veya delesyon/delesyon (DD) şeklindedir (70). Literatürde ACE gen polimorfizminin çeşitli kardiyovasküler hastalıklar gelişiminde genetik markır olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur; ancak bu çalışmalar farklı sonuçlar vermiştir (70-77). Bu nedenle biz de çalışmamızda ACE gen polimorfizminin KAH gelişimindeki rolünü değerlendirmeyi amaçladık. Bu bağlamda KAH olan 200 hasta ile sağlıklılardan oluşan 100 olguyu çalışmamıza dahil ettik. Çalışmamıza katılan KAH hastalarının ortalama yaşı 68,26 yıldır. Yaş KAH etiyojisinde önemli bir risk faktörü olup, erkeklerde 45 yaş ve üzeri, kadınlarda ise 55 yaş ve üzeri olmak risk faktörü olarak tanımlanmıştır (68, 69). Bu bağlamda yaş ortalamamızın 65 yaş üstü olması, yani hastalarımızın çoğunun ileri yaş olması, KAH ve yaş arasındaki ilişkiye dikkat çekmek için bir kez daha vurgulanmalıdır. Yine DM, HT, hiperlipidemi gibi daha önce risk faktörü olarak tanımlanan parametrelerin hastalarımızın önemli bir kısmında görüldüğünü, bu nedenle KAH olan hastalarda kan basıncı kontrolü, kan şekeri kontrolü ve lipid profilinin düzenlenmesi gerektiğinin altını bir kez daha çizmek gerekir.

Literatürde KAH olanlarda ACE gen polimorfizmi daha önce birçok kez çalışılmıştır. Ancak çalışmalar farklı sonuçlar vermiştir. Bazı çalışmalarda KAH hastalarında DD gen polimorfizmi risk faktörü olarak bulunurken (73, 74), bazılarında ID gen polimorfizmi (70) risk faktörü olarak bulunmuştur. Hatta hastalar ile kontrol grupları arasında benzer sonuçlar da veren ya da tam tersi DD'nin koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (75, 76).

Japonya'da yürütülen bir çalışmada delesyon allelleri yani DD KAH olan grupta kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (0.58 vs. 0.42). Sonuç olarak yazarlar ACE geninde delesyon polimorfizminin artmış ACE düzeyi ile ilişkili olduğunu, bu şekilde KAH riskini arttırdığını vurgulamışlardır (73). Slovenya'da KAH olan ve 55 yaş altında olan 171 hasta ile 134 sağlıklı kişinin gen polimorfizmleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak yazarlar DD gen polimorfizminin KAH riskini 2.3 kat arttırdığını bulmuştur (74). I/D gen polimorfizminin MI sonrası mortaliteye etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada DD genotipinin daha düşük kardiyak mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (75). Ülkemizde yürütülen bir çalışmada ise koroner yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar dahil edilmiş ve gen polimorfizmi kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Hasta grupta DD/ID/II gen polimorfizm sıklığı sırasıyla %33, %61.5, %5.2 iken kontrol grubunda sırasıyla %53.6, %43,6 ve %2.6 idi. Yani hastalarda ID, kontrol grubunda ise DD gen polimorfizmi daha sık bulunmuştur (70). Yine Türkiye'de koroner anjiyografi yapılan 393 hastanın dahil edildiği çalışmada DD gen polimorfizmi risk faktörü olarak bulunmamıştır (76). MI geçiren hastalarda DD gen polimorfizmi daha sık bulunurken, bu durum diyabetik retinopati ile ilişkili bulunmamıştır (77). Bizim de çalışmamızda DD, ID ve II gen polimorfizmi hastalarda sırasıyla %50, %29 ve %21 bulunurken, kontrol grubunda %37, %45 ve % 18 bulundu. Yine D allel frekansı hem kontrol grubunda hem de hastalarda I alleleline göre daha yüksek iken, hastalarda kontrol grubuna kıyasla daha sık bulundu (0.65 vs. 0.59).

Örnekleme sayımız ise önceki çalışmalar ile kıyaslandığında gayet kabul edilebilir büyüklüktedir. Sonuçlarımız Nakai ve ark. (73), Peterlin ve ark. (74) ile Fujisawa ve ark. (77) tarafından yapılan çalışmalar ile uyumludur. Eren ve ark. (70) ya da Tokgözoğlu ve ark. (76) tarafından ülkemizde yürütülen çalışmalardan ise farklı sonuçlar elde edildi. Literatürde farklı sonuçlar elde edilmesinin nedeni dahil

edilme kriterleri ve örneklem gruplarının kliniğinin heterojen olmasından kaynaklanmış olabilir. Örneğin bazı çalışmalarda sadece MI geçiren hastalar dahil edilirken, kimi çalışmada koroner anjiyografi yapılanlar dahil edilmiştir. Hastaların kliniğinin akut koroner sendrom, stabil anjina, anstabil anjina vb. olması dahil edilme kriterlerini ve böylece çalışma sonuçlarını etkilemiş olabilir. Yine bu farklılıklar çalışmadaki hastaların kan basıncı, kolesterol seviyeleri gibi KAH fizyopatolojisini etkileyecek diğer klinik tabloların heterojen özellik göstermesinden kaynaklanmış olabilir. Belki de gen polimorfizmi tek başına değil de diğer risk faktörlerinin varlığında daha farklı bir etki gösteriyor olabilir. Nitekim hastaları ACE gen mutasyonu durumuna göre DD, ID, II olarak üç gruba ayırdığımızda DD grubunda HT istatistiksel olarak daha sık saptandı. Total kolesterol, trigliserit seviyesi açısından ise DD, ID ve II gruplarında farklılık saptanmadı. Bu nedenle bu konuda daha spesifik hasta gruplarında planlanmış ileriki çalışmaların planlanması gereklidir.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) mekanizmasının bilinmesi çalışmamızın sonuçlarının daha iyi yorumlanması ve gen polimorfizminin hangi mekanizmayla etki göstereceğinin tahmin edilmesi açısından faydalı olabilir. Vazokonstrüktif bir peptit olan anjiyotensinin vasküler ve kardiyak büyümenin bir ajanı olduğu bilinmektedir. ACE'nin KAH ve ventriküler yeniden modellemenin patofizyolojisini doğrudan etkilediği aşikardır. Anjiyotensin, fibroblast büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü beta-1 ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü dahil otokrin ve parakrin büyüme faktörlerini aktive ettiğinde ve endotelden türetilmiş vazodilatatörler ve büyüme inhibitörleri tarafından modüle edildiğinde damar büyümesi meydana gelir (78). ACE ve anjiyotensin II'nin varlığı vasküler dokuda gösterilmiştir ve bu lokal maddeler vasküler lezyonların gelişiminde nedensel olarak rol oynamaktadır. Benzer şekilde, anjiyotensin kardiyak miyosit büyümesini ve matriks modülasyonunu uyarabilir. Kardiyak doku ACE, ilerleyici kalp yetmezliği seyrinde ventriküler yeniden biçimlemede rol oynar (78). ACE geni varyantlarında ya da mutasyonlarında ACE düzeyinin artması ya da ACE'nin vasküler doku üzerindeki etkinliğinin artması ile KAH etiyopatogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Nitekim bizim çalışmamızda DD allel grubunda HT sıklığı diğer gruplara kıyasla daha yüksek bulundu. Yapılan regresyon analizinde ise DD gen

polimorfizmine sahip olmak HT ve KAH için risk faktörü olarak bulunmadı. DD gen polimorfizminin kan basıncını arttırdığı ve beraberinde ACE'nin vasküler yollarda değişikliğe neden olarak KAH riskini arttırdığı yorumu yapılabilir. Bununla birlikte bu mekanizmanın gösterilmesi için moleküler ve histopatolojik değerlendirmenin yapıldığı çalışmalar planlanmalıdır. Ayrıca DD veya ID varyantlarının literatürdeki çalışmalarda farklı sonuçlar vermesi bu mekanizmanın tam olarak açıklığa kavuşturulamadığını ve bu konuda yapılacak ileriki çalışmaların beklendiğinin göstergesidir.

Koroner arter hastalığı fizyopatolojisinde genetik risk faktörlerinin araştırılmasında dikkat çeken konulardan birisi de MMP ailesidir. MMP ailesi, ekstrasellüler matriksin yıkımında rol oynayarak birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol alır. Ayrıca MMP'lerin aterosklerotik süreçte, aterosklerotik plak oluşmasında rolü olduğu düşünülmüş ve bu konuda yapılan çalışmaların sayısı hızla artış göstermektedir (79, 80). MMP-2'nin anjiyogenezis ile olan ilişkisi ve vasküler dokuya etkisi daha önce çalışılmıştır ve gösterilmiştir. Bu nedenle bizim de çalışmamızda MMP-2 gen polimorfizminin KAH gelişimindeki etkisini değerlendirilmesi amaçlandı.

Literatürde KAH gelişiminde MMP-2'nin rolünü değerlendiren çeşitli çalışmalar vardır. MMP-2'nin KAH fizyopatogenezinde hem akut hem de kronik fazda ekspresyonunun downregüle olduğu *in vitro* gösterilmiştir (81). Bir diğer çalışmada akut koroner sendrom olan 33 hasta, stabil efor anjinası olan 17 hasta ve 17 normal kontrol grubunda MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak serum MMP-2 ve MMP-9 seviyesi akut koroner sendrom olan hastalarda seri olarak artmış bulunmuştur. Yazarlar akut koroner sendromda plak destabilizasyonunda MMP'lerin rolü olabileceğini ileri sürmüştür (82). Benzer şekilde MMP-9 ve MMP-2 seviyeleri semptomatik KAH olanlarda daha yüksek bulunmuştur. Akut koroner sendromu olan bireylerde anjina olanlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur (83). Akut MI sonrası seri olarak 1, 7, 14 ve 21. günlerde ölçülen MMP-2 seviyesinde ise kademeli olarak artış gösterilmiş ve en yüksek seviyeye 21. günde ulaşıldığı gösterilmiştir (84). Sonuç olarak MMP-2'nin KAH üzerine etkili olduğu ve seviyelerinin arttığı konusunda fikir birliği vardır. Bizim

çalışmamızda ise MMP-2 seviyesinden ziyade MMP-2 gen polimorfizminin etkisi değerlendirildi ve gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Gadherian ve ark. (85) daha önce MI ve MMP-2 gen polimorfizmi arasında bir ilişki saptamamıştır. Bu çalışmada MMP-2 dışında MMP-1, MMP-3 ve MMP-9 da değerlendirilmiş ve onlar arasında da bir ilişki saptanmamıştır. İlerleyen yıllarda Türkiye’de yürütülen bir çalışmada anjiyografik olarak konfirme edilen 298 hasta ile yaş ile eşleştirilmiş 299 sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. MMP-2 gen polimorfizmi ile KAH gelişimi arasında bir ilişki bulunmamıştır (86). Bir başka çalışmada MMP-2 gen polimorfizminin kronik kalp yetmezliğindeki rolü değerlendirilmiş ve arada bir ilişki bulunamamıştır. Ancak çalışmanın limitasyonlarından dolayı yazarlar MMP-2 gen polimorfizminin göz ardı edilmemesi gerektiğini vurgulamışlardır (87).

Koroner anjiyografi ile değerlendirilen 183 hastadan oluşan bir seride hastalar KAH olanlar (N=116) ve olmayanlar olarak (N=67) iki gruba ayrılmıştır. MMP-1, MMP-3, MMP-9 ve MMP-12 gen mutasyonlarının değerlendirildiği bu çalışmada MMP polimorfizmi ile KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır (88). Jormso ve ark. (89) tarafından yürütülen bir çalışmada benzer şekilde MMP-12 polimorfizmi peruktan translüminal koroner anjiyografi ile stent yerleştirilen hastalarda koroner arter lümeni çapını etkilemediği bulunmuştur. Ancak bu çalışmada sadece diyabeti olan hastalar ile bir subgroup oluşturulduğunda MMP-12 gen polimorfizminin lümeni etkilediği sonucuna ulaşılmıştır. Bizim de çalışmamızda MMP-2 gen polimorfizmi ile KAH arasında bir ilişki saptanmamıştır ve sonuçlarımız literatür ile uyumludur. Literatürdeki çalışmaların bazılarının farklı sonuç vermesini ise dahil edilme kriterlerine, etnisiteye, farklı ekolojik ve çevresel etmenlere atfedebiliriz. Örneğin Kai et. Al (82) tarafından yürütülen çalışmada Japonya’da akut koroner sendromlu hastalar dahil edilmiştir. Hojo et a. (84) tarafından yürütülen çalışmada yine Japonya’da akut MI geçiren hastalar dahil edilmiştir ve o çalışmalarda ardışık ölçümler yapılmıştır. Ülkemizde Ankara bölgesinde yürütülen bir çalışmada ise bizim sonuçlara benzer şekilde MMP-2 ile KAH arasında ilişki saptanmamıştır (86). Bizim çalışmamıza dahil edilen hastaların bir kısmı daha önceden KAH tanısı alanlardan oluşuyordu. Yine örneklem grubumuzun bir kısmı acil servise akut koroner sendrom/MI şikayetleri ile başvuran hastalardan oluşuyordu. Ayrıca kardiyoledi

servisinde çeşitli nedenlerle yatan ve KAH öyküsü alan hastalar da dahil edildi. Ayrıca önceki çalışmaların bazılarında ardışık ölçümler yapılırken bizim çalışmamızda tek bir ölçüm yapıldı.

Genel olarak çalışmamızın bulguları literatür ile uyumlu bulundu ve sonuçlarımızın KAH gelişiminde ACE ve MMP-2 gen polimorfizminin rolünü değerlendirmede faydalı olacağı ve ileriki çalışmalar için yol gösterici olacağı kanaatindeyiz. Bu konuda kohort dizayndaki çalışmalar ile KAH gelişiminde gen polimorfizminin değerlendirildiği ileriki çalışmalar beklenmektedir.

Limitasyonlar

Koroner anjiyografi bulguları, KAH şiddeti gibi klinik parametrelere göre subgrup analizlerinin yapılmamış olması limitasyonlarımızdandır. KAH için risk faktörü olabilecek diğer faktörlerin değerlendirilmemiş olması da limitasyon olarak belirtilmelidir. Örneklem sayımız önceki çalışmalar ile kabul edilebilir olsa da daha büyük örneklem grupları ile planlanmış olması çalışmanın gücünü arttırabilirdi. Sadece MMP-2 düzeyinin ölçülmüş olması, diğer MMP düzeylerinin ölçülmemiş olması da limitasyonlarımızdandır.

SONUÇLAR

- KAH tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir.
- Altta yatan risk faktörlerinin belirlenmesi ve bu risk faktörlerinin eliminasyonu oldukça önemlidir.
- Genetik faktörler KAH etiyolojisinde önemli bir risk faktörü olup üzerinde durulması gerekir.
- Çalışmamıza katılan KAH hastalarının ortalama yaşı 68,26'dır.
- Çalışmamızda DD, ID ve II gen polimorfizmi hastalarda sırasıyla %50, %29 ve %21 bulunurken, kontrol grubunda %37, %45 ve % 18 bulundu.
- D allel frekansı hem kontrol grubunda hem de hastalarda I allele göre daha yüksek iken, hastalarda kontrol grubuna kıyasla daha sık bulundu (0.65 vs. 0.59).
- DD allel grubunda HT oranı daha fazla idi.
- MMP-2 gen polimorfizmi açısından KAH grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- Genel olarak çalışmamızın bulguları literatür ile uyumlu bulundu ve sonuçlarımızın KAH gelişiminde ACE ve MMP-2 gen polimorfizminin rolünü değerlendirmede faydalı olacağı ve ileriki çalışmalar için yol gösterici olacağı kanaatindeyiz. Bu konuda kohort dizayndaki çalışmalar ile KAH gelişiminde gen polimorfizminin değerlendirildiği ileriki çalışmalar beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Vasku, A., M. Goldbergova, L. Izakovicova Holla, L. Siskova, L. Groch, M. Beranek, S. Tschoplova, V. Znojil, and J. Vacha, A haplotype constituted of four MMP-2 promoter polymorphisms (-1575G/A, -1306C/T, -790T/G and -735C/T) is associated with coronary triple-vessel disease. *Matrix Biol*, 2004. 22(7): p. 585-91.
2. Alp, E., S. Menevse, M. Tulmac, A. Yilmaz, R. Yalcin, and A. Cengel, The role of matrix metalloproteinase-2 promoter polymorphisms in coronary artery disease and myocardial infarction. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2011. 15(4): p. 193-202.
3. Delgado-Enciso, I., N.A. Gonzalez-Hernandez, L.M. Baltazar-Rodriguez, R.O. Millan-Guerrero, O. Newton-Sanchez, A. Bayardo-Noriega, A. Aleman-Mireles, I.G. Enriquez-Maldonado, M.J. Anaya-Carrillo, A. Rojas-Martinez, and R. Ortiz-Lopez, Association of matrix metalloproteinase-2 gene promoter polymorphism with myocardial infarction susceptibility in a Mexican population. *J Genet*, 2009. 88(2): p. 249-52.
4. Dhillon, O.S., S.Q. Khan, H.K. Narayan, K.H. Ng, N. Mohammed, P.A. Quinn, I.B. Squire, J.E. Davies, and L.L. Ng, Matrix metalloproteinase-2 predicts mortality in patients with acute coronary syndrome. *Clin Sci (Lond)*, 2009. 118(4): p. 249-57.
5. Perez-Hernandez, N., G. Vargas-Alarcon, N. Martinez-Rodriguez, M.A. Martinez-Rios, M.A. Pena-Duque, L. Pena-Diaz Ade, B. Valente-Acosta, C. Posadas-Romero, A. Medina, and J.M. Rodriguez-Perez, The matrix metalloproteinase 2-1575 gene polymorphism is associated with the risk of developing myocardial infarction in Mexican patients. *J Atheroscler Thromb*, 2012. 19(8): p. 718-27.
6. Bostan, C. and S. Karcier, Anjiyotensin dönüştürücü enzim geni polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklar. *TürkKardiyol Dem Arş*, 2002. 30: p. 441-448.
7. Agerholm-Larsen, B., B.G. Nordestgaard, and A. Tybjaerg-Hansen, ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. 20(2): p. 484-92.

8. Lindpaintner, K., M.A. Pfeffer, R. Kreutz, M.J. Stampfer, F. Grodstein, F. LaMotte, J. Buring, and C.H. Hennekens, A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med*, 1995. 332(11): p. 706-11.
9. Cambien, F., O. Poirier, L. Lecerf, A. Evans, J.P. Cambou, D. Arveiler, G. Luc, J.M. Bard, L. Bara, S. Ricard, and et al., Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*, 1992. 359(6396): p. 641-4.
10. Ko, Y.L., Y.S. Ko, S.M. Wang, P.H. Chu, M.S. Teng, N.J. Cheng, W.J. Chen, T.S. Hsu, C.T. Kuo, C.W. Chiang, and Y.S. Lee, Angiotensinogen and angiotensin-I converting enzyme gene polymorphisms and the risk of coronary artery disease in Chinese. *Hum Genet*, 1997. 100(2): p. 210-4.
11. Ramrakha, P., & Hill, J. (Eds.). (2012). *Oxford handbook of cardiology*. 2nd ed. OUP Oxford. p. 212-309.
12. World Health Organization. Cardiovascular Diseases. Available from http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/
13. Mensah, G. A., & Brown, D. W. (2007). An overview of cardiovascular disease burden in the United States. *Health affairs*, 26(1), 38-48.
14. Lloyd-Jones, D., Adams, R. J., Brown, T. M., Carnethon, M., Dai, S., De Simone, G., & Go, A. (2009). Heart disease and stroke statistics—2010 update. A report from the American Heart Association. *Circulation*.
15. Reis, S. E., Holubkov, R., Smith, A. C., Kelsey, S. F., Sharaf, B. L., Reichek, N., & WISE investigators. (2001). Coronary microvascular dysfunction is highly prevalent in women with chest pain in the absence of coronary artery disease: results from the NHLBI WISE study. *American heart journal*, 141(5), 735-741.
16. Han, S. H., Bae, J. H., Holmes Jr, D. R., Lennon, R. J., Eeckhout, E., Barsness, G. W., & Lerman, A. (2008). Sex differences in atheroma burden and endothelial function in patients with early coronary atherosclerosis. *European heart journal*, 29(11), 1359-1369.
17. Bakanlığı, S. (2010). *Türkiye Kalp ve Damar Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı (2010-2014)*. Ankara: Sağlık Bakanlığı.

18. Purdy, S., Griffin, T., Salisbury, C., & Sharp, D. (2011). Emergency admissions for coronary heart disease: a cross-sectional study of general practice, population and hospital factors in England. *Public health*, 125(1), 46-54.
19. Khot, U. N., Khot, M. B., Bajzer, C. T., Sapp, S. K., Ohman, E. M., Brener, S. J., & Topol, E. J. (2003). Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *Jama*, 290(7), 898-904.
20. Turner, R. C., Millns, H., Neil, H. A. W., Stratton, I. M., Manley, S. E., Matthews, D. R., & Holman, R. R. (1998). Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). *Bmj*, 316(7134), 823-828.
21. Gordon, T., Castelli, W. P., Hjortland, M. C., Kannel, W. B., & Dawber, T. R. (1977). High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: the Framingham Study. *The American journal of medicine*, 62(5), 707-714.
22. Stryer, H. C., Chandler, A. B., Dinsmore, R. E., Fuster, V., Glagov, S., Insull Jr, W., & Wissler, R. W. (1995). A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, 92(5), 1355-1374
23. Ross, R. (1999). Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*, 340(2), 115-126.
24. Ridker, P. M., Cushman, M., Stampfer, M. J., Tracy, R. P., & Hennekens, C. H. (1997). Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *New England journal of medicine*, 336(14), 973-979.
25. Beller GA. Non-invasive Diagnosis of Ischemic Heart Disease. Crawford MH, DiMarco JP (eds): *Cardiology*. 1st edition. Mosby International Ltd. England, 2003.
26. Guzelsoy D, Yiğit Z. Koroner arter hastalığı tanısında nukleer kardiyoloji yöntemlerinin yeri. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi* 2003;Cilt 16:Sayı1.
27. Kussmaul WG. Invasive Diagnosis of Ischemic Heart Disease. Crawford MH, DiMarco JP (eds): *Cardiology*. 1st edition. Mosby International Ltd. England, 2003.

28. Popma JJ, Bittl J. Coronary Angiography and Intravascular Ultrasonography. In Heart Disease. Braunwald E, Zipes DP, Libby P (eds): 6th edition. W.B. Saunders Company, USA, 2001.
29. Fleischmann KE, Hunink MG, Kuntz KM, Douglas PS. Exercise echocardiography or exercise SPECT imaging? A meta-analysis of diagnostic test performance. *JAMA* 1998;280:913-20.
30. Tamaki N, Yonekura Y, Mukai T, Kodama S, Kadota K, Kambara H, et al. Stress thallium-201 transaxial computed tomography: Quantitative versus qualitative analysis for evaluation of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1984;4:1213-21.
31. Mahmorian JJ, Boyce TM, Goldberg RK, Cocanougher MK, Roberts R, Verani MS, et al. Quantitative exercise thallium-201 single photon emission computed tomography for enhanced diagnosis of ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:318-29.
32. Durusoy E, Yıldırım T, Altun A. (2010). Koroner Arter Hastalığı Poliklinik Takibi. *Balkan Medical Journal*, 2010(1), 13-18.
33. Antonio M. Calafiore, Giovanni Teodori, Gabriele Di Giammarco et al. Multiple arterial conduits without cardiopulmonary bypass: Early angiographic results *Ann Thorac Surg* 1999;67:450-456.
34. Ömeroğlu SN, Kırallı K, Güler M, Toker ME, İpek G, Işık Ö, Yakut C. Mid-term angiographic assessment of coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000;70:844-849.
35. Anderson RE, Bone D, Dale SM, Lindström C, Owall A, Brodin LA. Myocardial perfusion after coronary artery bypass surgery. A study using ectomographic myocardial scintigraphy and adenosine provocation. *Scand Cardiovasc J.* 1998;32:69-74.
36. Elhendy A, Cornel JH, van Domburg RT, Bax JJ, Roelandt JR. Effect of coronary artery bypass surgery on myocardial perfusion and ejection fraction response to inotropic stimulation in patients without improvement in resting ejection fraction. *Am J Cardiol.* 2000;86:490-4.
37. Hamm, C. W. Heeschen, C. Falk, E. & Fox, K. A. (2006). *Acute Coronary Syndromes: Pathophysiology, Diagnosis and Risk Stratification.*

38. Akbulut, T. Bilsel, T. Uyarel, H. Terzi, S. Sayar, N. Aydın, A. & Yeşilçimen, K. (2004). Anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizminin erken koroner arter hastalığı gelişimindeki rolü. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 32(1), 23-27.
39. Yusuf, S., Sleight, P., Pogue, J. F., Bosch, J., Davies, R., & Dagenais, G. (2000). Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *The New England journal of medicine*, 342(3), 145-153.
40. Nakahara, K. I., Matsushita, S., Matsuoka, H., Inamatsu, T., Nishinaga, M., Yonawa, M., & Orimo, H. (2000). Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene affects heart weight. *Circulation*, 101(2), 148-151.
41. Bostan, C., & Karcier, S. (2002). Anjiyotensin dönüştürücü enzim geni polimorfizmi ve kardiyovasküler hastalıklar. *TürkKardiyol Dem Arş*, 30, 441-448.
42. Araz, M., Yilmaz, N., Güngör, K., Okan, V., Kepekci, Y., & Aynacioglu, A. S. (2001). Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients. *Diabetes research and clinical practice*, 54(2), 95-104.
43. Tezcan, H., Tuğlular, S., Çiftçiöğlü, C., Fak, A. S., İşbir, T., Özener, Ç., & Oktay, A. (2002). Türk Hipertansif Hastalarda Anjiyotensin-Konverting Enzim Gen Polimorfizmi ve Sol Ventrikül Hipertrofisi İlişkisi. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 30(12), 743-748.
44. Falk, E., Shah, P. K., & Fuster, V. (2004). Atherothrombosis and thrombosis-prone plaques. In *Heart* (pp. 3327-3229). McGraw-Hill Companies.
45. Davies, M. J. (2000). The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart*, 83(3), 361-366.
46. Libby, P. (2001). Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 104(3), 365-372.
47. Spinale FG, Coker ML, Heung LI, Bond BR, Gunasinghe HR, Etoh TA. Matrix Metalloproteinase Induction/Activation System Exist in The Human Left Ventricular Myocardium And is Upregulated in Heart Failure. *Circulation* 2000; 102: 1944-1949

48. Loftus IM, Thompson MM. The Role Of Matrix Metalloproteinases in Vascular Disease. *Vasc Med* 2002;7:117-33
49. Jones CB, Sane CD, Herrington DM. Matrix Metalloproteinases: A Review Of Their Structure And Role in Acute Coronary Syndrome. *Cardiovascular Research* 2003; 59: 812-823
50. Zaltsman AB, Newby AC. Increased Secretion Of Gelatinases A And B From The Aortas Of Cholesterol Fed Rabbits: Relationship to Lesion Severity. *Atherosclerosis* 1997;130:61-70
51. Ross R. Atherosclerosis – An İnflammatory Disease. *The New England Journal Of Medicine* 1999;340:2;115-126
52. Reel B. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri Ve Ateroskleroz: Derleme. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006;26:527-537
53. Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix Metalloproteinases And Myocardial infarction: Review. *Can J Cardiol* 2007;23:9;727-733
54. Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF. Matrix Metalloproteinase İnhibition After Myocardial İnfarction: A New Approach To Prevent Heart Failure? *Circ. Res.* 200189;3: 201-10
55. Johnson J L, George S J, Newby A C, Jackson C L. Divergent Effects Of Matrix Metalloproteinases 3, 7, 9, and 12 on Atherosclerotic Plaque Stability İn Mouse Brachiocephalic Arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:15575–80
56. Pöllanen PJ, Lehtimäki T, Mikkelsen J. Matrix Metalloproteinase 3 And 9 Gene Promoter Polymorphisms: Joint Action Of Two Loci As A Risk Factor For Coronary Artery Complicated Plaques. *Atherosclerosis* 2005;180: 73-78
57. Ye S. Influence Of Matrix Metalloproteinase Genotype On Cardiovascular Disease Susceptibility And Outcome. *Cardiovascular Research* 2006;69:636-645
58. Kim PJ, Chang K, Koh YS. Functional Polymorphism İn The Promoter Region Of Matrix Metalloproteinase-9 İs Strongly Associated With Acute Myocardial Infarction. *Korean Circulation J* 2005;35:192-196
59. Blankenberg S, Rupprecht H J, Poirier O. Plasma Concentrations And Genetic Variation Of Matrix Metalloproteinase 9 And Prognosis Of Patients With Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2003;107:1579- 1585
60. Mizuno H, Sato H, Sakata Y. Impact Of Atherosclerosis Related Gene

- Polymorphisms On Mortality And Recurrent Events After Myocardial Infarction. *Atherosclerosis* 2006; 185: 400-405.
61. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure And Function Of Matrix Metalloproteinases And Timp. *Cardiovascular Research* 2006; 69:562-573
 62. Solak M, Bağcı H, Şengil AZ, Öztaş S. Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi. 1. Baskı, Ankara: Uyum Ajans, 2000.
 63. Temizkan G, Arda N. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2004.
 64. Baykal Y, Özet A, Güran Ş, Özet G. P53 ve Onkogenezdaki Rolü. *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 1996; 6(2):111-115.
 65. Akar N. Klinik Moleküler Patoloji'ye Giriş. 2. Baskı, Antıp A.Ş. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları, 1999: 167-230.
 66. World Health Organization. Cardiovascular Diseases. Available from <http://www.who.int/cardiovascular Diseases/en/>
 67. Turner, R. C., Millns, H., Neil, H. A. W., Stratton, I. M., Manley, S. E., Matthews, D. R., & Holman, R. R. (1998). Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). *Bmj*, 316(7134), 823-828.
 68. Hajar R. (2017). Risk Factors for Coronary Artery Disease: Historical Perspectives. *Heart views: the official journal of the Gulf Heart Association*, 18(3), 109-114.
 69. Dhingra, R., & Vasan, R. S. (2011). Age as a risk factor. *The Medical clinics of North America*, 96(1), 87-91.
 70. Eren, Z., Kantarcı, G., Kurt T., & Kantarcı, Ö. (2002) Türk Popülasyonunda Miyokard İnfarktüsü Riski ile Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnsersiyon/Delesyon Gen Polimorfizminin İlişkisi. *İç Hastalıkları Dergisi*, 9(3), 95-101.
 71. Pfohl, M., Koch, M., Prescod, S., Haase, K. K., Häring, H. U., & Karsch, K. R. (1999). Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism, coronary artery disease and myocardial infarction. An angiographically controlled study. *European heart journal*, 20(18), 1318-1325.

72. Lindpaintner, K., Pfeffer, M. A., Kreutz, R., Stampfer, M. J., Grodstein, F., LaMotte, F., & Hennekens, C. H. (1995). A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *New England Journal of Medicine*, 332(11), 706-712.
73. Nakai, K., Itoh, C., Miura, Y., Hotta, K., Musha, T., Itoh, T., & Hiramori, K. (1994). Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation*, 90(5), 2199-2202.
74. Peterlin, B., Petrovič, D., Zorc, M., & Keber, I. (2000). Deletion/insertion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene as a risk factor in the Slovenian patients with coronary heart disease. *Pflügers Archiv*, 439(1), r040-r041.
75. Tokunaga, S., Tsuji, H., Nishiue, T., Yamada, K., Miyasaka, Y., Saitou, D., & Iwasaka, T. (2001). Lower mortality in patients with the DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene after acute myocardial infarction. *Acta cardiologica*, 56(6), 351-355.
76. Tokgözoğlu, S. L., Alikışıoğlu, M., Atalar, E., Tunçbilek, E., Ovünç, K., Aksöyek, S., & Kes, S. (1997). Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk and extent of ischemic heart disease among Turkish patients. *Coronary artery disease*, 8(3-4), 137-141.
77. Fujisawa, T., Ikegami, H., Shen, G. Q., Yamato, E., Takekawa, K., Nakagawa, Y., & Ohishi, M. (1995). Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction, but not with retinopathy or nephropathy, in NIDDM. *Diabetes Care*, 18(7), 983-985.
78. Dzau, V. J. (1994). Cell biology and genetics of angiotensin in cardiovascular disease. *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*, 12(4), S3-10.
79. Gagne, P. J., Tihonov, N., Li, X., Glaser, J., Qiao, J., Silberstein, M., & Brooks, P. (2005). Temporal exposure of cryptic collagen epitopes within ischemic muscle during hindlimb reperfusion. *The American journal of pathology*, 167(5), 1349-1359.

80. Hlatky MA, Ashley E, Quertermous T, et al. Matrix metalloproteinase circulating levels, genetic polymorphisms, and susceptibility to acute myocardial infarction among patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 2007; 154:1043–1051.
81. Tsakiris DA, Battagay E, Heilmbauer I, et al. Inverse regulation of MMP-9 and MMP-2 in long-term follow-up after acute coronary syndrome: lack of correlation with platelet and endothelial cell activation markers. *Vasc Dis Prev* 2004; 1:149–157.
82. Kai, H., Ikeda, H., Yasukawa, H., Kai, M., Seki, Y., Kuwahara, F., & Imaizumi, T. (1998). Peripheral blood levels of matrix metalloproteases-2 and-9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology*, 32(2), 368-372.
83. Zeng, B., Prasan, A., Fung, K. C., Solanki, V., Bruce, D., Freedman, S. B., & Brieger, D. (2005). Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and-2 in patients with symptomatic coronary artery disease. *Internal medicine journal*, 35(6), 331-335.
84. Hojo, Y., Ikeda, U., Ueno, S., Arakawa, H., & Shimada, K. (2001). Expression of matrix metalloproteinases in patients with acute myocardial infarction. *Japanese circulation journal*, 65(2), 71-75.
85. Ghaderian, S. M. H., Najar, R. A., & Panah, A. S. T. (2010). Genetic polymorphisms and plasma levels of matrix metalloproteinases and their relationships with developing acute myocardial infarction. *Coronary artery disease*, 21(6), 330-335.
86. Alp, E., Menevse, S., Tulmac, M., Yilmaz, A., Yalcin, R., & Cengel, A. (2011). The role of matrix metalloproteinase-2 promoter polymorphisms in coronary artery disease and myocardial infarction. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 15(4), 193-202.
87. Beber, A. R. C., Polina, E. R., Biolo, A., Santos, B. L., Gomes, D. C., La Porta, V. L., & Santos, K. G. (2016). Matrix metalloproteinase-2 polymorphisms in chronic heart failure: relationship with susceptibility and long-term survival. *PloS one*, 11(8), e0161666.

88. Dalepiane, V. L., Silvello, D. N., Paludo, C. A., Roisenberg, I., & Simon, D. (2007). Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with coronary artery disease. *Genetics and Molecular Biology*, 30(3), 505-510.
89. Jormsjö, S., Ye, S., Moritz, J., Walter, D. H., Dimmeler, S., Zeiher, A. M., & Eriksson, P. (2000). Allele-specific regulation of matrix metalloproteinase-12 gene activity is associated with coronary artery luminal dimensions in diabetic patients with manifest coronary artery disease. *Circulation research*, 86(9), 998-1003.