

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KORONER ARTER HASTALIĞINDA HTERT GEN
EKSPRESYONU VE TELOMERAZ AKTİVİTESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. MEHMET KILINÇ**

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. İSMAİL DOĞU KILIÇ**

DENİZLİ - 2019

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KORONER ARTER HASTALIĞINDA HTERT GEN
EKSPRESYONU VE TELOMERAZ AKTİVİTESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. MEHMET KILINÇ**

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. İSMAİL DOĞU KILIÇ**

DENİZLİ - 2019

Doç. Dr. İsmail Doğu KILIÇ danışmanlığında Dr. Mehmet KILINÇ tarafından yapılan “Koroner Arter Hastalığında hTERT Gen Ekspresyonu ve Telomeraz Aktivitesi” başlıklı tez çalışması 08/03/2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Kardiyoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof. Dr. Halil Terzioğlu

ÜYE: Doç. Dr. İsmail Doğu KILIÇ

ÜYE: Doç. Dr. İsmail Doğu KILIÇ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

08.03.2019

Prof. Dr. ~~Osman AİTAÇ~~
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Kardiyoloji uzmanlık eğitimim süresinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. İsmail Doğu KILIÇ'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitim sürecime olan katkılarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Dursun Dursunoğlu'na, Prof. Dr. Havane Asuman Kaftan'a, Prof. Dr. Halil Tanrıverdi'ye, Doç. Dr. Y. Tolga YAYLALI 'ya, Doç. Dr. Gökay Nar'a, Dr. Öğretim Üyesi Samet Yılmaz'a, Dr. Öğretim Üyesi Koray Adalı'ya teşekkür ederim.

Asistanlık sürecinde birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen canım aileme, annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teőekkürler...

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER	III
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
ÖZET	IX
İNGİLİZCE ÖZET.....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
A. KORONER ARTER HASTALIĞI VE ATEROSKLEROZ	2
İskemik Kalp Hastalığı Risk Faktörleri	3
B. KORONER ARTER HASTALIĞININ KLİNİK PREZENTASYONLARI.....	7
Kararlı Koroner Arter Hastalığı (KKAH).....	7
Akut Koroner Sendromlar.....	10
NSTE-AKS	11
STEMI.....	12
C. TELOMER VE TELOMERAZ	14
Telomer	14
Telomeraz	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
A. HASTA POPÜLASYONU	20
B. BİYOKİMYASAL ANALİZ.....	21
RNA izolasyonu ve Real-time PZR ile Gen ekspresyon Değişiminin Belirlenmesi	22
Telomeraz Enzim Aktivitesi Protokolü.....	25
C. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	26
PCR Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA	39
6. KAYNAKLAR	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin
ACEİ	: Anjiyotensin Konverting (Dönüştürücü) Enzim İnhibitörü
AKS	: Akut Koroner Sendrom
ark.	: arkadaşları
ARB	: Anjiyotensin Reseptör Blokörü
BB	: Beta Bloker
BKİ	: Beden Kitle İndeksi
C	: Sitozin
CCS	: Kanada Kardiyovasküler Derneği (Canadian Cardiovascular Society)
CRP	: C-reaktif Protein
CX	: Circumflex Arter
DKC	: Dyskeratosis Congenita
D-loop	: Displacement Loop
DM	: Diyabetes Mellitus
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EF	: Ejeksiyon Fraksiyonu
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
FFR	: Fraksiyonel Akım Rezervi
G	: Guanin
g	: gram
Hb	: Hemoglobin
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HL	: Hiperlipidemi
HT	: Hipertansiyon
hTERT	: İnsan Telomeraz Reverse Transkriptaz
IL	: İnterlökin
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KKAH	: Kararlı Koroner Arter Hastalığı
KKB	: Kalsiyum Kanal Blokeri

KRE	: Kreatinin
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
LA	: Sol Atriyum
LAD	: Sol Ön İnen Arter
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
µg	: Mikrogram
MI	: Miyokard İnfarktüsü
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimol
µM	: Mikromol
mm	: Milimetre
mRNA	: Mesajcı RNA
mV	: Milivolt
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NSTE-AKS	: Non-ST Elevasyonlu Akut Koroner Sendrom
PAB	: Pulmoner Arter Basıncı
PAH	: Periferik Arter Hastalığı
PAI	: Platelet Activator İnhibitör
PBMC	: Periferik Mononükleer Kan Hücresi
POT1	: Protection of Telomeres-1
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rap1	: Repressor/activator Protein 1
RCA	: Sağ Koroner Arter
SoDB	: Sol Dal Bloğu
STEMI	: ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsü
T	: Timin
TEKHARF	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
TERC	: Telomerase RNA Component
TERT	: Telomerez Reverse Transkriptaz
TG	: Trigliserid

TIN2	: TRF1-Interacting Nuclear Factor 2
TNF- alfa	: Tumor Nekrozis Faktör-alfa
T-loop	: Telomer Loop
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
TPP1	: Tripeptidylpeptidase 1
TRF1	: Telomere-Repeat-Binding Factor 1
TRF2	: Telomere-repeat-binding Factor 2
U	: Unite
UAP	: Unstable Angina Pectoris/ Karasız Angina
VSMC	: Vascular Smooth Muscle Cell (Vasküler Düz Kas Hücresi)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. AKS spektrumu. EKG = elektrokardiyogram; NSTEMI = ST yükselmesiz miyokart enfarktüsü; STEMI = ST-yükselmeli miyokart enfarktüsü.	10
Şekil 2. Telomerin yapısı	15
Şekil 3. Telomerin Yapısı	15
Şekil 4. T-loop ve D-loop oluşumu.....	16
Şekil 5. Serum telomeraz enzim konsantrasyonu	32

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. İskemik kalp hastalığı için risk faktörleri.....	3
Tablo 2. cDNA sentez karışımı.....	23
Tablo 3. Çalışmamızda kullanılan 2 adet genin forward ve reverse primer dizileri.....	25
Tablo 4. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik ve demografik özellikleri	29
Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların biyokimyasal tetkiklerinin karşılaştırılması	30
Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen hastaların ekokardiyografik bulgularının karşılaştırılması.....	31
Tablo 7. Çalışmaya dahil edilen hastaların anjiyografik sonuçlarının karşılaştırılması	31
Tablo 8. Telomeraz enzim konsantrasyonu	32
Tablo 9. <i>hTERT</i> gen ekspresyonu	33
Tablo 10. KAH ve kontrol hastalarının klinik ve demografik özellikleri.....	33
Tablo 11. KAH ve kontrol hastalarının biyokimyasal tetkiklerinin ve ekokardiyografik bulgularının karşılaştırılması	34
Tablo 12. Telomeraz enzim konsantrasyonu	35
Tablo 13. <i>hTERT</i> gen ekspresyonu	35
Tablo 14. NSTEMI-AKS ve STEMI hastalarının klinik ve demografik özellikleri.....	36
Tablo 15. NSTEMI-AKS ve STEMI hastalarının biyokimyasal tetkiklerinin ve ekokardiyografik bulgularının karşılaştırılması.....	37
Tablo 16. Telomeraz enzim konsantrasyonu	37
Tablo 17. Telomeraz enzim konsantrasyonu	38

ÖZET

KORONER ARTER HASTALIĞINDA

HTERT GEN EKSPRESYONU VE TELOMERAZ AKTİVİTESİ

AMAÇ:

Ateroskleroz oluşumu ve akut koroner sendrom (AKS) gelişimi için en güçlü bağımsız risk faktörü yaştır. Kromozomların uçlarında bulunan özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden oluşan heterokromatik bölgeler olan telomerler de, biyolojik yaş ve yaşlanma hızı üzerine etkilidirler. Sonuç olarak telomerler yaşlanmayla ilişkili hastalıklarla bağlantılı olabilir.

Çalışmamızda koroner arter hastalığı ile telomer uzunluğunun korunmasını, stabil kalmasını sağlayan, telomeraz enzim aktivitesi ve bu enzimin aktivitesinde katalitik görev yapan proteini kodlayan, *hTERT* gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

METOT:

Çalışmamıza 55-75 yaş aralığında, koroner arter hastalığı şüphesi ile koroner anjiyografi yapılmış, 62 kontrol, 71 stabil koroner arter hastalığı (KAH) ve 78 AKS olmak üzere 211 hasta dahil edilmiştir. Yaş aralığı, telomer üzerine yaş etkisini minimize etmek için dar tutulmuştur. Telomeraz enzim aktivitesi ELİSA ile, *hTERT* gen ekspresyonu RT-PZR ile belirlenmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Varyans Analizi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanılmıştır. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman ya da Pearson korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir.

BULGULAR:

Hastaların yaş ortalaması AKS grubunda $63,4 \pm 6,1$, stabil KAH grubunda $63,4 \pm 6,4$, kontrol grubunda $61,7 \pm 5,6$ saptandı. Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.2$). AKS hastalarının %73,1'i (57), stabil KAH hastalarının %76,1'i (54) erkekti ve bu iki grupta kadın ve erkek hastalarının dağılım oranları benzerdi. Kontrol grubu hastalarının 40,3'ü (25) erkekti. Serum telomeraz enzim konsantrasyonu sırasıyla AKS (36.61 ± 1.54), stabil KAH'da (36.79 ± 1.57), kontrol grubuna (37.03 ± 2.25) göre daha düşük saptandı, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,890$). Telomeraz enzim sentezinde rol alan *hTERT* gen ekspresyonu AKS grubunda kontrol grubuna göre 2,7 kat, stabil KAH grubunda kontrol grubuna göre 2,2 kat daha az saptandı.

SONUÇ:

Bu çalışmada AKS, stabil KAH ve kontrol grubu arasında telomeraz enzim konsantrasyonu anlamlı farklılık göstermezken, gruplar arasında *hTERT* gen ekspresyonu anlamlı farklılık göstermekteydi.

Koroner arter hastalığı tanısını öngörmeye lökosit telomeraz aktivitesi ve *hTERT* gen ekspresyonu serum belirteci olarak faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler: Koroner arter hastalığı, akut koroner sendrom, stabil koroner arter hastalığı, *hTERT* gen ekspresyonu, telomeraz aktivitesi

İNGİLİZCE ÖZET

HTERT GENE EXPRESSION AND TELOMERASE ACTIVITY IN CORONARY ARTERY DISEASE

AIM:

Age is the strongest independent risk factor for the formation of atherosclerosis and the development of acute coronary syndrome (ACS). The telomeres, which are the heterochromatic regions of specialized DNA tandem repeats at the ends of chromosomes, are also effective on biological age and the aging rate. As a result, telomeres may be associated with aging-related diseases.

In the current study, it is aimed to evaluate the correlation between the telomerase enzyme activity, providing the protection and stabilization of telomere length, and the *hTERT* gene expression, coding the protein that acts as a catalytic in the activity of this enzyme in coronary artery disease.

METHOD:

A total of 211 patients between 55 and 75 years old, as 62 controls, 71 stable coronary artery disease (CAD) and 78 ACS, to whom coronary angiography was applied due to the suspicion of coronary artery disease, were included in the study. The age range was kept limited in order to minimize the age effect on the telomere. Telomerase enzyme activity was determined by ELISA and *hTERT* gene expression was determined by RT-PZR. Variance Analysis was used for the comparison of independent group differences when parametric test assumptions were provided; and in the absence of parametric test assumptions, Kruskal Wallis Variance Analysis was used to compare the independent group differences. In addition, the correlation between continuous variables were analyzed by Spearman or Pearson correlation analysis and the differences between categorical variables were examined by Chi-square analysis.

RESULTS:

Age average of the patients was determined as 63.4 ± 6.1 in the ACS group, as 63.4 ± 6.4 in the stable CAD group, and as 61.7 ± 5.6 in the control group. No significant difference was observed between the groups ($p=0.2$). 73.1% (57) of the ACS patients and 76.1 (54) of the stable CAD patients were male and distribution ratio of female and male patients was similar in these groups. 40.3% (25) of the patients in the control group were male. Serum telomerase enzyme concentration was detected as lower in ACS (36.61 ± 1.54) and stable CAD (36.79 ± 1.57) when compared to the control group (37.03 ± 2.25) however this difference was not statistically significant ($p=0.890$). *hTERT* gene expression acting in the telomerase enzyme synthesis was detected as 2.7 times lower in ACS group when compared to the control group and as 2.2 times lower in the stable CAD group than the control group.

CONCLUSION:

In the current study, telomerase enzyme concentration does not differ significantly between ACS, stable CAD and control group, whereas *hTERT* gene expression is significantly different between the groups.

Leukocyte telomerase activity and *hTERT* gene expression can be useful as the serum indicators for the prediction of the coronary artery disease.

Keywords: Coronary artery disease, acute coronary syndrome, stable coronary artery disease, *hTERT* gene expression, telomerase activity

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner arter hastalığı, gelişmiş ülkelerde olduğu gibi bizim ülkemizde de mortalitenin ve morbiditenin başlıca nedeni olarak dikkati çekmektedir ve prevalansı giderek artmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların gelişmesi ve ilerlemesinde, yaş önemli risk faktörlerinden birisidir.

Telomerler ökaryotik organizmalarda lineer kromozomların uçlarında bulunan özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden oluşan heterokromatik bölgelerdir. Telomerlerin esas görevi, kromozomların uç bölgelerini herhangi bir hasara karşı korumak ve her DNA replikasyonundan sonra vital genetik bilgi kaybını engellemektir. Telomer kısalması primer insan hücrelerinde replikatif yaşlanmaya öncülük eder. Normal somatik hücrelerin replikasyon kapasiteleri sınırlıdır. Her hücre bölünmesiyle telomerler kısalır ve sonuç olarak hücreler replikatif yaşlanmaya girerler. Telomeraz enzim fonksiyonu hücrelerin çoğunda yaşa bağlı olarak azalır. Hücresel yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıklardan kaçınmak için telomer uzunluğunun korunması yeterli olabilir.

Kromozomların uç kısımlarına hegzamerik tekrarları (TTAGGG)n ekleyen özel bir DNA polimeraz olan telomeraz enzimi, telomerler boyunu uzatabilir, hücre bölünmesini uyarabilir, hücre ömrünü uzatabilir, hücre bütünlüğü ve devamlılığı sağlamak amacıyla, kısa telomerlere bir cevap olarak artabilir. Telomeraz aktivitesindeki artış sadece telomerleri etkilemez, aynı zamanda sağlıklı hücre fonksiyonlarını ve uzun dönem bağışıklık fonksiyonlarını korur. Enflamatuvar sürecin makrofajlarda telomeraz revers transkriptaz (TERT) ekspresyonunu indükleyerek telomerazı aktive ettiği gösterilmiştir.

Araştırmamızda hem vasküler yaşlanmayla ilişkisi açısından hem de inflamasyonda telomerazın artması açısından *hTERT* gen ekspresyonu ve telomeraz enzim konsantrasyonu AKS, stabil KAH ve kontrol gruplarında karşılaştırılacaktır. Çalışmamızdan elde edilecek sonuçların, koroner arter hastalığı patofizyolojisinin anlaşılmasına ve bu parametrelerin koroner arter hastalığının varlığı ya da yaygınlığı ile ilişkisini anlamaya yardımcı olacağını düşünüyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

A. KORONER ARTER HASTALIĞI VE ATEROSKLEROZ

Kardiyovasküler hastalıklar sanayileşmiş ülkelerde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (1). Koroner arter hastalığı (KAH) bu hastalıklar arasında en yaygın görülenidir ve yüksek ölüm ve morbidite oranlarıyla ilişkilidir. Dünya genelinde ölümün tek başına en sık nedenidir. Her yıl yedi milyondan fazla kişi KAH nedeniyle ölmektedir. Bu rakam tüm ölümlerin %12,8'sine denk gelmektedir (2). Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasına göre halkımızda yaklaşık olarak yılda toplam 230 bin yeni koroner olayın gerçekleştiği, yılda 160 bin erkek ile 120 bin kadının öldüğü, koroner kökenli ölümün yaklaşık 66 bin erkek ile 61 bin kadında meydana geldiği tahmin edilmektedir (3).

Koroner arter hastalığının en önemli nedeni olan ateroskleroz, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolmasıyla karakterize arteriyel hastalıklar ailesinin bir parçasıdır (4). Ateroskleroz terimi, Yunancada “yulaf” veya “yulaf ezmesi” anlamına gelen “athere” ve “sert” anlamına gelen “sclerosis” kelimelerinden oluşmaktadır. Bu terim, iki bileşenden oluşan lipidden zengin (yumuşak) bileşen ve kollajenden zengin (sert) bileşen – olgun ateroskleroz plağını tanımlamaktadır. Ateroskleroz çoğunlukla orta çaplı elastik arterleri olmak üzere kan damarlarını etkileyen sistemik arteriyel bir hastalıktır (5). Aterosklerozun ayrıntıları elimizdeki bilgilere rağmen halen anlaşılammıştır. Çok sayıda yaygın ve sistemik risk faktörü vardır. Bu risk faktörlerinin başlıcaları sigara, hipertansiyon (HT), diyabetes mellitus (DM), hiperlipidemi, erkek cinsiyet ve ailede erken yasta aterosklerotik hastalık öyküsü olmasıdır. Ateroskleroz koroner arterler, karotis arterler, serebral arterler, renal arterler ile aorta ve alt ekstremitte arterlerini daha sık tutar. Bunun yanında arteria mammaria interna gibi kimi bazı arterler bu süreçten hemen hemen hiç etkilenmez. Ateroskleroz elastik arterlerin ve büyük, orta büyüklükteki musküler arterlerin kronik hastalığıdır. Aterosklerozun hastalık süreci başlıca elastik arterlerin intima tabakasını etkileyen bir süreçtir. Bu tabaka lipidler ve enflamatuar hücreler tarafından infiltre olup, değişik derecelerde fibrozis gelişir (6). Aterosklerotik plaklar

düşük shear stresi bulunan dallanma bölgelerine yakın yerlerde yerleşirler. Aterosklerozun klinik semptomları, plak gelişimi ve büyümesinden ziyade, oluşmuş plakların dejenerasyonu ve rüptürü ile ilişkilidir.

İskemik Kalp Hastalığı Risk Faktörleri

Tablo 1. İskemik kalp hastalığı için risk faktörleri

Geleneksel Risk Faktörleri		Diğer Risk Faktörleri
Değiştirilemeyen	Değiştirilebilir	inflamasyon göstergeleri: CRP, adezyon molekülleri, IL, miyeloperoksidaz vb.
Yaş (erkek>45, kadın>55)	Sigara ve tütün	Hiperkoagülasyon göstergeleri: PAI, t-PA, fibrinojen
Erkek cinsiyet	Hipertansiyon	LDL partikül büyüklüğü
İrk	Dislipidemi	Homosistein
Aile öyküsü (Birinci derece Akrabalarda erkeklerde 55, kadınlarda 65 yaşın altında iskemik kalp hastalığı bulunması)	Diabetes Mellitus	Lipoprotein (a)

Yaş

Ateroskleroz oluşumu ve akut koroner sendrom (AKS) gelişimi için en güçlü bağımsız risk faktörü yaştır (7). 45 yaş ve üzeri erkeklerde, kadınlarda ise 55 yaş ve üzeri iskemik kalp hastalığı için bir risk faktörüdür. Bu yaşlardan itibaren sıklığı belirgin olarak artmaktadır.

Cinsiyet

Erkek cinsiyet tek başına bir risk faktörüdür. Kadınların menapozuna kadar, erkeklerde iskemik kalp hastalığı kadınlara göre 4 kat daha fazla görülmektedir. Postmenapozal dönemde ise risk kadınlar için artmakta fakat yaş grupları arası değerlendirme yapıldığında bu risk erkeklerden daha düşük kalmaktadır (7).

Premenapozal dönemde kadınlardaki iskemik kalp hastalığı sıklığının düşük olması östrojen hormonunun koruyucu etkisine bağlanmaktadır. Fakat postmenapozal çalışmalarda östrojen tedavinin faydası olmadığı hatta riskin hafifçe arttığı bildirilmiştir.

Aile hikayesi

Ailede veya 1. derecede akrabalarından kadınlarda 65 yaşın, erkeklerde 55 yaşın altında koroner arter hastalığı görülmesi major risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Ailesinde erken aterosklerotik kalp hastalığı olan kişilerde erken ateroskleroz riski 12 kat artmaktadır.

Sigara

Sigara içiciliği KAH için en önemli değiştirilebilir risk faktörüdür. Sigara düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonuna neden olur ve endotel bağımlı vazodilatasyonu bozar.

Ayrıca C-reaktif protein (CRP), intersellüler adezyon molekülleri, fibrinojen ve homosistein seviyelerinde artışa yol açar. Sigara içiciliği KAH riskini 2-3 kat artırır ve diğer risk faktörleri ile etkileşerek riskin daha fazla artışına neden olur (8). TEKHARF çalışması, sigara içiciliğinin ülkemizdeki en yaygın risk faktörü olduğunu ortaya göstermiştir. Sigara içiminin bırakılması ile koroner arter hastalığı riski azalmaktadır. Kişinin sigarayı bırakması ile göreceli riski bir yıl veya daha kısa sürede içmeyen bir kişinin düzeyine inmektedir (9).

Hipertansiyon

Koroner arter hastalığı için bilinen en önemli risk faktörlerinden biri hipertansiyondur. Koroner kalp hastalığı hipertansiflerde, normotansiflere göre 2-3 kat daha fazladır (10). Bütün aterosklerotik kardiyovasküler olayların %35'inden HT sorumludur (7,8). Hipertansiyonla ateroskleroz ilişkisi iki yönlüdür. Hipertansiyon ateroskleroz için hem bir risk faktörü hem de aterosklerozun bir sonucudur. Hipertansiyon “shear stres” mekanizması ile endotel fonksiyonlarını bozarak, plak oluşumu ve rüptür sürecine neden olur. Hipertansiyon duvar stresini artırır, sol ventrikül hipertrofisi oluşturur, böylece miyokardın oksijen ihtiyacı artar ve miyokard iskemisi oluşur. Sol ventrikül hipertrofisi olan hastalar iskemiye daha hassas ve bu hastalarda prognoz daha kötüdür. TEKHARF çalışmasının 12 yıllık izlem verileri, hipertansiyonun erişkinlerimizde koroner kökenli ölümleri belirleyici

en önemli etken olduğunu göstermiştir. Hipertansiyon, Türkiye’de erişkin toplumun yaklaşık %34’ünü etkiliyor (11).

Diabetes mellitus

Diyabet koroner arter hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür. Erkeklerde 2 kat, kadınlarda 4 kat KAH riskini artırır (12). Koroner arterlerin diyabette daha yaygın etkilendiği ve hastalığın daha distale uzanabileceğine dair hem patolojik hem de anjiyografik deliller bulunmaktadır (13). MI hikayesi olmayan diyabetik hastaların koroner mortalite riski, MI geçirmiş diyabetik olmayan hastaların riski ile aynıdır (14). Bu sebeple DM varlığı koroner arter hastalığı eşdeğeri olarak kabul edilmektedir (15). İnsülinin ateroskleroza katkısı, damar duvarında düz kas proliferasyonunu uyararak ve arter duvarında kolesterol esterlerinin toplanmasını sağlayarak olur (16,17). Ayrıca sürekli hiperglisemi, ileri glikolize son ürünlerin üretiminde artışa yol açarak, arteriyel inflamasyonu tetiklemektedir (7,18). Diyabetik olmayan sınırlardaki glikoz düzeyleri de ateroskleroza ilgili hastalıkların artmasıyla ilişkilidir (19,20). TEKHARF çalışmasında, ülkemizde diyabetli sayısının yılda ortalama %6 veya 120 bin arttığını ortaya koymuştur. Toplam Tip 2 DM prevalansının erişkinlerde 2 milyona vardığını, bunun da kardiyovasküler sağlığımız için kaygı verici olduğu vurgulanmıştır (11).

Obezite

Obezitenin neden olduğu dislipidemi, insülin direnci ve hipertansiyon aracılığı ile kardiyovasküler riski arttırdığı düşünülmektedir. Obezite prevalansı bütün dünyada giderek artan bir sağlık problemidir (21). TEKHARF çalışmasında obezitenin ülkemizdeki prevalansı 30 yaş üzerinde erkeklerde %21, kadınlarda %43’tür. Yapılan çalışmalar Türk toplumunun da hızlı bir şişmanlama eğiliminde olduğunu göstermektedir (22).

Metabolik sendrom

Metabolik sendrom, diyabet ve kardiyovasküler hastalık riskini artıran bir grup faktörün kombinasyonu olarak tanımlanır.

Metabolik sendrom tanısı için aşağıdaki kriterlerden en az 3’ünün olması gereklidir:

- Abdominal obezite (bel çevresi: erkeklerde > 102 cm, kadınlarda > 88 cm)
- Hipertrigliseridemi (≥ 150 mg/dl)
- Düşük HDL (erkeklerde < 40 mg/dl, kadınlarda < 50 mg/dl)

- Hipertansiyon (kan basıncı $\geq 130/85$ mmHg)
- Hiperglisemi (açlık kan glukozu ≥ 110 mg/dl)(15)

Dislipidemi

Koroner arter hastalığı ile serum kolesterol yüksekliği arasında güçlü bir ilişki vardır. Aterosklerozun oluşum hipotezlerinden biri kolesterol hipotezidir. Küçük yoğun LDL partiküller en aterojenik kolesterol grubudur. LDL kolesterol yüksekliği endotel hasarı ve damar duvarındaki inflamatuvar yanıtta artışla yakından ilişkilidir. Kılavuzlar lipid düşürücü tedavide LDL kolesterolü primer hedef olarak göstermektedir (15). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda hipertrigliseridemi de bağımsız risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Düşük plazma HDL kolesterol düzeyleri ile koroner olay gelisme riski arasında da güçlü bir ilişki olup, HDL kolesterolde ortalama 1 mg/dl düşme, KAH riskini %2-3 artırmaktadır (23,24). HDL kolesterol damar duvarındaki kolesterolü toplayıp katabolizmasını hızlandırarak plak oluşumuna karşı koruyucu etki göstermektedir (25). TEKHARF çalışmasında total kolesterol/HDL oranının 5'den yüksek olmasının gelecekteki koroner olayların en önemli öngördürücülerinden olduğu gösterilmiştir.

Diğer risk faktörleri

Koroner arter hastalığının etiolojisini ortaya koymada klasik majör risk faktörleri yanında yapılan araştırmalarda yeni risk faktörleri olarak high-sensitive C-reactive protein (hsCRP), fibrinojen, homosistein, lipoprotein (a), küçük LDL partikül boyutu; potansiyel risk faktörleri olarak da lipoprotein bağlantılı fosfolipaz A2, hamilelik ile bağlantılı plazma fosfataz, asimetric dimetil-arjinin, B tip natriüretik peptit, miyeloperoksidaz, oksidatif stres ölçümleri ve aday gen polimorfizmleri belirtilmiştir.

İnflamasyon aterosklerozun tüm evrelerinde yer almaktadır. Aterosklerozun ilk lezyonu olan yağlı çizgi oluşumunda, interlökin-1 ve TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinler subendotelial bölgede monosit ve lökositlerin toplanmalarına katkıda bulunmaktadırlar. Akut faz reaktanı ve inflamasyon belirteci olan CRP'nin artmış kardiyovasküler risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (26,27). CRP'nin yüksek duyarlıklı analiz ile ölçüldüğünde (hs CRP) kisilerde; Mİ, inme, PAH ve ani ölüm riski ile bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (28,29).

Hiperhomosisteinemi, venöz tromboembolizm ve prematüre aterotromboza neden olabilmektedir (26,30). Artmış homosisteinin endotel disfonksiyonu, LDL kolesterolün artmış oksidasyonu, arteriyel vazodilatasyonun bozulması, artmış trombosit aktivasyonu, inflamasyona yol açan interlökin-8 miktarının artması ve artmış oksidatif stres gibi olumsuz etkileri mevcuttur (26).

Plazma fibrinojen düzeyinin trombosit agregasyonunu ve kan akışkanlığını etkileyerek KAH, PAH ve inme riskinin artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (26). CRP gibi fibrinojende akut faz reaktanı olup inflamatuvar yanıt sırasında artar.

Biyolojik yaşın, artmış kardiyovasküler mortalite ile ilişkisinin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Son birkaç yılda birçok deneysel çalışma ve birkaç klinik çalışma bu durumdan sorumlu olan ortak faktörlerin hücrel yaşlanma ve telomer disfonksiyonu olabileceği hipotezini desteklemiştir (31–33).

B. KORONER ARTER HASTALIĞININ KLİNİK PREZENTASYONLARI

Kararlı koroner arter hastalığının klinik belirtileri sessiz iskemi, kararlı anjina pektoris, kararsız anjina, miyokart enfarktüsü (MI), kalp yetersizliği ve ani ölümdür. AKS'lar farklı klinik belirtileri olsa da ortak bir fizyopatolojik temeli paylaşırlar. Ateroskleroz plağının yırtılması ve aşınması sonucu tromboz ve distal embolizasyonla birlikte miyokardın yetersiz beslenmesi söz konusudur.

Kararlı Koroner Arter Hastalığı (KKAH)

Kararlı koroner arter hastalığı sol ana koroner arterde >%50 ve majör koroner arterlerden bir veya daha fazlasında >%70 daralmaya olan egzersiz ve stresle göğüs semptomlarının geliştiği bir hastalıktır. Sadece bu tip aterosklerotik daralmalar değil, aynı zamanda mikrovasküler işlev bozukluğu ve koroner vazospazm da KKAH kapsamına alınabilir.

Tanım ve Patofizyoloji

Kararlı koroner arter hastalığı genellikle egzersiz, duygusal veya başka tip streslerle tetiklenen, ancak kendiliğinden de gelişebilen, iskemi veya hipoksi ile

ilişkili, tekrarlayabilen, geri dönüşümlü miyokart ihtiyaç/sunum dengesizliği atakları şeklinde tanımlanır. İskemi/hipoksi atakları ile sıklıkla göğüste geçici sıkıntı hissi (anjina pektoris) oluşur. KKAH, bir AKS sonrasındaki kararlı hale gelmiş ve sıklıkla asemptomatik seyreden dönemleri de kapsamaktadır.

Kararlı koroner arter hastalığının farklı mekanizmaları: epikardiyal arterlerin plaklar nedeniyle tıkanması; arterlerin spazmı; mikrovasküler işlev bozukluğu ve geçirilmiş akut miyokart nekrozu ve/veya hibernasyonun neden olduğu sol ventrikül işlev bozukluğudur (iskemik kardiyomiyopati). Bu mekanizmalar tek başına veya birlikte etkili olabilir. Önceden revaskülerize olup olmamasına bakmadan kararlı koroner plaklar klinik olarak tamamen sessiz de kalabilir.

Kararlı koroner arter hastalığında miyokart iskemisine ve hipoksi, kan sunumu ve metabolik ihtiyaç arasındaki geçici bir dengesizlik sonucunda oluşur.

İskeminin sonuçları aşağıdaki sıralamayla gelişir:

- (1) İskemik bölgeden gelen venöz kanda yüksek H⁺ ve K⁺ konsantrasyonu
- (2) Ventriküler diastolik ve sonrasında sistolik işlev bozukluğu ile bölgesel duvar hareket bozukluğu bulguları
- (3) ST-T değişikliklerinin gelişmesi
- (4) Kardiyak iskemik ağrı (anjina) (34).

Koroner lezyonların işlevsel ciddiyeti koroner akım rezervi ve intrakoroner arter basınçlarının (fraksiyonel akım rezervi, FFR) ölçülmesi ile belirlenir.

Epidemiyoloji

Klinik tablonun çok çeşitli olmasından dolayı KKAH'nın prevalans ve insidansını belirlemek güçtür. Epidemiyolojik açıdan, kararlı anjina esas olarak öyküye dayalı bir tanıdır. Anjina prevalansı her iki cinsten yaşla birlikte artış gösterir. Kadınlarda 45-64 yaşları arasında %5-7 iken 65-84 yaşları arasında %10-12'ye, erkeklerde 45-64 yaşları arasında %4-7 iken 65-84 yaşları arasında %12-14'e çıkar (35). Orta yaşlı kadınlarda anjina sıklığının erkeklerden fazla olmasının olası nedeni kadınlarda mikrovasküler anjina prevalansının daha yüksek olması olabilir (36,37). Mikrovasküler anjina ve vazospastik anjina konusunda epidemiyolojik veri yoktur. Kararlı anjinası olan ancak anjiyografide koroner darlık saptanmayan

hastaların üçte ikisinde koroner vazomotor işlevlerin bozuk olduğu düşünülmektedir (38).

Tanı ve Klinik tablo

Kararlı koroner arter hastalığının tanı ve değerlendirmesinde; dislipidemi, hiperglisemi veya diğer biyokimyasal risk faktörleri belirlenir ve stres testi veya koroner görüntüleme incelemeleri kullanılır. Bu incelemeler iskemiye doğrulamak, eşlik eden durumları veya tetikleyici faktörleri belirlemek veya dışlamak, hastalıkla ilişkili riski ölçmek ve tedavinin etkinliğini değerlendirmek için kullanılır. Göğüs ağrısında dikkatli bir öykü almak oldukça önemlidir. Miyokart iskemisi ile ilişkili sıkıntı hissinin (anjina pektoris) özellikleri dört kategoride incelenir; yerleşimi, karakteri, süresi ve eforla veya diğer arttırıcı ya da rahatlatıcı faktörlerle ilişkisi. Göğüs ağrısı klinik olarak tipik angina, atipik anjina, angina dışı göğüs ağrısı olarak sınıflandırılır. Tipik angina, göğüste sternum arkasında tipik nitelik ve sürede rahatsızlık hissi, efor veya duygusal stres ile tetiklenme, istirahat ve/veya nitratlar ile dakikalar içinde rahatlama gibi özelliklerin tamamını karşılar. Atipik anjina, bu özelliklerin iki tanesini karşılar. Bu özelliklerden yalnızca biri varsa ya da hiçbiri yoksa anjina dışı göğüs ağrısı olarak adlandırılır.

Kanada Kardiyovasküler Cemiyetine göre anjina ciddiyeti dört kategoride sınıflandırılır;

-Sınıf I, yürüme ve merdiven çıkmak gibi sıradan etkinlikler anjinaya neden olmaz. Çalışma ya da eğlence sırasında yorucu veya hızlı veya uzamış efor ile anjina,

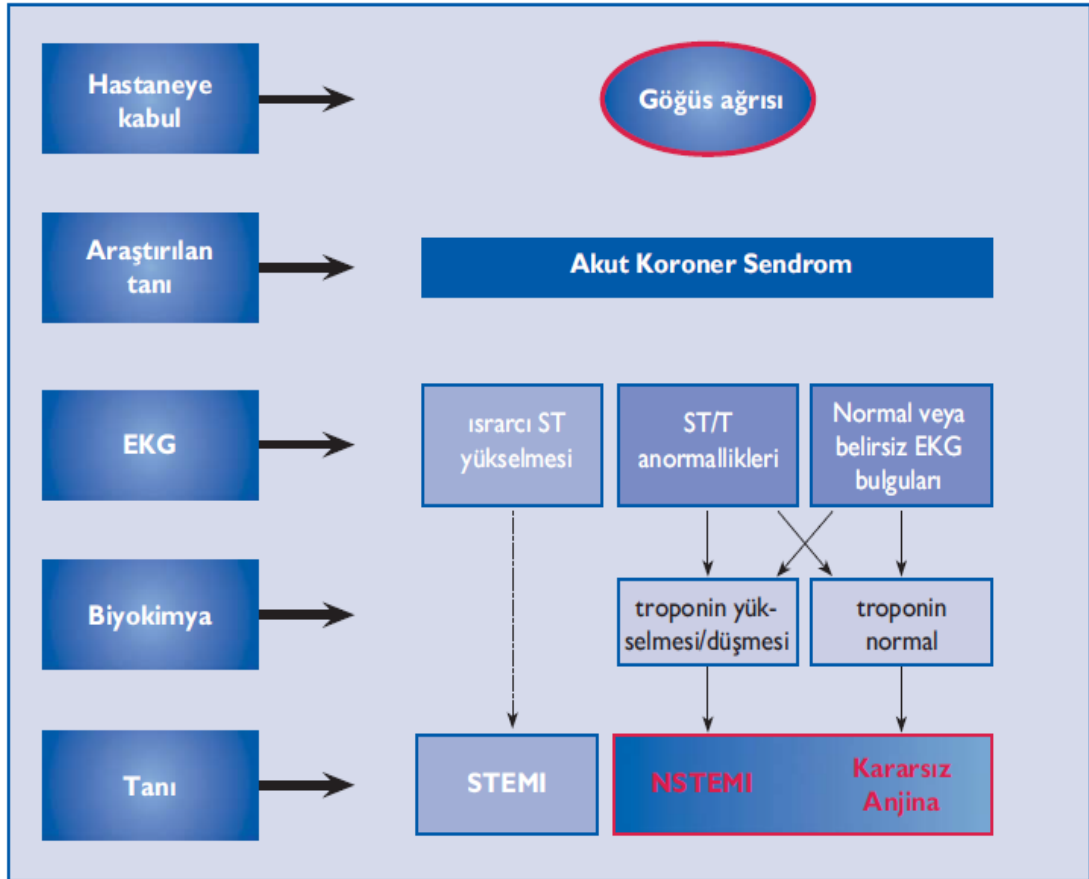
-Sınıf II, sıradan etkinliklerde hafif kısıtlanma. Hızlı yürüme veya merdiven çıkma ya da yemek sonrası veya soğukta, rüzgarda veya duygusal stres altında ya da yalnızca uyanma sonrası ilk birkaç saatte yürüme ya da merdiven çıkma ile anjina,

-Sınıf III, günlük fiziksel etkinliklerde belirgin kısıtlanma. Normal hızda ve normal koşullarda düz yolda bir veya iki blok (100 – 200 m'ye eşdeğerdir) yürüme veya bir kat merdiven çıkmakla anjina,

-Sınıf IV, herhangi bir fiziksel aktiviteyi rahatsızlık olmadan yapamama-istirahatte de anjina sendromu olabilir

Akut Koroner Sendromlar

Kararsız angina pektoris (UAP) ve ST elevasyonsuz miyokard infarktüsü (NSTEMI) ST elevasyonsuz akut koroner sendromlar başlığı altında toplanmaktadır. Akut koroner sendromların diğer klinik tablosu ST yükselmeli miyokard infarktüsüdür (STEMI).



Şekil 1. AKS spektrumu. EKG = elektrokardiyogram; NSTEMI = ST yükselmesiz miyokard enfarktüsü; STEMI = ST-yükselmeli miyokard enfarktüsü.

Akut miyokard enfarktüsünün tanımı: ‘Akut miyokard enfarktüsü’ miyokard iskemisi ile uyumlu bir klinik durumda miyokard nekrozu kanıtı olması durumunda kullanılan bir terimdir (39).

Miyokard enfarktüsünün evrensel tanımı;

-Kardiyak biyobelirteçlerde (tercihen troponin), en az bir değer üst referans sınırının 99. persantilini aşacak şekilde yükselme ve/veya düşüş saptanması ile birlikte aşağıdakilerden en az birinin bulunması:

- İskemi belirtileri;
- Yeni veya tahminen yeni anlamlı ST-T değişiklikleri veya yeni SoDB;
- EKG’de patolojik Q dalgalarının gelişmesi;
- Yeni oluşmuş canlı miyokart dokusu kaybının görüntüleme kanıtı veya yeni duvar hareket bozukluğu;
- Anjiyografi ya da otopsi ile intrakoronar trombusun tespiti.

-Kardiyak biyobelirteçler için kan alınmadan ya da kardiyak biyobelirteçler yükselmeden gerçekleşen, miyokart iskemisini düşündüren belirtiler ve yeni olduğu düşünülen EKG

değişiklikleri veya yeni SoDB’nin eşlik ettiği kardiyak ölüm olması

- Miyokart iskemisi ile birlikte kardiyak biyobelirteçlerde, en az bir değer üst referans sınırının 99. persantilini aşacak şekilde, yükselme ve/veya düşme olması durumunda, koroner anjiyografi veya otopside MI ilişkili stent trombozu tespit edilmesi.

NSTE-AKS

Bu hastalarda ısrarcı veya geçici ST-segment çökmesi veya negatif T talgası, düz T dalgaları, yanıltıcı normalleşmiş T dalgaları veya tamamen normal EKG bulguları vardır. Bu hastalarda troponin ölçümü yapılarak NSTE-AKS tanısı, NSTEMI veya kararsız anjina olarak ayrıntılandırılır.

Epidemiyoloji ve Doğal Seyir

İskemik kalp hastalarının en az üçte birinde hastalık AKS tablosu ile başlar. Yine üçte bir hastada ani ölüm ile açığa çıkar.

NSTE-AKS STE-AKS ‘den daha sık görülmektedir (40). STEMI hastalarında hastanede ölüm oranları NSTE-AKS’si olanlara göre daha yüksektir, 6. aylardaki oranlar birbirine benzerdir. Uzun süreli izlem sonuçlarında NSTE-AKS hastalarında ölüm oranları daha yüksektir (41). Dördüncü yıllarda ölüm oranlarındaki farklılık 2 kattır (42). Gerçekten NSTE-AKS hastaları daha yaşlı, daha fazla komorbiditeli özellikle diyabet ve böbrek yetmezliği olma eğilimindedir. NSTE-AKS tedavisi yalnızca akut dönemi değil aynı yoğunlukta uzun süreli tedaviyi de ele alması daha uygundur.

Fizyopatoloji

AKS, aterosklerozun yaşamı tehdit eden bir belirtisidir. Genellikle yırtılmış veya aşınmış aterosklerotik koroner plakla birlikte tromboz ve vazokonstriksiyon tetiklenir. Böylece kan akımında ani ve kritik bir azalma olur. Plak parçalanması sürecinde enflamasyon önemli bir fizyopatolojik faktördür. AKS nadiren ateroskleroz dışı bir nedene (örn: travma, kokain, arterit, diseksiyon, tromboemboli, doğuştan anomaliler ve kalp kateterizasyonu) bağlı olabilir. AKS'nin habercisi olan lezyonlar anjiyografide ince başlıklı fibroaterom, geniş bir plak, kısa bir lümen veya bu özelliklerin kombinasyonu şeklinde saptanabilir (43).

Tanı ve Klinik Tablo

Tipik göğüs ağrısı AKS'nin önde gelen semptomudur. NSTEMI-AKS'de tanı EKG'ye dayanarak (EKG'de ısrarcı ST segment yükselmesinin olmaması) ve diğer tanıları dışlayarak konur. Biyolojik belirteçler (troponinler) NSTEMI ve UAP'ı birbirlerinden daha iyi ayırt eder. Ayrıca tanıları dışlamak veya değerlendirmeye almak için görüntüleme teknikleri kullanılmaktadır.

NSTEMI-AKS'li hastalar klinikte çok çeşitli semptomlar ile başvururlar. Klasik olarak

birkaç klinik belirti ayırt edilmiştir:

- istirahatte uzun süreli tipik göğüs ağrısı (>20 dk);
- Yeni başlangıçlı (2 aydan daha kısa sürede başlayan) anjina (CCS [Kanada Kardiyovasküler Derneği] sınıf II veya III) (44)
- Daha önce kararlı durumda olan anjinanın yakın zamanda kararsız hale gelmesi ve en azından CCS sınıf III anjina (şiddeti giderek artan anjina) şiddetine ulaşması veya
- Miyokart enfarktüsü sonrası anjina

STEMI

UAP/NSTEMI'de STEMI'nin aksine koroner arterde total oklüzyondan çok subtotal oklüzyon mevcuttur. Ancak AKS'u oluşturan klinik tablolar hastalığın seyri sırasında birbirine geçiş yapabilir.

Epidemiyoloji

Avrupada her altı erkekten biri ve her yedi kadından biri miyokart enfarktüsü nedeniyle ölecektir. STEMI insidansı da artmaktadır (45). STEMI hastalarında

hastanede ölüm oranları NSTE-AKS'si olanlara göre daha yüksektir (46). STEMI mortalitesini pek çok faktör etkilemektedir, bunlar arasında: yaş, Killip sınıfı, tedaviye kadar geçen süre, tedavinin türü, önceki MI öyküsü, diabetes mellitus, böbrek yetersizliği, hasta koroner arter sayısı, ejeksiyon fraksiyonu ve uygulanan tedavi sayılabilir (46).

Tanı ve Klinik Tablo

Tipik göğüs ağrısı AKS'nin önde gelen semptomudur. Bazı hastalar bulantı/kusma, nefes darlığı, halsizlik, çarpıntı veya senkop gibi daha az tipik belirtilerle karşımıza çıkar. Bunlar daha sıklıkla kadın, diyabetik veya yaşlı hastalardır. Araştırmalar STEMI hastalarının %30'a kadarının tipik olmayan belirtilerle karşımıza çıktığını göstermektedir (47).

STEMI'de tanı EKG'ye dayanarak ve diğer tanıları dışlayarak konur. Erken evrelerde nadir de olsa EKG normal bulunur.

Tipik olarak, akut miyokart enfarktüsünde, iki ilişkili derivasyonda J noktasında ölçülen ST-segment yükselmesi, 40 yaş altı erkeklerde ≥ 0.25 mV, 40 yaş üstü erkeklerde ≥ 0.2 mV veya kadınlarda V2-V3 derivasyonlarında ≥ 0.15 mV ve/veya diğer derivasyonlarda ≥ 0.1 mV [sol ventrikül (SoV) hipertrofisi veya sol dal bloğu (SoDB) yokken] bulunmalıdır (39).

İnferiyor miyokart enfarktüsü hastalarında, eşlik eden sağ ventrikül enfarktüsünü tespit etmek için sağ göğüs derivasyonların (V3R ve V4R) kaydedilmesi önerilir (39,48).

Benzer şekilde, V1-V3 derivasyonlarında ST-segment çökmesi, özellikle de terminal T dalga pozitifliği mevcutsa (ST-yükselmesi eşdeğeri) miyokart iskemisini akla getirir ve eşlik eden V7-V9 derivasyonlarındaki ≥ 0.1 mV ST yükselmesi ile doğrulanabilir (39).

SoDB varlığında, akut miyokart enfarktüsünün EKG tanısı güçtür, ancak belirgin ST bozuklukları mevcutsa sıklıkla mümkündür. Tanıya yardımcı olmak için, bazı karmaşık algoritmalar öne sürülmüştür (49). Ancak bunlar tanısız kesinlik

sağlamaz (50). Aynı yönlü ST yükselmesinin varlığı (QRS yönü pozitif olan derivasyonlarda) miyokart enfarktüsünün en iyi göstergelerinden biri gibi görülmektedir (51).

İlk EKG’de ST-segment yükselmesi olmayabilir, bu durumda, ST segment yükselmesine öncülük edebilen hiper-akut T dalgaları aranmalıdır. EKG’nin tekrarlanması veya ST-segmentinin izlenmesi önemlidir.

C. TELOMER VE TELOMERAZ

Telomer

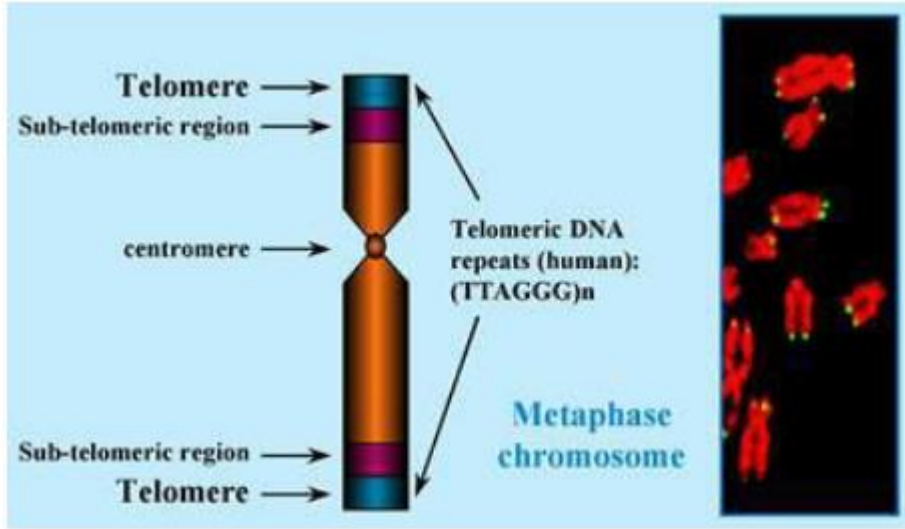
1960 yılına kadar hücreler sınırsız çoğalabileceği düşünülüyordu (52). Ancak daha sonra invitro ortamda 40-80 kadar sınırlı bölünme yaptıkları görüldü (53). Çalışmalar telomer adı verilen yapıların bölünme sayısını belirlemede önemli olduğunu gösterdi (52,54).

Telomerler ökaryotik organizmaların lineer kromozomlarının uçlarında yer alan, herhangi bir gen kodlamayan, özelleşmiş heterokromatin yapılarıdır (55). Her kromozom her iki ucunda telomer taşır ve bir insanda toplam 92 telomer vardır (56). Diğer kromozomal DNA dizilerinden hem yapısal hem de fonksiyonel olarak farklıdır ve temel biyolojik bir işleve sahiptirler (57).

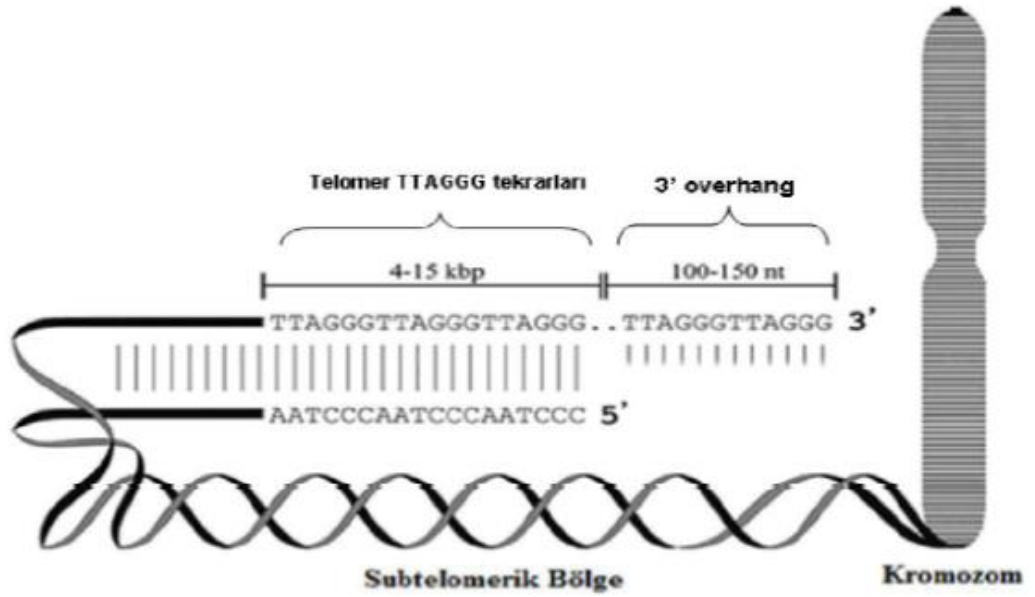
Telomerin Yapısı

Telomerler, ökaryotik lineer kromozomların uç bölgelerindeki yaklaşık 10-15 kb’dan oluşan guaninden zengin 5’-TTAGGG-3’ tekrar dizileridir (şekil 2 ve 3). Tekrarlanan dizi tek hücreli silli Tetrahymena’da "TTGGGG" iken insanlarda ve öteki memelilerde "TTAGGG"dir (58,59).

Telomerik dizilerin tekrarlama sayısı (uzunluğu) aynı türün bireyleri arasında ve hatta kromozomlar arasında farklılık gösterir (60). İnsan kromozom ucunda kromozomlara bitişik bölgede subtelomerik, daha uç kısımda da esas telomerik bölge bulunur (Şekil 2 ve 3) (61).



Şekil 2. Telomerin yapısı

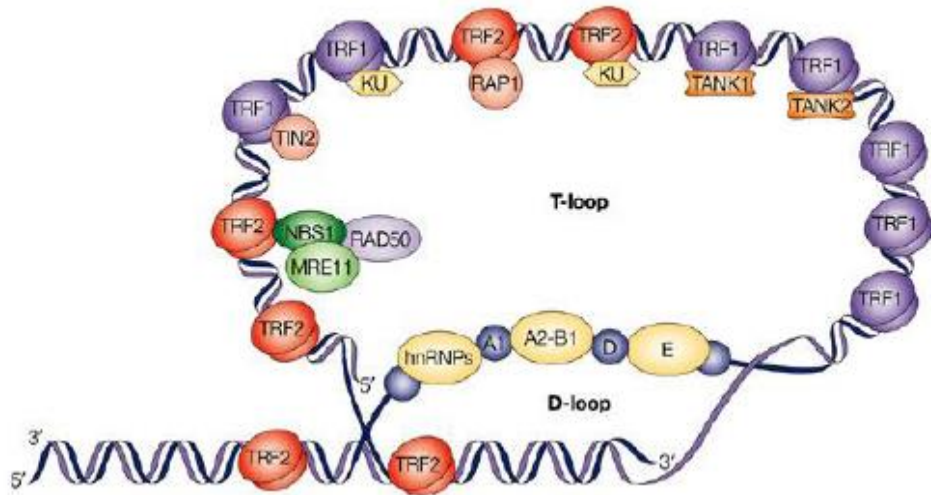


Şekil 3. Telomerin Yapısı

Subtelomerik bölgenin boyu değişken olup DNA tekrarları heterojendir (57). Subtelomerik bölgeyi takiben gelen esas telomer bölgesi çift ve sonra tek dal halinde devam eder (61).

Telomeri oluşturan hekzanükleotid dizileri, kement şeklinde ilmik oluşturan T-loop adı verilen 100-200 nükleotidlik guanin (G) zengini sarkan tek iplikli TTAGGG dizisiyle sonlanırlar (62). Telomerlerin kendine özgü olan T-loop düzeni, telomerin kendi üzerine kıvrılmasıyla meydana gelir. Tek iplikli, sarkan, G-zengini tek iplik çift iplikli telomerin içine girer. Bu yapı da telomer ipliklerinden birinin yerine geçerek ikinci bir ilmek olan D-loop'u oluşturur (şekil 4). Bu yapılar, telomeri diğer kromozomlarla birleşmekten ve kromozom kırığı olarak algılanmaktan korur (63).

Telomerler, telomer DNA'sı ve telomere bağlı proteinlerden oluşur (64). Telomerlere çeşitli bölgelerinden bağlı olan bu özel proteinler, telomerlerin uçlarının şekillenmesinde ve telomer uzunluğunun korunmasında işlev görürler (65). Telomer kompleksinde 6 ana protein vardır. Bunlar Rap1 (repressor/activator protein 1), TRF1 (telomere-repeat-binding factor 1), TRF2 (telomere-repeat-binding factor 2), POT1 (protection of telomeres-1), TIN2 (TRF1-interacting nuclear factor 2) ve TPP1 (tripeptidylpeptidase 1)dir (66). Bu proteinlerin bir kısmı telomer tek ve çift dal ucunu sarar, T-loop oluşumuna yardım ederek telomeri yıkılmaktan korur. Bir kısmı da telomerez enziminin telomere bağlanıp bağlanmamasını sağlayarak telomerin boyunu kontrol eder (67).



Şekil 4. T-loop ve D-loop oluşumu

Telomerin Fonksiyonları

Telomerler genomik bütünlüğü sağlarlar (68). Kromozomları füzyonlardan ve çekirdeksel bozulmalardan korurlar. Ökaryotik hücrelerde kromatin organizasyonu ve hücre proliferasyonunun kontrolünde görev alırlar (55). Telomer uzunluğuna hücre bölünmesi, telomeraz aktivitesi ve bazı çevresel faktörler katkıda bulunur (69). Telomerler hücrenin her döngüsünde ortalama 50-150 baz çifti azalır (70). Telomer kısalması hücre bölünmesini kısıtlar (71).

Hücre bölünmesi sırasında DNA çift sarmal yapısı açılarak DNA polimeraz enzimi ile replikasyon gerçekleşmektedir. Ancak bu enzim sadece 5'-3' yönünde replikasyon yapabilmektedir. Bu nedenle 3'-5' yönündeki kalıp DNA zincirinde sentez kesintisiz olarak gerçekleşirken ona ters olarak 5'-3' yönünde yerleşen, tamamlayıcı DNA zinciri RNA primerleri yardımı ile kesintili olarak sentezlenir. Kesintili elde edilen DNA parçaları (Okazaki fragmanları) daha sonra birleştirilir. Ancak son üretilen RNA primeri 5'-3' egzonukleaz ile uzaklaştırıldığında DNA polimeraz enzimi ulaşılabilir, 3'-OH grubu bulamadığından nükleotid ekleyemez ve telomerik DNA'nın ucunda küçük bir bölge kopyalanamayarak telomer kısalmış olur. Telomer kısalması primer insan hücrelerinde replikatif yaşlanmaya öncülük eder. Prokaryotlarda ise kromozom yapısı sirküler olup kromozom ucu bulunmadığından kısalma problemi yoktur.

Normal somatik hücrelerin replikasyon kapasiteleri sınırlıdır. Her hücre bölünmesiyle telomerler kısalır ve sonuç olarak hücreler replikatif yaşlanmaya girerler (72). Hücrelerdeki replikatif yaşlanma geri dönüşümsüz bir durumdur. Bu hücreler metabolik olarak aktiftirler fakat çoğalma kapasiteleri yoktur (65). Somatik hücrelerin programlı yaşlanması selektif bir avantaja sahiptir. Hücresel ölüm ve düzenli büyüme kurallarına uygun olarak gerçekleşir ve kanser olma riski azalır.

Telomeraz

Telomeraz, kendi RNA alt birimini kalıp olarak kullanarak kromozomların uç kısımlarına hekzamerik tekrarları (TTAGGG)n ekleyen özel bir DNA polimerazdır (73). Telomeraz, ribonükleoprotein yapıda bir reverstranskriptazdır ve büyük bir enzim kompleksidir (74,75). Embriyonik hücreler ve erişkin kök hücrelerinde aktif olan bu enzim, normal somatik hücrelerde saptanmamakta, ölümsüz kanser hücrelerinde ise yeniden aktive olmaktadır (76,77).

Telomerazın Yapısı

Telomeraz enzimi RNA'dan DNA sentezlenmesinde katalitik görev yapan bir protein (*hTERT*), telomer uzamasında kalıp görevi yapan RNA alt birimi (TERC) ve türe özgü yardımcı proteinlerden oluşur. Bu yardımcı proteinler NHP2, NOP10, pontin/reptin, Gar1 ve TCAB1 olarak adlandırılmıştır (78,79).

Telomerazın Fonksiyonları

Telomeraz RNA'sı, telomerin iki dalından uzun olanın karşısına yerleşir, revers transkripsiyonla kromozomların uç kısımlarına TTAGGG (DNA nükleotidleri) tekrar dizinlerini ekleyerek telomerik DNA'nın uzamasını sağlar (73,80,81). Böylece telomer uzunluğunun korunmasını ve stabil kalmasını sağlar (73).

Telomeraz enzim fonksiyonu embriyo evresinin ilk haftalarında çoğu hücrede görülürken, sonradan hücrelerin çoğunda yaşa bağlı olarak azalır (82,83). Somatik hücrelerin çoğunda telomeraz aktivitesi kaybolduğu halde germ hücreleri, endometrium, servikal epitel, epidermis, özofagus epiteli, intestinal kriptler ve saç folikülleri gibi yenilenebilen dokular ile kemik iliği hücreleri, hematopoetik kök hücreleri ve aktive lenfositlerde telomeraz aktivitesi düşük düzeyde devam etmektedir (84,85).

Telomeraz aktivitesindeki artış sadece telomerleri etkilemez. Aynı zamanda sağlıklı hücre fonksiyonlarını ve uzun dönem bağışıklık fonksiyonlarını korur (86,87). Telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi insan hastalıklarının patobiyolojisinde önemli faktörlerden biridir (88).

HücreSEL yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların birikimden kaçınmak için telomer uzunluğunun korunması yeterli olabilir (82). Bazı çalışmalarda immün sistemde telomerin kısalmasının enfeksiyon hastalıklarıyla savaşıma yeteneğinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (89). Kronik stres veya enfeksiyonlar telomerin kısalmasını artırmaktadır (83). Daha kısa telomerlere sahip insanların kalp hastalıklarından ölme riski artmaktadır. Yapılan çalışmalarda arterioskleroz gibi hastalıklarda, esansiyel arteriyel hipertansiyonla telomer uzunluğu ve telomeraz enzim aktivitesi arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir (90,91). Obezite ve sigara telomerin kısalmasını artırmaktadır (92). Sigara içenlerde telomeraz aktivitesi sigara

içmeyenlere göre daha yüksek çıkmıştır (93). İnsanda kanser hücrelerinin %90'ında yüksek telomeraz aktivitesi vardır (94). Telomeraz tek başına normal bir hücreyi kanser hücresine transforme edemez. Ancak hücrelerin sınırsız büyüme kapasitesi kazanıp ölümsüz hale geçebilmeleri ve telomer uzunluklarını koruyabilmeleri için gereklidir. Tümörlerin bir kısmında telomeraz negatiftir. Bu hücrelerde telomer uzunluğu Telomerlerin Alternatif Uzatılması (ALT) olarak isimlendirilen telomerazdan bağımsız bir mekanizma ile uzatılır (95). ALT'nin varlığı, telomeraz aktivitesi olmayan tümör hücrelerinde telomer uzunluğunun devamlılığının gözlenmesiyle ortaya çıkarılmıştır (96). Telomerin onkojenik translokasyonlarla yarışarak DNA çift sarmalindeki kırıklarla füzyona girmesinin tümör oluşumunu azalttığı düşünülmektedir (97). Bu nedenle telomer kısalması tümör supressor mekanizma olarak düşünülmektedir (98).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

A. HASTA POPÜLASYONU

Çalışmaya Kasım 2016 ve Mart 2018 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı kateter laboratuvarında, koroner arter hastalığı şüphesi ile koroner anjiyografi yapılmış hastalar alındı.

KAG sonucunda en azından bir majör epikardiyal koroner arterinde % 30 ve üzerinde darlığı bulunan bireyler vaka grubu (anlamlı-kritik KAH bulunanlar); koroner arterleri normal saptanan veya majör epikardiyal koroner arterlerinde % 30'dan az darlık yapan lezyonları olan hastalar kontrol grubu (anlamlı-kritik KAH bulunmayanlar) olarak sınıflandırıldılar. Majör epikardiyal koroner arterinde % 30 ve üzerinde darlığı bulunan vaka grubundaki bireylere de Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) kılavuzuna göre stabil KAH ve AKS tanısı konuldu. AKS alt grup tayininde (STEMI, NSTEMI ve UAP) seri EKG ve kardiyak enzim takibinden yararlanıldı (39).

Çalışmamıza 55-75 yaş aralığında, 62 kontrol, 71 stabil KAH ve 78 AKS olmak üzere 211 hasta dahil edilmiştir. Yaş aralığı, telomer üzerine yaş etkisini minimize etmek için dar tutulmuştur.

Çalışmadan Dışlama Kriterleri:

- Bilinen koroner arter hastalığının olması
- Kardiyomiyopati (iskemik, dilate, hipertrofik) varlığı
- Konjenital kalp hastalığı olanlar
- Gebelik veya laktasyon döneminde olunması
- Karaciğer hastalığı varlığı
- Kronik böbrek yetmezliği (Modifiye GFR < 30 ml/dak/ kreatinin < 1,5)
- Ciddi kalp kapak hastalığı varlığı

- Miyokardit veya perikardit tablosunda olunması
- Persistan atriyal fibrilasyon varlığı
- 55 yaşından küçük ya da 75 yaşından büyük olunması
- Sistemik enflamatuvar hastalık tanısı olması
- Aktif enfeksiyon varlığı
- Ötiroid olmayan tiroid hastalığı olanlar dahil major metabolik ya da endokrin hastalığı olanlar

Çalışma grubundaki tüm hastaların koroner anjiyografi öncesinde detaylı anamnezleri alınıp, tam bir fizik muayenesi yapılarak KAH risk faktörleri tespit edildi. Yapılan fizik muayene sonrası laboratuvar testleri ve 12 derivasyonlu istirahat EKG'leri çekilip, transtorasik ekokardiyografik tetkikleri ve sonrasında koroner anjiyografileri yapıldı.

Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alınmış olup, çalışmamız Pamukkale Üniversitesi Tıp fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Komisyonun 08.03.2016 tarih ve 5 sayılı kurul toplantısında etik kurul onayı almıştır.

B. BİYOKİMYASAL ANALİZ

Çalışmaya alınan tüm olguların rutin biyokimyasal tetkikleri (glukoz, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, Trigliserid, kreatinin, üre, tam kan sayımı, CRP vb.) hastane bilgi sisteminden kaydedildi. Ayrıca hastalardan *hTERT* gen ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi tayini için 3 CBC, 1 biyokimya tüpünde kan örnekleri alındı. EDTA'lı tüplere alınmış olan numuneler -20°C 'ye alınarak *hTERT* gen ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi çalışılması ve saklanması için aynı gün içerisinde Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. EDTA'sız tüplere alınan numuneler önce santrifüje edildi. Daha sonra serum kısmı ependorf tüplere alınarak çalışılacağı güne kadar -80°C 'de saklanmak üzere laboratuvara gönderildi. Analiz günü oda ısısında erimeye bırakıldı.

RNA izolasyonu ve Real-time PZR ile Gen ekspresyon Değişiminin Belirlenmesi

Kandan RNA izolasyonu

Kan örneklerinden elde edilen çekirdekli kan elemanlarından RNA izolasyonu gerçekleştirilip cDNA sentezi yapılmış ve Real-Time PZR ile *hTERT* geninin kontrol grubu ve hasta grupları (stabil KAH ve AKS) arasındaki mRNA düzeyindeki gen ekspresyon değişimi karşılaştırılmıştır. Bu kapsamda öncelikle kandan RNA izolasyon protokolü gerçekleştirilmiştir.

Elde Edilen örneklerden RNA izolasyonu için Trizol ile RNA eldesi işlemi gerçekleştirilmiştir. Gen düzeyinde ekspresyon değerlendirilmesi için çekirdekli kan hücrelerinden RNA izolasyonu Trizol Regant (Ambion) yardımıyla üretici firmanın kit protokolüne göre gerçekleştirmiştir.

- 1- Öncelikli olarak 2ml kandan, RBC Lizis Buffer (89,9 g NH₄Cl; 10 g KHCO₃, 2 ml 0,5 M EDTA) yardımıyla 25000 rpm de 3 kez santrifüj edilerek çekirdeksiz kan hücreleri patlatılıp çekirdekli kan hücreleri olan akyuvarlar izole edilmiş ve 500µl trizol ile çözülüp aşağıdaki Trizol ile RNA izolasyonu protokolü uygulanmıştır.
- 2- Homojenat 1 ml'lik ependorf tüplere alınmış ve oda sıcaklığında 10 dk inkübasyona bırakılmış ve ardından her bir ependorf tüpe 100 µl kloroform eklenip ve iyice pipetlendikten sonra tekrar oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir.
- 3- Daha sonra +4°C'de 15.000 g'de 20 dk santrifüj edilmiş ve renksiz olan üst faz toplanmış, ayrı ependorf tüplere alınmıştır. Toplanan üst fazın üzerine 500 µl izopropanol eklenip, pipetlenecek ve 10 dk oda sıcaklığında beklenmiştir.
- 4- +4°C'de 15.000 g'de 30 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant dikkatlice atılıp peletin üzerine %70'lik etanol konulmuş ve +4°C'de 12.000 g'de 10 dk santrifüj edildikten sonra tekrar süpernatant atılıp, pellet kısa bir süre hava ile kurutulmuştur.
- 5- Son olarak pellet 40 µl RNase-DNase free su ile çözülmüştür.
- 6- Takiben elde edilen RNA'ların miktar ve kalitesi nanodrop cihazı ile tespit edilmiştir. İzole edilen RNA'nın konsantrasyonu ve saflığı

Nanodrop cihazı (Termo) yardımı ile gerçekleştirilmiştir. Nanodrop ile RNA örneklerinin ölçülmesi işleminde öncelikle uygun konsantrasyonlarda (cihazın ölçebileceği RNA konsantrasyon aralığı 2-3000 ng/ μ l'dir) sulandırılan RNA örnekleri, 1 μ l RNase free su ile Nanodrop cihaz kaidesi üzerine bir damla halinde pipetlenip ve bilgisayardaki program analizi ile kör alındıktan sonra, 1 μ l olacak şekilde pipetlenip 230, 260,280 nm'de okunmuştur.

Elde edilen örnekler RT-PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) analizi için cDNA sentezine hazır hale getirilmiştir.

cDNA Sentezi

İzole edilen RNA'lardan, cDNA sentezi Transcriptor High Fidelity cDNA sentez kiti (CatNo: 05 081 955 001) ile oligo d(T) primeri ve Revers Transkriptaz enzimi (RT) kullanılarak üretici firmanın protokolü doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. cDNA sentez karışım prosedürü Tablo 3'de verilmiştir. Karışım hazırlandıktan sonra cDNA sentezi için 50°C'de 1 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda, enzimi inhibe etmek için 85°C'de 5 dakika bekletilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar, RT-PZR yapmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 2. cDNA sentez karışımı

	Hacim	Son konsantrasyon
Total RNA	Değişken	2 μ g
Oligo(dT) Primer	1 μ l	2,5 μ M
dNTP karışımı (10 mM)	1 μ l	500 μ M
5X RT tamponu	4 μ l	1X
DTT	1 μ l	5mM
Protector RNase Inhibitör	0,5 μ l	20 U

Easyscript plus RTase (200U/μL)	1 μl	200 ünite
RNAaz içermeyen su	Değişken	-
Son hacim	20 μl	-

Gerçek Zamanlı (Real-Time) PZR Yöntemi

Gerçek zamanlı PZR, gen ekspresyon ürününün kantitasyonu amacıyla kullanılan hassas moleküler bir metottur. Bu yöntem sayesinde, RNA örnekleri kalitatif ve kantitatif olarak kısa sürede analiz edilebilmekte, çok sayıda örnek son derece düşük kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir. Gerçek zamanlı PZR/RT-PZR’da ürünlerin analizi reaksiyon esnasında yapılmaktadır. Bu nedenle, agaroz jel elektroforezi, PZR ürününün mor ötesi ışık altında görüntülenmesi gibi işlemlerin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Bu çalışmada da 96 kuyucuklu mikropilaya okuyabilen Gerçek Zamanlı PZR sistemi kullanılmıştır.

Step One Plus Real-time PCR System, gerçek zamanlı bir PZR cihaz olup, amplifikasyon ürünlerinin artışı eş zamanlı olarak takip edilebilmektedir. Oldukça hızlı ısıtma ve soğutma kapasitesi sayesinde, tek bir grup için aynı anda 96 gen ekspresyonuna 30–45 PZR döngüsü, yaklaşık olarak bir buçuk saat içinde yapılabilmektedir. Sistemde, SYBR Green metodu kullanılmıştır. SYBR Green boyası çift sarmal DNA’nın küçük girintisine bağlanan ve oldukça uzun süre dayanıklılığını kaybetmeyen bir boyadır (30 amplifikasyon döngüsü sonrası aktivitesinin yalnızca %6’sını kaybeder). Ancak bu çalışmada kullandığımız modifiye edilmiş SYBR Green boyası DNA’nın hem büyük hem de küçük girintisine bağlanmaktadır. Uyarılma ve ışık saçma dalga boyları light cycler’in optik filtre setine uymaktadır. Amplifikasyon öncesi reaksiyon karışımı denatüre edilmiş DNA’yı, primerleri ve boyayı içerir. Bağlanmamış olan boya az miktarda florasan yayarak, daha sonraki bilgisayar analizlerinden çıkartılan, minimum arka fon florasan sinyalini oluşturur. Primerlerin bağlanması ile az sayıdaki boya molekülü çift sarmal DNA’ya bağlanır. DNA’ya bağlanması, SYBR Green moleküllerinin uyarılma sonucu ışık saçmalarını etkili şekilde artmasına neden olur. Uzama aşaması

esnasında çift sarmal DNA oluştuğunda, daha fazla sayıda boya molekülleri bağlanır. Reaksiyon devamlı denetlenerek, florandaki artış eş zamanlı olarak bilgisayar ekranından izlenir. Diğer döngünün ısıtma basamağında DNA denatüre edildiğinde boya molekülleri serbest kalır ve florasan sinyali düşmektedir.

Gerçek-zamanlı PZR işleminde, “*hTERT*” geninin mRNA düzeyindeki gen ekspresyonu değişimi araştırılmıştır. Bu genlere ait forward ve reverse dizileri tablo 3’de özetlenmiştir. Bunun için housekeeping gen olan *Beta-aktin* geni çalışmamızda kullanılmıştır. Reaksiyon aşamasında, her bir kuyucuk başına “5 µl SYBR Green” (Applied Biosystem, USA), “6.5 µl moleküler biyolojik saflıkta su”, “1.5 µl cDNA”, “1 µl Forward Primer” ve “1 µl Reverse Primer” kullanılarak reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan reaksiyon karışımları 96-kuyucuklu plakaya aktarılmış ve plakanın yüzeyi şeffaf yapışkan etiketle kapatılmıştır. StepOne Plus gerçek-zamanlı PZR cihazına yüklenen plaka, 95°C’de 10 dk, 40 döngü olacak şekilde 95°C’de 15 sn ve 60°C’de 10 dk olacak şekilde amplifiye edilmiştir.

Tablo 3. Çalışmamızda kullanılan 2 adet genin forward ve reverse primer dizileri

	GEN İSMİ	PRİMER DİZİ
1	<i>Beta-aktin</i>	F:TCCTCCTGAGCGCAAGTACTC R:CTGCTTGCTGATCCACATCTG
2	<i>hTERT</i>	F:GCCGATTGTGAACATGGACTACG R: GCTCGTAGTTGAGCACGCTGAA

Telomeraz Enzim Aktivitesi Protokolü

Prosedür

- Çalışmaya başlamadan önce **TMT substratı 37 °C de 30 dk** inkübe edildi.
- 1. Plaka 2 defa standart ve örnekler koyulmadan **yıkama tamponu** ile yıkandı.
- 2. **Standartlar** yukarıdaki gibi hazırlandı.
- 3. 0,1 ml Sample/standart Dilution kontrol (zero well) olarak kuyucuklara koyuldu.

4. 0,1 ml **örnek** koyuldu her bir kuyucuğa.
5. Seal yapıştırılarak **37 °C de 90 dk** inkübe edildi.
6. İnkübasyondan sonra seal çıkarılıp içerik uzaklaştırıldı ve iki defa yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
7. Sonra 0,1 ml **biotin etiketli antibody** bütün kuyulara uygulandı.
8. Seal yapıştırılarak **37 °C de 60 dk** inkübe edildi.
9. İnkübasyondan sonra seal uzaklaştırıldı ve **3 defa yıkama** yapıldı. Her yıkamada yıkama solüsyonunun 1dk kuyucukta kalmasına dikkat edildi.
10. 0,1 ml **SABC Working solüsyonundan** her bir kuyucuğa eklendi ve seal yapıştırılarak **37°C de 30 dk** inkübe edildi.
11. İnkübasyondan sonra seal uzaklaştırıldı ve **5 defa yıkama** yapıldı. Her yıkamada yıkama solüsyonunun 1dk kuyucukta kalmasına dikkat edildi.
12. **90 µl TMB Substratı** her bir kuyucuğa eklendi ve karanlıkta **37 °C de 15-30 dk inkübe** edildi. İlk üç dört palaka (en yüksek TERT standart solüsyonları içerenler) maviye dönemeye başladı.
13. **90 µl Stop solüsyonu** her bir kuyucuğa eklendi. Kuyucuklarda renkler sarıya doğru dönmeye başladı.
14. **450 nm Mikropalaka** okuyucu cihazda stop solüsyonu koyulur koyulmaz okuma işlemi gerçekleştirildi.
15. İlgili hesaplama işlemi ve analizi yapıldı.

C. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Yapılan güç analizi sonucunda çalışmaya 210 kişi alındığında, %95 güvenle %90 güç elde edileceği hesaplanmıştır. Veriler SPSS paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Varyans Analizi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanılmıştır. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman ya da Pearson korelasyon analizleriyle ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir. Tüm analizlerde p değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

PCR Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Verilerin analizi $\Delta\Delta CT$ metodu kullanılarak bilgisayar programı ile kantitasyonu yapılmıştır. Web tabanlı “RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis“ programında bulunan, Volcano Plot analizleri kullanıldı. Metodun amacı, iki ekspresyon sonucunun $\pm 3SD$ karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Böylelikle, gen ekspresyonunun karşılaştırılması yapılan durumlarda kontrol ve doz grubu ilgili genlerin ekspresyon değerleri rölatif olarak belirlendi. Grupların karşılaştırılması “RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis” programında bulunan “Student t-testi” analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza %37'si (n:78) AKS, %33,6'sı (n:71) stabil KAH ve %29,4'ü (n:62) kontrol olacak şekilde toplam 211 hasta alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik ve demografik özellikleri Tablo 4'de gösterilmiştir. AKS ve stabil KAH gruplarında erkek hasta sayısı fazla iken, kontrol grubunda kadın hasta daha fazlaydı. AKS hastalarının %73,1'i (57), stabil KAH hastalarının %76,1'i (54) erkekti ve bu iki grupta kadın ve erkek hastalarının dağılım oranları benzerdi. Kontrol grubu hastalarının 40,3'ü (25) erkekti. Kontrol grubundaki bu oran nedeni ile 3 grup arasında cinsiyet dağılımı farklı idi ($p=0,0001$). Hastaların yaş ortalaması AKS grubunda $63,4\pm 6,1$, stabil KAH grubunda $63,4\pm 6,4$, kontrol grubunda $61,7\pm 5,6$ saptandı. Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,2$). Gruplar arasında Beden Kitle İndeksi (BKİ) arasında anlamlı farklılık saptanmadı, AKS grubunda 28,1, stabil KAH grubunda 27, kontrol grubunda 28,5 saptandı ($p=0,128$). AKS hastalarımızda sigara kullanımı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,002$). Alkol kullanımı DM ve HL gibi risk faktörleri açısından gruplar benzer dağılmışlardı. HT sıklığı AKS hastalarında daha düşük oranda saptandı (Bkz. Tablo 4). Tedavide kullanılan ilaçlardan beta blokerler AKS grubunda daha az oranda saptanmış olup, Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri (ACEİ)/Anjiotensin Reseptör Blokerleri (ARB), Kalsiyum kanal blokeri (KKB), statinler tüm hasta gruplarında benzer oranlarda saptandı.

Hastalarımızın biyokimyasal tetkiklerinin değerlendirilmesi Tablo 5'de gösterilmiştir. Hemoglobin, CRP, trigliserid, LDL kan düzeylerinde, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. WBC üç grup arasında anlamlı bir fark göstermiştir. Gruplar arasındaki farklılık, AKS grubu hastalarındaki WBC değerinin diğer iki gruptan daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (Bkz. Tablo 5). Total kolesterol, kreatinin, HDL kan düzeylerinde, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmış olup, bu farklılık kontrol grubunda Total kolesterol, HDL değerinin diğer iki gruptan yüksek olmasından ve kreatinin değerinin düşük olmasından kaynaklanmaktaydı. Plazma Total kolesterol, HDL değerleri, kontrol grubunda, diğer iki gruba göre, daha

yüksek saptanırken; serum kreatinin düzeyleri ise, kontrol grubunda diğer iki gruba göre anlamlı olarak daha düşük saptandı (Tablo 5).

Tablo 4. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik ve demografik özellikleri

	AKS (n:78)	STABİL KAH (n:71)	KONTRO L (n:62)	p	
YAŞ(yıl)	63,4 ± 6,1	63,4± 6,4	61,7± 5,6	0.2	
KADIN (%)	21 (26,9)	17 (23,9)	37 (59,7)	0.0001*	
BKİ (kg/m ²)	28,1 ± 4,2	27,0 ± 4,2	28,5 ± 4,0	0.128	
SİĞARA (%)	29 (37,2)	19 (26,8)	7 (11,3)	0,002*	
ALKOL (%)	3 (3,9)	2 (2,9)	0 (0,0)	0,164	
DM (%)	28 (35,9)	28 (39,4)	18 (29,0)	0,447	
HT (%)	25 (32,1)	37 (52,1)	30 (48,4)	0,032*	
HL (%)	4 (5,1)	2 (3,1)	0 (0,0)	0,094	
İLAÇ KULLANIMI (%)					
	BB	7 (9,0)	26 (36,6)	17 (27,4)	0,0001*
	KK	5 (6,4)	10 (14,1)	10 (16,1)	0,162
	ACE	8 (10,3)	11 (15,5)	7 (11,3)	0,598
	ARB	10 (12,8)	12 (16,9)	11 (17,7)	0,683
	STATİN	3 (3,8)	5 (7,0)	5 (8,1)	0,528

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler sayı (yüzde) şeklinde veya aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

Hastalarda sol ventrikül EF ortalama değeri, AKS grubunda %48,7 iken, stabil KAH hastalarında %57,3 ve kontrol grubunda %59,2 olarak saptandı. Gruplar arasında saptanan istatistiksel olarak anlamlı farklılık, AKS grubu hastalarındaki EF

değerinin, diğer iki gruptan daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır (p=0,0001). LA boyutu ve PAB açısından, üç grup arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların biyokimyasal tetkiklerinin karşılaştırılması

	AKS (n:78)	STABİL KAH (n:71)	KONTROL (n:62)	p
HGB(g/dl)	13,5 ± 1,7	13,5 ± 1,9	13,5 ± 1,3	0.85
WBC (K/uL)	11,6 ± 4,2	8,2 ± 2,4	7,2 ± 2,0	0.0001*
KRE(mg/dl)	0,82 ± 0,21	0,82 ± 0,21	0,72 ± 0,16	0.003*
CRP(mg/dl)	1,76 ± 3,58	1,43 ± 3,47	0,81 ± 1,59	0.237
T.KOLESTEROL(mg /dl)	187,5 ± 40,7	188,8 ± 35,2	207,3 ± 40,2	0.007*
TG(mg /dl)	154,7 ± 99,2	159,4 ± 72,4	159,4 ± 80,1	0.371
HDL(mg /dl)	43,0 ± 13,3	42,0 ± 9,6	49,6 ± 15,4	0.006*
LDL(mg /dl)	114,7 ± 35,4	114,1 ± 27,9	126,2 ± 34,4	0.071

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

Hastalarının anjiyografik sonuçlarının değerlendirilmesi Tablo 7’de verilmektedir. Koroner anjiyografide kritik lezyon (koroner arterlerin en az birinde >%70 darlık) AKS grubunda anlamlı olarak daha fazla idi, bu fark LAD, LCX ve RCA damarlarının tümünde geçerliydi.

Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen hastaların ekokardiyografik bulgularının karşılaştırılması

	AKS (n:78)	STABİL KAH (n:71)	KONTRO L (n:62)	p
EF (%)	48,7 ± 9,4	57,3 ± 6,8	59,2 ± 3,3	0.0001*
LA (mm)	36,5 ± 7,3	37,1 ± 4,3	36,6 ± 5,7	0.399
PAB (mmHg)	10,4 ± 15,5	10,0 ± 13,9	13,3 ± 15,7	0.438

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

Tablo 7. Çalışmaya dahil edilen hastaların anjiyografik sonuçlarının karşılaştırılması

		AKS (n:78)	STABİL KAH (n:71)	KONTRO L (n:62)	p
LAD	<%30 lezyon	16 (20,5%)	18 (25,4%)	62 (100,0%)	0,0001*
	%30-70 lezyon	7 (9,0%)	17 (23,9%)	0 (0,0%)	
	>%70 lezyon	55 (70,5%)	36 (50,7%)	0 (0,0%)	
LCX	<%30 lezyon	32 (41,0%)	37 (52,1%)	62 (100,0%)	0,0001*
	%30-70 lezyon	11 (14,1%)	14 (19,7%)	0 (0,0%)	
	>%70 lezyon	35 (44,9%)	20 (28,2%)	0 (0,0%)	
RCA	<%30 lezyon	30 (38,5%)	42 (59,2%)	62 (100,0%)	0,0001*
	%30-70 lezyon	10 (12,8%)	9 (12,7%)	0 (0,0%)	
	>%70 lezyon	38 (48,7%)	20 (28,2%)	0 (0,0%)	
DiĞER	<%30 lezyon	34 (43,6%)	33 (46,5%)	62 (100,0%)	0,0001*
	%30-70 lezyon	11 (14,1%)	12 (16,9%)	0 (0,0%)	
	>%70 lezyon	33 (42,3%)	26 (36,6%)	0 (0,0%)	

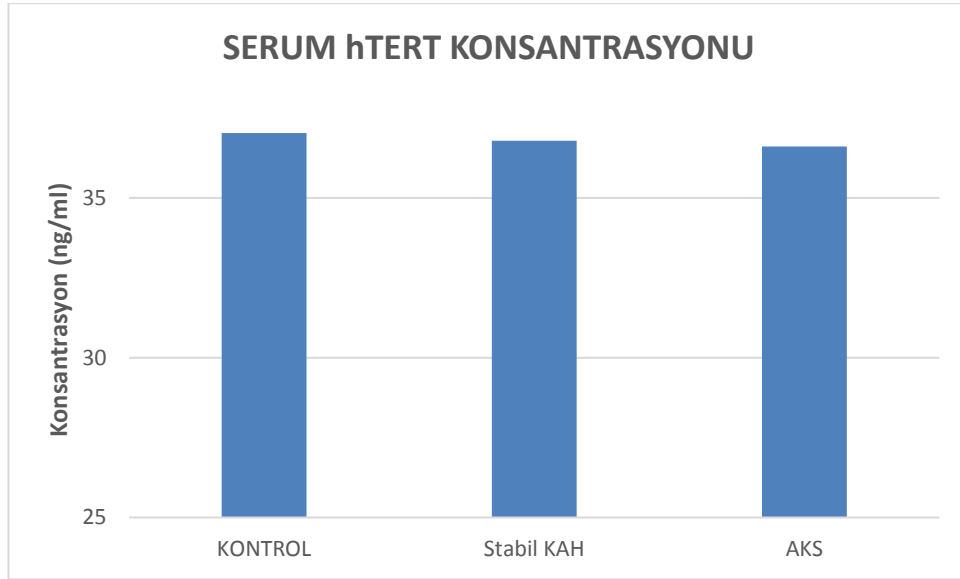
*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler sayı (yüzde) şeklinde ifade edilmiştir.

Serum telomeraz enzim konsantrasyonu anlamlı olmasa da sırasıyla AKS, stabil KAH'da kontrol grubuna göre daha düşük saptandı (Tablo 8).

Tablo 8. Telomeraz enzim konsantrasyonu

	AKS (n:78)	STABİL KAH (n:71)	KONTROL (n:62)	p
Telomeraz Enzim Konsantrasyonu (ng/ml)(a.o ± s.s)	36.61 ± 1.54	36.79 ± 1.57	37.03 ± 2.25	0,890

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir



Şekil 5. Serum telomeraz enzim konsantrasyonu

Telomeraz enzim sentezinde rol alan *hTERT* gen ekspresyonu AKS grubunda kontrol grubuna göre 2,7 kat, stabil KAH grubunda kontrol grubuna göre 2,2 kat daha az saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. *hTERT* gen ekspresyonu

	Kontrol grubuna göre <i>hTERT</i> gen kat değişimi
AKS (n:78)	-2,7064
STABİL KAH (n:71)	-2,2896

Çalışmaya dahil edilen hastaları KAH (n=149) ve kontrol (n=62) grubu olarak da değerlendirmeye aldık. Hastaların klinik ve demografik özellikleri Tablo 10'da gösterilmiştir. KAH grubunda erkek hasta sayısı fazla iken, kontrol grubunda kadın hasta sayısı daha fazlaydı. Hastaların yaş ortalaması KAH grubunda daha yüksek saptandı. KAH grubu hastalarımızda sigara kullanımı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Tablo 10. KAH ve kontrol hastalarının klinik ve demografik özellikleri

	KAH (n:149)	KONTROL (n:62)	p
YAŞ (yıl) (a.o \pm s.s.)	63,4 \pm 6,2	61,7 \pm 5,6	0,049*
KADIN (%)	38 (25,5)	37 (59,7)	0,0001*
ERKEK (%)	111 (74,5)	25 (40,3)	
BKİ (kg/m ²) (a.o \pm s.s.)	27,5 \pm 4,2	28,5 \pm 3,9	0,132
SİGARA (%)	48 (32,2)	7 (11,3)	0,002*
ALKOL (%)	5 (3,4)	0 (0,0)	0,324
DM (%)	56 (37,6)	18 (29,0)	0,236
HT (%)	62 (41,6)	30 (48,4)	0,366
HL (%)	6 (4,2)	0 (0,0)	0,181

İLAÇ KULLANIMI (%)				
	BB	33 (22,1)	17 (27,4)	0,412
	KK	15 (10,1)	10 (16,1)	0,215
	ACE	19 (12,8)	7 (11,3)	0,769
	ARB	22 (14,8)	11 (17,7)	0,588
	STATİN	8 (5,4%)	5 (8,1)	0,532

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler sayı (yüzde) şeklinde veya aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

Hastalarımızın biyokimyasal tetkiklerinin ve ekokardiyografik bulgularının değerlendirilmesi Tablo 11’de gösterilmiştir. WBC, kreatinin değerleri, KAH grubunda, kontrol grubuna göre, daha yüksek saptanırken; total kolesterol, HDL, LDL, EF düzeyleri ise, kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı.

Tablo 11. KAH ve kontrol hastalarının biyokimyasal tetkiklerinin ve ekokardiyografik bulgularının karşılaştırılması

	KAH (n:149)	KONTROL (n:62)	p
HGB(g/dl)	13,5 ± 1,8	13,5 ± 1,3	0.958
WBC (K/uL)	10,0 ± 3,8	7,2 ± 2,0	0.0001*
KRE(mg/dl)	0,82 ± 0,21	0,72 ± 0,16	0.001*
CRP(mg/dl)	1,61 ± 3,52	0,81 ± 1,59	0.539
T.KOLESTEROL(mg /dl)	188,1 ± 38,1	207,3 ± 40,2	0.003*
TG(mg /dl)	156,9 ± 87,4	159,4 ± 80,1	0.643
HDL(mg /dl)	42,5 ± 11,7	49,6 ± 15,4	0.001*
LDL(mg /dl)	114,5 ± 32,0	126,2 ± 34,4	0.034*
	52,8 ± 9,3	59,2 ± 3,3	0.0001*

EF (%)			
LA (mm)	36,8 ± 6,0	36,6 ± 5,9	0.19
PAB (mmHg)	10,2 ± 14,7	13,3 ± 15,7	0.209

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

KAH grubunda kontrol grubuna göre serum telomeraz enzim konsantrasyonu daha düşük saptandı (Tablo 12).

Tablo 12. Telomeraz enzim konsantrasyonu

	KAH (n:149)	KONTROL (n:62)	p
Konsantrasyon (ng/ml) (a.o ± s.s.)	36.69 ± 1.55	37.03 ± 2.25	0,974

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

hTERT gen ekspresyonu KAH grubunda kontrol grubuna göre 1,5 kat daha az saptandı (Tablo 13).

Tablo 13. *hTERT* gen ekspresyonu

	Kontrol grubuna göre <i>hTERT</i> gen kat değişimi
KAH	-1,5631

Çalışmaya dahil edilen AKS hastaları, kendi içinde NSTEMI-AKS ve STEMI hastaları olarak değerlendirmeye alınmış olup, hastaların klinik ve demografik özellikleri Tablo 14’de, biyokimyasal tetkiklerinin ve ekokardiyografik bulgularının değerlendirilmesi Tablo 15’de gösterilmiştir. BMI, WBC, total kolesterol, EF NSTEMI-AKS grubunda, STEMI grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek saptandı.

Tablo 14. NSTEMI-AKS ve STEMI hastalarının klinik ve demografik özellikleri

	NSTEMI-AKS (n:35)	STEMI (n:43)	p	
YAŞ(yıl)	64,4 ± 5,8	62,5 ± 6,2	0,206	
KADIN (%)	12 (34,3)	9 (20,9)	0,186	
ERKEK (%)	23 (65,7)	34 (79,1)		
BKİ (kg/m ²)	29,0 ± 3,9	27,3 ± 4,3	0,031*	
SİĞARA (%)	10 (28,6)	19 (44,2)	0,156	
ALKOL (%)	2 (5,9)	1 (2,3)	0,580	
DM (%)	13 (37,1)	15 (34,9)	0,836	
HT (%)	14 (40,0)	11 (25,6)	0,175	
HL (%)	3 (8,6)	1 (2,3)	0,321	
İLAÇ KULLANIMI (%)				
	BB	1 (2,9)	6 (14,0)	0,122
	KK	2 (5,7)	3 (7,0)	1,000
	ACE	6 (17,1)	2 (4,7)	0,130
	ARB	7 (20,0)	3 (7,0)	0,103
	STATİN	3 (8,6)	0 (0,0)	0,086

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler sayı (yüzde) şeklinde veya aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

Tablo 15. NSTE-AKS ve STEMI hastalarının biyokimyasal tetkiklerinin ve ekokardiyografik bulgularının karşılaştırılması

	NSTE-AKS (n:35)	STEMI (n:43)	p
HGB(g/dl)	13,6 ± 1,7	13,5 ± 1,7	0,553
WBC (K/uL)	10,2 ± 3	12,7 ± 4,7	0,016*
KRE(mg/dl)	0,82 ± 0,23	0,82 ± 0,2	0,674
CRP(mg/dl)	1,06 ± 1,92	2,33 ± 4,44	0,533
T.KOLESTEROL(mg /dl)	197,5 ± 38,7	179,2 ± 40,9	0,018*
TG(mg /dl)	165,9 ± 94,5	145,4 ± 103,1	0,203
HDL(mg /dl)	45,0 ± 14,65	41,4 ± 12,1	0,390
LDL(mg /dl)	120,8 ± 31,9	109,7 ± 37,6	0,156
EF (%)	53,2 ± 7,1	45,1 ± 9,5	0,0001*
LA (mm)	36,0 ± 9,8	37,0 ± 4,3	0,420
PAB (mmHg)	7,4 ± 14,0	12,9 ± 16,5	0,128

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

STEMI grubunda NSTE-AKS grubuna göre serum telomeraz enzim konsantrasyonu daha düşük saptandı (Tablo 16).

Tablo 16. Telomeraz enzim konsantrasyonu

	NSTE-AKS (n:35)	STEMI (n:43)	p
Konsantrasyon (ng/ml)(a.o ± s.s)	36.72 ± 1.71	36.51 ± 1.41	0,823

*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık; Tanımlayıcı bilgiler aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir

Cinsiyete, DM varlığına, sigara kullanımına ve yaş gruplarına göre yapılan telomeraz enzim konsantrasyonu ölçümlerinde anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 17).

Tablo 17. Telomeraz enzim konsantrasyonu

		Konsantrasyon (ng/ml) (a.o \pm s.s.)	p
Cinsiyet	Kadın(n=75)	36.75 \pm 1.8	0,669
	Erkek (n=136)	36.83 \pm 1.81	
DM	(+) (n=67)	36.97 \pm 1.94	0,711
	(-) (n=125)	36.71 \pm 1.73	
Sigara	(+) (n=46)	36.73 \pm 1.98	0.412
	(-) (n=146)	36.82 \pm 1.75	
Yaş	56 - 65 yaş (n=124)	36.8 \pm 1.77	0.968
	66 - 75 yaş (n=68)	36.79 \pm 1.87	

Ayrıca yapılan analizlerde AKS, stabil KAH ve kontrol grubunda telomeraz enzim konsantrasyonu ile CRP, BKİ ve LDL arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

5. TARTIŞMA

Telomerler, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık için başlıca risk faktörü olan yaşla kısalır. Yetişkinlerde her yıl yaklaşık 30 baz telomer kısalması olur (99,100). Aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı olanlarda daha kısa telomerlerin gözlenmiş olması, kritik telomer kısalmasının ve telomeraz aktivitesinin azalmasının erken biyolojik yaşlanmaya ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalığa katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda koroner anjiyografi yapılan hastalarda, periferel kandan *hTERT* gen ekspresyonu ve telomeraz enzim aktivitesi değerlendirilip, normal koroner arterleri olan bireyler ile koroner arter hastalığı olanlar arasındaki farklar değerlendirilmiştir.

Literatürde telomer kısalığı ve KAH ilişkisini gösteren bir çok çalışma vardır. Minamino ve arkadaşları ateroskleroz lezyonlarında yaşlanmış endotel hücrelerinin bulunduğunu bildirmiştir (101). Ayrıca aterosklerotik lezyonlarda kısa telomer aracılı yaşlanma terimini tanımlamışlardır. Bu tanımlamayla telomer kısalması ve KAH arasında nedensel bir bağlantıyı desteklemişlerdir (102). Samani ve ark. KAH hastalarında daha kısa telomerler tespit etmişlerdir (103). Sonraki çalışmalarda daha kısa telomerlerle daha yüksek kardiyovasküler mortalite arasında ilişki gösterilmiştir (104). Ogami ve arkadaşları da aynı şekilde koroner arter hastalığı olan aterosklerotik koroner endotel hücrelerinin koroner arter hastalığı olmayan hastalara göre daha kısa telomerleri olduğunu bulmuşlar (105). Yine Zhu ve arkadaşlarının yaptığı büyük Avrupa çalışmasında lökosit telomer kısalığı ve artan koroner arter hastalığı riski arasında nedensel ilişki bulmuşlardır. Cawthon ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada 143 kişinin DNA örneklerinde telomer boyu ölçülmüş, daha kısa telomere sahip olanların 3 kat daha yüksek kalp hastalıklarından ölüm oranına ve 8 kat daha yüksek enfeksiyon hastalıklarından ölüm oranına sahip oldukları tespit edilmiştir (106). Bunların dışında, 24 çalışmanın metaanalizinde daha kısa telomerlerle uzun telomerlerin karşılaştırılmasında KAH riski artmış bulunmuştur (107). Başka bir meta analizde kısa lökosit telomeri ile artmış stroke ve miyokardiyal infarktüs ilişkisi bulunmuştur (108). Bu bulgular kalıtsal olarak kısa

telomer taşıyan bireylerde yüksek kardiyovasküler risklerin gösterilmesi ile desteklenmiştir (109,110). Artmış KVH riski insülin mekanizması üzerinden etkili olabilir ya da oksidatif stres ve inflamasyon telomer kısalmasını artırmaktadır (110). Telomer kısalması aterogenezde ve kardiyovasküler sistemdeki onarım mekanizmaları üzerinde zararlı etkilere yol açmaktadır (111). Bu çalışmalar telomer kısalmasının indüklediği endotel hücresi disfonksiyonu ve replikatif yaşlanmasının koroner aterogenezde kritik rol oynadığını destekler. Bizim çalışmamızda telomer uzunluğunun dolaylı göstergesi olan serum telomeraz enzim aktivitesini gösteren, telomeraz enzim konsantrasyonu ile *hTERT* gen ekspresyonu ölçümü yapılmıştır. Çalışmamızda KAH hastalarında telomeraz enzim konsantrasyonları ve *hTERT* gen ekspresyonu düşük saptanmıştır.

Telomer uzunluğu yerine, telomeraz enzim konsantrasyonu ölçümü klinik kullanıma daha uygun bir yöntemdir. Çünkü telomer uzunluğunu quantitative PCR tekniği ile değerlendirmek klinik olarak pratik bir yaklaşım olmaktan uzaktır ve maliyet-etkin değildir. Telomeraz katalitik serum revers transkriptaz aktivitesi olan, telomerin sentezinden ve uzamasından sorumlu enzimdir (112). Başka bir deyişle telomeraz telomer uzunluğunun korunmasını ve stabil kalmasını sağlar (73). Telomeraz enzimi RNA'dan DNA sentezlenmesinde katalitik görev yapan bir protein (*hTERT*), telomer uzamasında kalıp görevi yapan RNA alt birimi (TERC) ve türe özgü yardımcı proteinlerden oluşur. *hTERT*, enzimin aktivitesini belirleyen hız kısıtlayıcı basamaktır. *hTERT* indüksiyonu eş zamanlı telomeraz aktivasyonunu gösterir. Reverse transkriptaz (*hTERT*) seviyesi telomeraz aktivitesini kalitatif ve kantitatif olarak ölçmek için kullanılır. Bu sebeple çalışmamızda telomeraz enzim konsantrasyonunun yanısıra, telomeraz enzim aktivitesi göstergesi olarak *hTERT* gen ekspresyonu da değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar *hTERT* ve telomeraz aktivitesi arasında güçlü bir korelasyonun varlığını göstermiştir (113).

Çalışmamızda serum telomeraz enzim konsantrasyonu sırasıyla AKS, stabil KAH grubunda, kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Literatürdeki çoğu çalışma ile uyumlu olarak telomeraz enzim aktivasyonu koroner arter hastalığı grubunda azalmış saptanmıştır. Fakat bu sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Ayrıca çalışmamızda *hTERT* gen ekspresyonu AKS grubunda

kontrol grubuna kıyasla 2,7 kat daha az, stabil KAH grubunda kontrol grubuna kıyasla 2,2 kat daha az saptandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı olup, literatürdeki diğer bir çok çalışma ile uyumludur.

Literatürde koroner arter hastalığında telomer kısalığının değerlendirildiği çalışmalar dışında *hTERT* ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi bakılan çalışmalar da vardır. İnsanlarda aterosklerotik plaklarda, özellikle çoğalan hücrelerde lezyonların erken dönemlerinde artmış telomeraz aktivitesi bulunmuştur. Neointimal makrofajlarda da telomeraz aktivitesi artmış bulundu (114). Telomeraz LDL reseptör eksikliği olan farelerde ateroskleroz gelişimi sırasında aktive edilir (114). Ateroskleroz hem apolipoprotein E hem de TERC eksikliği olan farelerde daha zayıf görülür. Bunlarda kısa telomerler vardır. Muhtemelen hematopoietik hücre proliferasyonunun bozulmasına bağlı ateroskleroz lezyonu gelişmiyor (115). Fare çalışmaları insanlara aktarılmassa da bu veriler aterosklerozda telomeraz aktivitesinin önemini göstermektedir. Liu ve arkadaşları 2005 yılında aterosklerotik insan epikardiyal koroner arterlerinde telomeraz ekspresyonunu araştırmışlardır. Aterosklerotik dokuların %88'inde insan telomeraz ters transkriptazı (*hTERT*), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında beş kat daha yüksek bir frekansta eksprese edilmiştir. Ayrıca *hTERT* ekspresyonunun aterosklerotik derecenin şiddeti ile korelasyonunun olduğu belirtilmiştir ($p < 0,001$). Bir başka çalışmada UAP'lı hastaların koroner aterosklerotik plaklarından izole edilen nötrofillerde telomeraz aktivitesin arttığı gösterilmiştir (116). Aterosklerotik hastalık sürecinde makrofajlar dahil tüm hücre tiplerinde TERT eksprese edilir (117,118). Telomeraz ateroskleroz gelişimi sırasında aktive edilir. Bu aktivasyonun altında yatan neden bilinmemektedir. Telomeraz ateroskleroz gelişiminin altında yatan inflamatuvar yeniden şekillenme sırasında aktive edilir. Florence ve ark. yaptığı çalışmada aterosklerotik lezyonların makrofajlarında TERT'in eksprese ve telomerazın aktive edildiği bulunmuştur. Aterosklerotik lezyonların makrofajlarında yüksek TERT seviyeleri tespit etmişlerdir. Bu bulgular Matthews ve arkadaşları tarafından yayınlanan lezyon makrofajlarında TERT ekspresyonunun kolayca tespit edildiği bilgisi ile uyumludur (119). Benzer şekilde Narducci ve diğerleri UAP olan hastaların plaklarından izole edilen nötrofillerde yüksek telomeraz aktivitesi saptanmıştır (116). Aksine endotel hücreleri ve fibröz kapsülün düz kas hücreleri

düşük TERT seviyeleri eksprese eder. Bizim çalışmamızda *hTERT* gen ekspresyonu ve telomeraz aktivitesi kandaki lökositlerden bakılmış olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KAH grubunda daha düşük saptanmıştır. Koroner arter hastalığında farklı dokulardaki hücre gruplarının telomeraz aktiviteleri arasında farklılıklar vardır.

Benetos ve ark. aterosklerozda hem iskelet kasındaki hem de lökositte telomer uzunluğunu değerlendirmişlerdir. İlginç bir şekilde lökosit telomer uzunluğu ile ateroskleroz arasında ilişki bulmuşken fakat kas telomer uzunluğu ile ilişki bulmadılar. Lökosit ve kas telomer uzunluğunun arasındaki farkın nedeni yaşamın erken yıllarında lökosit telomerinin daha hızlı yıpranmasıdır (120). Bu da lökosit telomer uzunluğunun aterosklerozla daha güçlü ilişkisini göstermektedir (121). Yazarlar yaşamın erken yıllarında kan hücresindeki telomerlerin kısalmasına neden olan faktörlerin aterosklerotik KVH'ya neden olabileceğini belirtmiştir (kısa yada uzun telomer kalıtımının yerine) (121). Benetos ve ark. erken yaşamda lökosit telomer kısalmasının bir KAH risk faktörü olduğunu, kalıtılan kısa telomerlerin risk faktörü olmadığını gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada, telomeraz in vitro VSMC (Vasküler düz kas hücresi) çoğalmasının önemli bir düzenleyicisi olarak görülmüştür. Çünkü TERT aktivasyonu VSMC'lerin ömrünü uzatır (122–124). VSMC çoğalmasının düzenlenmesi telomer uzunluğundan bağımsız olarak telomeraz aktivitesine bağlıdır. Çünkü VSMC büyümesi telomeraz inhibisyonu sonrası erken dönemde durmaktadır (124,125) ve telomeraz aktivasyonu tek başına kısa telomerlere rağmen VSMC'lerin yaşlanmasını kurtarır (126). Telomerazın rolü VSMC büyümesinin kontrolünde gösterilmiştir. Telomeraz aktivasyonu ve telomeraz düzenlenmesi HT olan sıçanlarda VSMC hiperplastik büyümesindeki artış için kritiktir (127). Gupta ve arkadaşları telomeraz aktivitesi ve restenoz (128) arasında ilişki olduğunu bildirdi. Restenoz aşırı VSMC profilerasyonu ile karakterize bir durumdur (129,130). Tam tersine Matthews ve arkadaşları plak VSMC'lerinde düşük telomeraz aktivitesi seviyeleri ve daha kısa telomerler bulmuşlardır (126). Buradaki çalışmalarda da anlaşılacağı üzere telomer uzunluğundan bağımsız olarak telomeraz aktivitesi görülebilmektedir. Kısa telomer ve düşük telomeraz ya da düşük *hTERT* gen ekspresyonu birlikteliğinin her koşulda geçerli olmayacağını düşündürmektedir.

Telomer uzunluğunun ilişkili olduğu başka klinik durumlar da vardır. Daha kısa telomer erkeklerde yüksek nabız basıncı ve nabız dalga hızı ile ilişkili bulunmuştur (131). Ayrıca DM ve obez insanların lökositlerinde daha yüksek telomer kısalma oranları çalışmalarda ortaya konmuştur (132). TERC eksikliği olan olan farelerde erken yaşlanma belirtileri ve infertilite, alopesi, kalp disfonksiyonları, HT, doku rejenerasyonunda azalma gibi yaşlanma ilişkili bozukluklar görülmüştür (133–140). Bu bulgular, farelerde doku hemostazını sağlamak için minimal telomer uzunluğu gerektiğini ve telomer kısalmasının yaşa bağlı hastalıkların patogenezinde yer alabileceğini göstermiştir. Dyskeratosis congenita, werner syndrome ya da ataksi telanjektazi gibi bazı erken yaşlanma sendromlarında telomer aktivitesi bozulur veya telomer kısalması hızlanır (141–143). Daha yeni çalışmalarda gebelikteki anne stresi, sigara içiciliği, folik asit ve preeklampsi gibi intrauterin etkileri olan çevresel faktörler yenidoğan bebeklerin telomer uzunluğunu etkilemekte olduğu gösterildi (144). Plasenta ve kord kanı telomer uzunluğu gebelik öncesi anne vücut kitle indeksi ile ters ilişkili bulunmuştur (145). Bu bulgular uterin yaşamdaki etkilerin telomer uzunluğunu etkilemesiyle ileriki yaşamda KAH gelişimine aracılık edebileceğini göstermiştir. Bizim çalışmamızın alt grup analizimizde DM olan ve sigara kullanan gruplarda telomeraz enzimleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bunun nedeni diğer risk faktörleri açısından gruplar arası dengeli bir dağılımın olmaması olabilir.

Yine bizim çalışmamıza benzer şekilde, sağlıklı 62 kadında yapılan bir çalışmada düşük PBMC (Periferik mononükleer kan hücresi) telomeraz aktivitesinin artmış kardiyovasküler risk faktörleri ile ilişkili olduğu ve düşük PBMC telomeraz aktivitesinin kardiyovasküler hastalıkların erken belirteci olabileceği bildirilmiştir (146). Pozitif yaşam tarzı değişikliklerinin telomer/telomeraz yıpranması ile ilişkili hücresel yaşlanma sürecine faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir (147). Farzaneh-Far ve arkadaşları, stabil koroner arter hastalığı olan ve kanda omega-3 yağ asidi düzeyi düşük olanlarda, 5 yıllık takipte telomer kısalmasının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (148). Rentoukas ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada metabolik sendromlu hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre periferik kan mononükleer hücrelerinde telomeraz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (149). 2014 yılında yayınlanan başka bir çalışmada vücut kitle indeksindeki artışla, adiposit ve lökosit

hücre DNA'larındaki telomer uzunluğunun negatif korelasyonu gösterilmiştir (150). Fakat biz çalışmamızda AKS, stabil KAH, kontrol grubu hastalarında BKİ ile telomeraz enzim konsantrasyonu arasında anlamlı korelasyon saptayamadık. Periferik kan mononükleer hücrelerinde telomeraz aktivitesinin okside LDL-C ile ters korele olduğu bildirilmiştir (151). Statin tedavisinin yüksek telomeraz aktivitesi ve uzun telomer boyu ile ilişkili olduğu ve bunun yaş, lipid düzeyleri ve inflamasyondan bağımsız olduğu bildirilmiştir (152). Bizim çalışmamızda AKS, stabil KAH, kontrol grubu hastalarında LDL düzeyleri ile telomeraz enzim konsantrasyonunu arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. ACEİ'lerinin endotel fonksiyonlarını iyileştirdiği, endotel hücrelerindeki replikatif yaşlanmayı geciktirdiği ve endotel hücrelerinde TERT mRNA ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (153). Çalışmamızda KAH hastaları arasında ACEİ/ARB kullanımının düşük olması nedeni ile telomeraz enzim konsantrasyonu ile ilişkisi değerlendirilemedi.

Bunlara ek olarak, lökosit telomer uzunluğu oksidatif stres ve iltihaplanma ile ilişkilidir (154). Kardiyovasküler riskle ilişkili sistemik oksidatif stres ve iltihap telomer kısalmasını hızlandırabilir. Bu nedenle aşınma oranı hipotezi yetişkinlerde telomer kısalmasının kalıtsal telomer uzunluğundan daha önemli olduğunu gösterir (155). Oksidatif stres ve inflamasyon somatik hücrelerde telomer kısalması yapar (156). Kan hücrelerindeki telomer kısalması vasküler dokuya yansiyacaktır. Telomer kısalması klinik KAH biyomarkeri olarak kullanılabilir. Ancak yetişkin lökositlerdeki yıpranma varyasyonu kalıtsal telomer uzunluğu ile karşılaştırıldığında çok düşük bulundu (157). Genetik araştırmalar, daha kısa telomerlerden sorumlu alelleri yüksek KVH riski ile ilişkili bulmuştur (158–160). Bu şekildeki nedensel etki büyük olasılıkla aterosklerozun başında harekete geçmez. Zaten mevcut var olan aterosklerozun yetersiz veya kusurlu onarımı ile ilgili olabilir. Ayrıca ,bir çalışmada (yaklaşık 300000 katılımcı ile) genetik olarak belirlenmiş telomer uzunluğunun KVH ilişkisi doğrudan ölçülen telomer uzunluğuna göre daha belirgindir (159). Telomer uzunluğu büyük ölçüde kalıtsal olduğu için bu çalışmalar kısa telomer kalıtımı olan bireylerin KAH'a daha yatkın olduğu görüşünü desteklekte olup, lökosit telomer uzunluğunu KAH için klinik bir risk faktörü olarak kullanmayı düşündürmektedir.

Telomer uzunluğunun korunmasını ve stabil kalmasını telomeraz enzimi sağlar (73). Son zamanlarda telomerazın telomer boyunu uzatmak dışında oksidatif stres, DNA tamiri ve apoptozis gibi çok sayıda hücresele olayla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (161,162). Telomeraz aktivitesindeki artış sadece telomerleri etkilemez. Aynı zamanda sağlıklı hücre fonksiyonlarını ve uzun dönem bağışıklık fonksiyonlarını korur (163,164). Hayvan çalışmalarında telomeraz eksikliğinin artmış kardiyovasküler hastalık riski (165–168), bozulmuş glukoz metabolizması ve insülin sekresyonu (169) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca telomeraz enzimi ve bağışıklık sistemi arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Olgun CD 4 ve CD 8 T hücrelerinde antijenik uyarım sonrası telomeraz aktivitesi uyarılır (170,171). Benzer şekilde dendritik hücrelerin maturasyonu sonrası telomeraz reaktifte edilir (172). Bağışıklık yanıtı sırasında telomeraz aktivasyonu immün sistem hücrelerinin işlevlerini artırabilir (173,174). Benzer şekilde Florence ve ark. yaptığı çalışmada enflamatuvar sürecin makrofajlarda telomeraz revers transkriptaz (TERT) ekspresyonunu indükleyerek telomerazı aktive ettiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda AKS, stabil KAH, kontrol grubu hastalarında CRP düzeyleriyle telomeraz konsantrasyonu arasında ilişki bulunamamıştır.

Telomer uzunluğu aynı yaştaki bireyler arasında değişkenlik gösterebilmektedir (32,175–178). İkizler üzerindeki çalışmalar bu bireyler arası değişkenliğin genetik faktörlere bağlı olabileceğini düşündürmektedir (177,179). Nawrot ve arkadaşları telomer uzunluğunun kalıtımının x kromozonuna bağlı olduğu sonucuna varmıştır (180). Örneğin Okuda ve arkadaşları yenidoğan kız ve erkeklerin karşılaştırmasında telomer uzunluğunda fark saptamamıştır (175). Ama yetişkinler arası karşılaştırmada kadınlarda erkeklere göre yüksek telomeraz aktivitesi (181) ve daha uzun telomer uzunluğu saptanmıştır (182–184). Bu cinsiyete bağlı uzunluk farkı östrojene bağlı olabilir. Ancak çevresel faktörlerde telomer uzunluğunun belirlenmesinde önemli olabilir. Baba yaşı ile çocuğun telomer uzunluğu arasında pozitif ilişki bulunmuştur (185,186). Bu büyük olasılıkla daha yaşı babalarda sperm hücrelerinin telomer uzunluğundaki artma nedeniyledir (187). Daha yaşı babaların çocukları düşük kardiyovasküler riske sahiptir. Daha önce yapılmış bir çok çalışmada telomer uzunluğu ile yaş arasında negatif korelasyon gösterilmiştir (188). Fakat bizim çalışmamızda yaş grupları (55-65 65-75 yaş) arasında belirgin farklılık

olmadığı için telomeraz açısından da anlamlı farklılık saptanmadı. Ayrıca cinsiyetler arası da telomeraz açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Her ne kadar çalışmalar kısa telomer ile kardiyovasküler risk arasında bağımsız bir ilişki olduğunu gösterse de etki büyüklüğü sınırlıdır (189,190). Yakın zamanda, lökosit telomer kısalması ve ateroskleroz arasındaki ilişkinin yetersizliği küçük bir çalışmada gösterildi (191). Daha spesifik olarak telomer uzunluğunun kardiyovasküler hastalığın başlangıcını belirleyebileceği düşünülüyordu. Ancak 10 yıllık süren bir çalışma KAH ile telomerin zayıf ilişkisini göstermiştir. Dahası hayvan çalışmaları telomeraz aktivitesi, telomer kısalması ve ateroskleroz gelişimi arasında karmaşık bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu da nedensel bir ilişki olup olmadığı noktasında şüpheye neden oluyor. KAH'daki bu neden sonuç karmaşasının yanında telomerlerin koroner arter hastalığı risk faktörleri ile olan ilişkisi belirgindir. Ayrıca DKC'de (Dyskeratosis congenita) telomer uzunluğu lökositlerde ve kaslarda kısadır. Eğer ateroskleroz kalıtsal kısa telomerlerden kaynaklanacaksa, KAH hastalarına DKC benzeri semptomlarda eşlik etmeliydi. Bu ve yeni çalışmalar kalıtsal kısa telomerlerin aterosklerozun bir nedeni olamayacağını gösterdi (121) ve alternatif hipotezler öne sürüldü.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Bunlardan ilki gruplar arası cinsiyet dağılımının farklılık göstermesi olup AKS ve stabil KAH gruplarında erkek sayısı fazla iken, kontrol grubunda kadın çoğunlukta idi. Çalışmalarda yetişkinler arası karşılaştırmada kadınlarda erkeklere göre yüksek telomeraz aktivitesi (181) ve daha uzun telomer uzunluğu saptanmıştır (182,184). Bu durum AKS ve stabil KAH gruplarında düşük saptadığımız telomeraz aktivitesine katkı sağlamış olabilir. İkincisi gruplar arasında sigara kullanımı ve HT açısından anlamlı farklılık vardı. AKS grubunda yüksek sigara kullanım oranları bu gruptaki hastaların telomeraz enzim ve *hTERT* gen ekspresyon düzeylerini etkilemiş ve bu durum çalışma sonuçlarına doğrudan etki etmiş olabilir. Yapılan çalışmalarda sigara, yaşlanmaya bağlı hastalıklarda önemli bir risk faktörüdür ve telomerin kısalmasını artırmaktadır (92). HT sıklığı AKS hastalarında daha düşük oranda saptanması da aynı şekilde sonuçları etkilemiş olabilir. Hipertansiyonun başlangıç aşamasında, erken telomeraz aktivasyonu görülebilir. Daha sonra, inflamasyon, oksidatif stres ve insülin direnci

gibi etkenler hücre senesensine yol açarak telomeraz aktivitesinde azalmaya yol açabilirler. Telomer uzunluğu ile diyastolik kan basıncı arasında pozitif bir korelasyon, sistolik kan basıncı ve nabız basıncı arasında ise negatif korelasyon olduğu bulunmuştur. Erkeklerde kısa telomerlerin artmış nabız basıncı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Kısa telomer ve hipertansiyon arasında ilişki bildirilmiştir (192).

Yetişkinlerde telomer uzunluğu ve telomer yıpranma oranı bireyin farklı dokularında benzerlik göstermektedir (193). Bu nedenle telomer uzunluğu epidemiyolojik çalışmalarda, sistemik telomer uzunluğu ölçümü için kolay bir seçenek olması sebebi ile kandaki lökosit veya tek çekirdekli hücrelerde ölçülmüştür. Bizde çalışmamızda telomeraz aktivitesi olarak, telomeraz enzim konsantrasyonu ve telomerazın alt subuniti olan *hTERT* gen ekspresyonuna kandaki lökositlerden baktık. Ancak bazı çalışmalarda lökosit telomer uzunluğu diğer dokulardan daha kısa saptanmıştır. Muhtemelen bunun nedeni erken yaşamdaki yüksek hematopoetik kök hücre proliferasyon oranlarıdır (120,156). Telomeraz aktivitesi nispi telomer uzunluğu ile ilişkili olup çalışma sonuçlarımızdaki telomeraz enzim aktivitesindeki azalma bu nedenden etkilenmiş olabilir.

Sonuç olarak AKS, stabil KAH, kontrol grubu olmak üzere 211 hastada yaptığımız çalışmada KAH tanısını öngörmeye lökosit telomeraz aktivitesinin önemli bir serum belirteci olabileceğini düşünmekteyiz. Serum lökosit telomeraz aktivitesinin KAH tanısında yerininin desteklenmesi için daha büyük hasta gruplarının dâhil edildiği çalışmalara gerek vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997;349(9064):1498–504.
2. WHO Fact sheet N8310, updated June 2011, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>.
3. Onat A, Dursunoglu D, Kahraman G, Ökçün B, Dönmez K, İbrahim KELEŞ U, et al. Türk Kardiyol Dern Türk Erişkinlerinde Ölüm ve Koroner Olaylar: TEKHARF Çalışması Kohortunun 5-yıllık Takibi.
4. Crawford MH, DiMarco JP. Crawford Kardiyoloji. Editör: Dursun AN, 1. Baskı, AND Yayıncılık, İstanbul, 2003; 2-14.
5. Drouet L. Atherothrombosis as a systemic disease. *Cerebrovasc Dis*. 2002;13(1):1–6.
6. Libby P. The Pathogenesis of Atherosclerosis. In Braunwald E et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th Edition, New York ,McGraw Hill 2005:1425- 27.
7. Hamm CW, Möllmann, H, Bassand JP, Van de Werf F. Acute Coronary Syndrom. In: Camm AJ, Lücher TF, Serruys PW,editors. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*. 2nd ed.New York: Oxford Universty Press. Vol. 1. 2009. 535-97 p.
8. Bazzano LA, He J, Muntner P, Vupputuri S, Whelton PK. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med* 2003;138(11):891-7.
9. Gordon T, Kannel WB, McGee D, Dawber TR. Death and coronary attacks in men after giving up cigarette smoking: A report from the Framingham study. *Lancet*. 1974;2(7893):1345–8.
10. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, et al. Effect of

exercise on coronary endotelial function in patients with coronary artery disease. N Engl J Med. 2000;342(7):454–60.

11. TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı. Altan Onat, Vedat Sansoy, İnan Soydan, Lale Tokgözoğlu, Kamil Adalet. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. Temmuz 2003, İstanbul.
12. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard B V, et al. Diabetes and cardiovascular disease: statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation. 1999;100(10):1134–46.
13. American Diabetes association. Consensus development conference on the diagnosis of coronary heart diseases in people with diabetes. Diabetes Care. 1998;21(9):1551–9.
14. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Med. 1998;339(4):229–34.
15. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection. Circulation. 2002;106(25):3143–421.
16. Fuller J.H Coronary., Shipley M.J., Rose G. et al.: heart disease risk and impaired glucose tolerance: The white hall study. Lancet. 1980. p. 1374–6.
17. Dörtlemez Ö. Akut miyokard infarktüsü risk faktörleri, etyopatogenez, epidemiyoloji. Kardiyoloji günleri 5. Eğitim toplantısı der. 1997; 4-18.
18. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GVH, Parving H-H, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med. 2003 Jan;348(5):383–93.

19. Gerstein HC, Yusuf S. Dysglycaemia and risk of cardiovascular disease. *Lancet*. 1996;347(9006):949–50.
20. Laakso M. Laakso M Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;48(5):937–42.
21. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. Dieting and the development of eating disorders in overweight and obese adults. *Arch Int Med* 2000;160: 2581-89.
22. Onat A, Şenocak M. Obesity in Turkish adults: prevalence, validity as a coronary risk factor and interrelation with other risk factors. *Int J Ang* 1995; 4: 94-8.
23. Mannien V, Huttunen JK, Heinonen OP, Tenkanen L, Frick MH. Relation between baseline lipid and lipoprotein values and the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Am J Cardiol* 1989; 63: 42-47.
24. Gordon DJ, Probsfelt JL, Garrison JW, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: Four perspective American Studies. *Circulation* 1989;79: 8-15.
25. Brewer HB. Increasing HDL Cholesterol Levels. *N Engl J Med*. 2004;350(15):1491–4.
26. Ridker PM, Libby P. Risk Factors for Atherothrombotic Disease. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease. 7 th Edition. Elsevier Saunders. 2005;36: 939-959.
27. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003;107(3):363–9.
28. Albert CM, Ma J, Rifai N, Stampfer MJ, Ridker PM. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation*. 2002;105(22):2595–9.
29. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic

- atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*. 2001;285(19):2481–5.
30. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and Atherothrombosis. *N Engl J Med*. 1998;338(15):1042–50.
 31. Minamino T, Komuro I. Vascular Cell Senescence: Contribution to Atherosclerosis. *Circ Res*. 2007;100(1):15–26.
 32. Fuster JJ, Andres V. Telomere Biology and Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2006;99(11):1167–80.
 33. Chen J, Goligorsky MS. Premature senescence of endothelial cells: Methusaleh's dilemma. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2006;290(5):H1729–39.
 34. Omland T, de Lemos JA, Sabatine MS, Christophi CA, Rice MM, Jablonski KA, Tjora S, Domanski MJ, Gersh BJ, Rouleau JL, Pfeffer MA, Braunwald E. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease. *N Eng J Med* 2009;361:2538–2547.
 35. National Institutes of Health NH, Lung, and Blood Institute. Morbidity & Mortality: 2012 Chart Book on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2012.
 36. Reis SE, Holubkov R, Conrad Smith AJ, Kelsey SF, Sharaf BL, Reichek N, et al. Coronary microvascular dysfunction is highly prevalent in women with chest pain in the absence of coronary artery disease: results from the NHLBI WISE study. *Am Heart J*. 2001;141(5):735–41.
 37. Han SH, Bae JH, Holmes DR, Lennon RJ, Eeckhout E, Barsness GW, et al. Sex differences in atheroma burden and endothelial function in patients with early coronary atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2008 Jan;29(11):1359–69.
 38. Ong P, Athanasiadis A, Borgulya G, Mahrholdt H, Kaski JC, Sechtem U. High prevalence of a pathological response to acetylcholine testing in patients with stable angina pectoris and unobstructed coronary arteries. *The ACOVA*

- Study (Abnormal COronary VAsomotion in patients with stable angina and unobstructed coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Feb;59(7):655–62.
39. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Jaffe AS, Apple FS, Galvani M, et al. Universal definition of myocardial infarction: Kristian Thygesen, Joseph S. Alpert and Harvey D. White on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J*. 2007;28(20):2525–38.
 40. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby J V., Go AS. Population Trends in the Incidence and Outcomes of Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2010 Jun 10;362(23):2155–65.
 41. Savonitto S, Ardissino D, Granger CB, Morando G, Prando MD, Mafriaci A, et al. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA*. 1999;281(8):707–13.
 42. Terkelsen CJ, Lassen JF, Nørgaard BL, Gerdes JC, Jensen T, Gøtzsche LB-H, et al. Mortality rates in patients with ST-elevation vs. non-ST-elevation acute myocardial infarction: observations from an unselected cohort. *Eur Heart J*. 2005;26(1):18–26.
 43. Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, de Bruyne B, Cristea E, Mintz GS, et al. A Prospective Natural-History Study of Coronary Atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011;364(3):226–35.
 44. Campeau L. Grading of angina pectoris. *Circulation*. 1976;54(3):522–3.
 45. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2012 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125(1):188–97.
 46. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, Bueno H, Danchin N, Filippatos G, et al. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean

- Basin in 2004. *Eur Heart J*. 2006;27(19):2285–93.
47. Brieger D, Eagle KA, Goodman SG, Steg PG, Budaj A, White K, et al. Acute Coronary Syndromes Without Chest Pain, An Underdiagnosed and Undertreated High-Risk Group. *Chest*. 2004;126(2):461–9.
 48. Lopez-Sendon J, Coma-Canella I, Alcasena S, Seoane J, Gamallo C. Electrocardiographic findings in acute right ventricular infarction: sensitivity and specificity of electrocardiographic alterations in right precordial leads V4R, V3R, V1, V2, and V3. *J Am Coll Cardiol*. 1985;6(6):1273–9.
 49. Sgarbossa EB, Pinski SL, Barbagelata A, Underwood DA, Gates KB, Topol EJ, et al. Electrocardiographic Diagnosis of Evolving Acute Myocardial Infarction in the Presence of Left Bundle-Branch Block. *N Engl J Med*. 1996;334(8):481–7.
 50. Shlipak MG, Lyons WL, Go AS, Chou TM, Evans GT, Browner WS. Should the electrocardiogram be used to guide therapy for patients with left bundle-branch block and suspected myocardial infarction? *JAMA*. 1999;281(8):714-9.
 51. Lopes RD, Siha H, Fu Y, Mehta RH, Patel MR, Armstrong PW, et al. Diagnosing Acute Myocardial Infarction in Patients With Left Bundle Branch Block. *Am J Cardiol*. 2011;108(6):782–8.
 52. Hayflick L. Mortality and immortality at the cellular level. *Biochemistry (Mosc)*. 1997;62(11):1180–90.
 53. Awaya N, Baerlocher GM, Manley TJ, Sanders JE, Mielcarek M, Torok-Storb B, et al. Telomere shortening in hematopoietic stem cell transplantation: a potential mechanism for late graft failure? *Biol Blood Marrow Transplant*. 2002;8(11):597–600.
 54. Campisi J. The biology of replicative senescence. *Eur J Cancer*. 1997;33(5):703–9.
 55. Wong JM, Collins K. Telomere maintenance and disease. *Lancet*. 2003;362(9388):983–8.

56. Colgin LM, Reddel RR. Telomere maintenance mechanisms and cellular immortalization. *Curr Opin Genet Dev.* 1999;9(1):97–103.
57. Atlı K, Bozcuk AN. Telomerler ve Hücresel Yaşlanma. *Geriatrici* 2002; 5: 111-4.
58. Blackburn EH. Telomerases. *Annu Rev Biochem.* 1992;61(1):113–29.
59. Greider CW. Telomere Length Regulation. *Annu Rev Biochem.* 1996;65(1):337–65.
60. Monaghan P. Telomeres and life histories: the long and the short of it. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1206(1):130–42.
61. Lingner J, Cech TR. Telomerase and chromosome end maintenance. *Curr Opin Genet Dev.* 1998;8(2):226–32.
62. Bayne S, Liu J-P. Hormones and growth factors regulate telomerase activity in ageing and cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;240(1–2):11–22.
63. Granger MP, Wright WE, Shay JW. Telomerase in cancer and aging. *Critical reviews in oncology/hematology.* 2002; 41(1): 29-40.
64. Miroglu YY, Dıraman E, Eren Z. Telomer ve Telomeraz Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi. 2011; 4 (2): 41-48.
65. Klapper W, Parwaresch R, Krupp G. Telomere biology in human aging and aging syndromes. *Mech Ageing Dev.* 2001;122(7):695–712.
66. O'Connor MS, Safari A, Xin H, Liu D, Songyang Z. A critical role for TPP1 and TIN2 interaction in high-order telomeric complex assembly. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103(32):11874–9.
67. Martínez P, Blasco MA. Role of shelterin in cancer and aging. *Aging Cell.* 2010;9(5):653–66.
68. Gilley D, Tanaka H, Herbert B-S. Telomere dysfunction in aging and cancer. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37(5):1000–13.

69. Lin J, Epel E, Cheon J, Kroenke C, Sinclair E, Bigos M, et al. Analyses and comparisons of telomerase activity and telomere length in human T and B cells: Insights for epidemiology of telomere maintenance. *J Immunol Methods*. 2010;352(1–2):71–80.
70. Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres, telomerase, and cancer. *Cancer Lett*. 2003;194(2):155–62.
71. Masutomi K, Hahn WC. Telomerase and tumorigenesis. *Cancer Lett*. 2003;194(2):163–72.
72. Flanary BE, Streit WJ. Telomeres Shorten with Age in Rat Cerebellum and Cortex in vivo. *J Anti Aging Med*. 2003;6(4):299–308.
73. Förstemann K, Lingner J. Telomerase limits the extent of base pairing between template RNA and telomeric DNA. *EMBO Rep*. 2005;6(4):361–6.
74. Achi M V., Ravindranath N, Dym M. Telomere Length in Male Germ Cells Is Inversely Correlated with Telomerase Activity. *Biol Reprod*. 2000;63(2):591–8.
75. Hastie, A.N.D., Allshire R. Human Telomeres: Fusion and Interstitial Sites. *TIG*. 1989;5(10):326–30.
76. Gorham H, Yoshida K, Sugino T, Marsh G, Manek S, Charnock M, et al. Telomerase activity in human gynaecological malignancies. *J Clin Pathol*. 1997;50:501–4.
77. Yoshida K, Sugino T, Tahara H, Woodman A, Bolodeoku J, Nargund V, et al. Telomerase activity in bladder carcinoma and its implication for noninvasive diagnosis by detection of exfoliated cancer cells in urine. *Cancer*. 1997;79(2):362–9.
78. Gomez DE, Armando RG, Farina HG, Menna PL, Cerrudo CS, Ghiringhelli PD, et al. Telomere structure and telomerase in health and disease. *Int J Oncol*. 2012;41(5):1561–9.

79. Wyatt HDM, West SC, Beattie TL. InTERTpreting telomerase structure and function. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(17):5609–22.
80. Dong CK, Masutomi K, Hahn WC. Telomerase: regulation, function and transformation. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005;54(2):85–93.
81. Legassie JD, Jarstfer MB. Telomerase as a DNA-Dependent DNA Polymerase. *Biochemistry.* 2005;44(43):14191–201.
82. Hug N, Lingner J. Telomere length homeostasis. *Chromosoma.* 2006;115(6):413–25.
83. Harley C. Telomerase Therapeutics for Degenerative Diseases. *Curr Mol Med.* 2005;5(2):205–11.
84. Burger AM, Bibby MC, Double JA. Telomerase activity in normal and malignant mammalian tissues: feasibility of telomerase as a target for cancer chemotherapy. *Br J Cancer.* 1997;75(4):516–22.
85. Greider CW. Telomerase activity, cell proliferation, and cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(1):90–2.
86. Effros RB. Telomere/telomerase dynamics within the human immune system: Effect of chronic infection and stress. *Exp Gerontol.* 2011 Feb;46(2–3):135–40.
87. Weng NP, Granger L, Hodes RJ. Telomere lengthening and telomerase activation during human B cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(20):10827–32.
88. Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet.* 2005;6(8):611–22.
89. Miller RA. Telomere diminution as a cause of immune failure in old age: an unfashionable demurrer. *Biochem Soc Trans.* 2000;28(2):241–5.
90. Tristano A, Eugenia Chollet M, Willson ML, Adjounian H, Fernanda Correa M, Borges A. Telomerase activity in peripheral blood leukocytes from patients

- with essential hypertension. *Med Clin (Barc)*. 2003;120(10):365–9.
91. Harley CB, Sherwood SW. Telomerase, checkpoints and cancer. *Cancer Surv*. 1997;29:263–84.
 92. Valdes A, Andrew T, Gardner J, Kimura M, Oelsner E, Cherkas L, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*. 2005;366(9486):662–4.
 93. Targowski T, Jahnz-Rózyk K, Szkoda T, From S, Rozyńska R, Płusa T. Influence of nicotine addiction on telomerase activity in malignant non-small cell lung tumors. *Przegl Lek*. 2005;62(10):1043–6.
 94. YAMADA, Osamu. Telomeres and telomerase in human hematologic neoplasia. *Int J Hematol*. 1996;64(2):87–99.
 95. Henson JD, Neumann AA, Yeager TR, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres in mammalian cells. *Oncogene*. 2002;21(4):598–610.
 96. Bryan TM, Englezou A, Gupta J, Bacchetti S, Reddel RR. Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J*. 1995;14(17):4240–8.
 97. Qi L, Strong MA, Karim BO, Huso DL, Greider CW. Telomere fusion to chromosome breaks reduces oncogenic translocations and tumour formation. *Nat Cell Biol*. 2005;7(7):706–11.
 98. Shay JW, Wright WE. Senescence and immortalization: role of telomeres and telomerase. *Carcinogenesis*. 2005;26(5):867–74.
 99. Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature*. 1990;346(6287):866–8.
 100. Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet*. 1994;55(5):876–82.

101. Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H, Komuro I. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002;105(13):1541–4.
102. Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H, Komuro I. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002;105(13):1541–4.
103. Samani NJ, Boulby R, Butler R, Thompson JR, Goodall AH. Telomere shortening in atherosclerosis. *Lancet*. 2001;358(9280):472–3.
104. Cawthon RM, Smith KR, O’Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*. 2003;361(9355):393–5.
105. Ogami M, Ikura Y, Ohsawa M, Matsuo T, Kayo S, Yoshimi N, et al. Telomere Shortening in Human Coronary Artery Diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(3):546–50.
106. Shawi M, Autexier C. Telomerase, senescence and ageing. *Mech Ageing Dev*. 2008;129(1–2):3–10.
107. Haycock PC, Heydon EE, Kaptoge S, Butterworth AS, Thompson A, Willeit P. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014;349:g4227.
108. D’Mello MJJ, Ross SA, Briel M, Anand SS, Gerstein H, Paré G. Association Between Shortened Leukocyte Telomere Length and Cardiometabolic Outcomes. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015;8(1):82–90.
109. Codd V, Nelson CP, Albrecht E, Mangino M, Deelen J, Buxton JL, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet*. 2013;45(4):422–7.
110. Zhan Y, Karlsson IK, Karlsson R, Tillander A, Reynolds CA, Pedersen NL, et al. Exploring the Causal Pathway From Telomere Length to Coronary Heart Disease. *Circ Res*. 2017;121(3):214–9.

111. Yeh J-K, Wang C-Y. Telomeres and Telomerase in Cardiovascular Diseases. *Genes (Basel)*. 2016;7(9):58.
112. Blackburn EH. Telomeres: no end in sight. *Cell*. 1994;77(5):621–3.
113. Durusoy M. Telomeraz Aktivitesini Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler ve Dayandıkları Esaslar. *TurkJ Biochem*. 2003;28(1):25–9.
114. Gizard F, Heywood EB, Findeisen HM, Zhao Y, Jones KL, Cudejko C, et al. Telomerase Activation in Atherosclerosis and Induction of Telomerase Reverse Transcriptase Expression by Inflammatory Stimuli in Macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(2):245–52.
115. POCH E, CARBONELL P, FRANCO S, DÍEZ-JUAN A, BLASCO MA, ANDRÉS V. Short telomeres protect from diet-induced atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *FASEB J*. 2004;18(2):418–20.
116. Narducci ML, Grasselli A, Biasucci LM, Farsetti A, Mulè A, Liuzzo G, et al. High telomerase activity in neutrophils from unstable coronary plaques. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(25):2369–74.
117. Minamino T, Kourembanas S. Mechanisms of telomerase induction during vascular smooth muscle cell proliferation. *Circ Res*. 2001;89(3):237–43.
118. Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H, Komuro I. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002;105(13):1541–4.
119. Matthews C, Gorenne I, Scott S, Figg N, Kirkpatrick P, Ritchie A, et al. Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress. *Circ Res*. 2006;99(2):156–64.
120. Sabharwal S, Verhulst S, Guirguis G, Kark JD, Labat C, Roche NE, et al. Telomere length dynamics in early life: the blood-and-muscle model. *FASEB J [Internet]*. 2018 Jan [cited 2018 Oct 13];32(1):529–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28855279>

121. Benetos A, Toupance S, Gautier S, Labat C, Kimura M, Rossi PM, et al. Short Leukocyte Telomere Length Precedes Clinical Expression of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2018;122(4):616–23.
122. McKee JA, Banik SS, Boyer MJ, Hamad NM, Lawson JH, Niklason LE, et al. Human arteries engineered in vitro. *EMBO Rep.* 2003;4(6):633–8.
123. Minamino T, Mitsialis SA, Kourembanas S. Hypoxia extends the life span of vascular smooth muscle cells through telomerase activation. *Mol Cell Biol.* 2001;21(10):3336–42.
124. Minamino T, Kourembanas S. Mechanisms of Telomerase Induction During Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation Downloaded from. 2001.
125. Ogawa D, Nomiya T, Nakamachi T, Heywood EB, Stone JF, Berger JP, et al. Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Suppresses Telomerase Activity in Vascular Smooth Muscle Cells. *Circ Res.* 2006;98(7):e50-9.
126. Matthews C, Gorenne I, Scott S, Figg N, Kirkpatrick P, Ritchie A, et al. Vascular Smooth Muscle Cells Undergo Telomere-Based Senescence in Human Atherosclerosis. *Circ Res.* 2006;99(2):156–64.
127. CAO Y, LI H, MU F-T, EBISUI O, FUNDER JW, LIU J-P. Telomerase activation causes vascular smooth muscle cell proliferation in genetic hypertension. *FASEB J.* 2002;16(1):96–8.
128. GUPTA M, SHOGREEN MR, BRADEN GA, WHITE WL, SANE DC. Prevalence of Telomerase in Coronary Artery Atherosclerosis. *J Anti Aging Med.* 2000;3(1):15–24.
129. Rivard A, Andrés V. Vascular smooth muscle cell proliferation in the pathogenesis of atherosclerotic cardiovascular diseases. *Histol Histopathol.* 2000;15(2):557–71.
130. ANDRES V. Control of vascular cell proliferation and migration by cyclin-dependent kinase signalling: new perspectives and therapeutic potential.

Cardiovasc Res. 2004;63(1):11–21.

131. Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, Skurnick J, et al. Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2001;37(2 Pt 2):381–5.
132. Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, Chen W, Kimura M, Lu X, et al. Rise in Insulin Resistance Is Associated With Escalated Telomere Attrition. *Circulation*. 2005;111(17):2171–7.
133. Blasco MA, Lee HW, Hande MP, Samper E, Lansdorp PM, DePinho RA, et al. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*. 1997;91(1):25–34.
134. Lee H-W, Blasco MA, Gottlieb GJ, Horner JW, Greider CW, DePinho RA. Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs. *Nature*. 1998;392(6676):569–74.
135. Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C, et al. Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell*. 1999;96(5):701–12.
136. Herrera E, Samper E, Martín-Caballero J, Flores JM, Lee HW, Blasco MA. Disease states associated with telomerase deficiency appear earlier in mice with short telomeres. *EMBO J*. 1999;18(11):2950–60.
137. Franco S, Segura I, Riese HH, Blasco MA. Decreased B16F10 melanoma growth and impaired vascularization in telomerase-deficient mice with critically short telomeres. *Cancer Res*. 2002;62(2):552–9.
138. Leri A, Franco S, Zacheo A, Barlucchi L, Chimenti S, Limana F, et al. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation. *EMBO J*. 2003;22(1):131–9.
139. Wong K-K, Maser RS, Bachoo RM, Menon J, Carrasco DR, Gu Y, et al. Telomere dysfunction and Atm deficiency compromises organ homeostasis

- and accelerates ageing. *Nature*. 2003;421(6923):643–8.
140. Pérez-Rivero G, Ruiz-Torres MP, Rivas-Elena J V., Jerkic M, Díez-Marques ML, Lopez-Novoa JM, et al. Mice Deficient in Telomerase Activity Develop Hypertension Because of an Excess of Endothelin Production. *Circulation*. 2006;114(4):309–17.
 141. Vulliamy T, Marrone A, Goldman F, Dearlove A, Bessler M, Mason PJ, et al. The RNA component of telomerase is mutated in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Nature*. 2001;413(6854):432–5.
 142. Chang S, Multani AS, Cabrera NG, Naylor ML, Laud P, Lombard D, et al. Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet*. 2004;36(8):877–82.
 143. Metcalfe JA, Parkhill J, Campbell L, Stacey M, Biggs P, Byrd PJ, et al. Accelerated telomere shortening in ataxia telangiectasia. *Nat Genet*. 1996;13(3):350–3.
 144. Entringer S, Buss C, Wadhwa PD. Prenatal Stress, Telomere Biology, and Fetal Programming of Health and Disease Risk. *Sci Signal*. 2012;5(248):pt12-pt12.
 145. Martens DS, Plusquin M, Gyselaers W, De Vivo I, Nawrot TS. Maternal pre-pregnancy body mass index and newborn telomere length. *BMC Med*. 2016;14(1):148.
 146. EPEL E, LIN J, WILHELM F, WOLKOWITZ O, CAWTHON R, ADLER N, et al. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors. *Psychoneuroendocrinology*. 2006;31(3):277–87.
 147. Zhu H, Guo D, Li K, Pedersen-White J, Stallmann-Jorgensen IS, Huang Y, et al. Increased telomerase activity and vitamin D supplementation in overweight African Americans. *Int J Obes*. 2012;36(6):805–9.
 148. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA. Association of Marine Omega-3 Fatty Acid Levels With Telomeric Aging in

- Patients With Coronary Heart Disease. *JAMA*. 2010;303(3):250.
149. Rentoukas E, Tsarouhas K, Kaplanis I, Korou E, Nikolaou M, Marathonitis G, et al. Connection between Telomerase Activity in PBMC and Markers of Inflammation and Endothelial Dysfunction in Patients with Metabolic Syndrome. *PLoS One*. 2012;7(4):e35739.
 150. el Bouazzaoui F, Henneman P, Thijssen P, Visser A, Koning F, Lips MA, et al. Adipocyte telomere length associates negatively with adipocyte size, whereas adipose tissue telomere length associates negatively with the extent of fibrosis in severely obese women. *Int J Obes*. 2014;38(5):746–9.
 151. TSIRPANLIS G, CHATZIPANAGIOTOU S, BOUFIDOU F, KORDINAS V, ZOGA M, ALEVYZAKI F, et al. Serum oxidized low-density lipoprotein is inversely correlated to telomerase activity in peripheral blood mononuclear cells of haemodialysis patients. *Nephrology*. 2006;11(6):506–9.
 152. Boccardi V, Barbieri M, Rizzo MR, Marfella R, Esposito A, Marano L, et al. A new pleiotropic effect of statins in elderly: modulation of telomerase activity. *FASEB J*. 2013;27(9):3879–85.
 153. Donnini S, Terzuoli E, Ziche M, Morbidelli L. Sulfhydryl Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Promotes Endothelial Cell Survival through Nitric-Oxide Synthase, Fibroblast Growth Factor-2, and Telomerase Cross-Talk. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;332(3):776–84.
 154. Bekaert S, De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, De Bacquer D, Langlois M, et al. Telomere length and cardiovascular risk factors in a middle-aged population free of overt cardiovascular disease. *Aging Cell*. 2007;6(5):639–47.
 155. De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, Langlois MR, De Bacquer D, Segers P, et al. Systemic telomere length and preclinical atherosclerosis: the Asklepios Study. *Eur Heart J*. 2009;30(24):3074–81.
 156. Daniali L, Benetos A, Susser E, Kark JD, Labat C, Kimura M, et al.

Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nat Commun.* 2013 Dec;4(1):1597.

157. Benetos A, Kark JD, Susser E, Kimura M, Sinnreich R, Chen W, et al. Tracking and fixed ranking of leukocyte telomere length across the adult life course. *Aging Cell.* 2013;12(4):615–21.
158. Codd V, Nelson CP, Albrecht E, Mangino M, Deelen J, Buxton JL, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet.* 2013 Apr;45(4):422–7.
159. Scheller Madrid A, Rode L, Nordestgaard BG, Bojesen SE. Short Telomere Length and Ischemic Heart Disease: Observational and Genetic Studies in 290 022 Individuals. *Clin Chem.* 2016;62(8):1140–9.
160. Said MA, Eppinga RN, Hagemeyer Y, Verweij N, van der Harst P. Telomere Length and Risk of Cardiovascular Disease and Cancer. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(4):506–7.
161. Baird DM. Variation at the TERT locus and predisposition for cancer. *Expert Rev Mol Med.* 2010;12:e16.
162. Majerská J, Sýkorová E, Fajkus J. Non-telomeric activities of telomerase. *Mol Biosyst.* 2011;7(4):1013.
163. Effros RB. Telomere/telomerase dynamics within the human immune system: Effect of chronic infection and stress. *Exp Gerontol.* 2011;46(2–3):135–40.
164. Weng NP, Granger L, Hodes RJ. Telomere lengthening and telomerase activation during human B cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(20):10827–32.
165. Pérez-Rivero G, Ruiz-Torres MP, Rivas-Elena J V., Jerkic M, Díez-Marques ML, Lopez-Novoa JM, et al. Mice Deficient in Telomerase Activity Develop Hypertension Because of an Excess of Endothelin Production. *Circulation.* 2006;114(4):309–17.

166. Imanishi T, Moriwaki C, Hano T, Nishio I. Endothelial progenitor cell senescence is accelerated in both experimental hypertensive rats and patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 2005;23(10):1831–7.
167. Leri A, Franco S, Zacheo A, Barlucchi L, Chimenti S, Limana F, et al. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation. *EMBO J*. 2003;22(1):131–9.
168. Franco S, Segura I, Riese HH, Blasco MA. Decreased B16F10 melanoma growth and impaired vascularization in telomerase-deficient mice with critically short telomeres. *Cancer Res*. 2002;62(2):552–9.
169. Kuhlow D, Florian S, von Figura G, Weimer S, Schulz N, Petzke KJ, et al. Telomerase deficiency impairs glucose metabolism and insulin secretion. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(10):650–8.
170. Weng NP, Levine BL, June CH, Hodes RJ. Regulated expression of telomerase activity in human T lymphocyte development and activation. *J Exp Med*. 1996;183(6):2471–9.
171. Hathcock KS, Weng NP, Merica R, Jenkins MK, Hodes R. Cutting edge: antigen-dependent regulation of telomerase activity in murine T cells. *J Immunol*. 1998;160(12):5702–6.
172. Ping L, Asai A, Okada A, Isobe K, Nakajima H. Dramatic increase of telomerase activity during dendritic cell differentiation and maturation. *J Leukoc Biol*. 2003;74(2):270–6.
173. Herrera E, Samper E, Martín-Caballero J, Flores JM, Lee HW, Blasco MA. Disease states associated with telomerase deficiency appear earlier in mice with short telomeres. *EMBO J*. 1999 Jun;18(11):2950–60.
174. Herrera E, Martínez-A C, Blasco MA. Impaired germinal center reaction in mice with short telomeres. *EMBO J*. 2000;19(3):472–81.
175. Okuda K, Bardeguet A, Gardner JP, Rodriguez P, Ganesh V, Kimura M, et al. Telomere Length in the Newborn. *Pediatr Res*. 2002;52(3):377–81.

176. Friedrich U, Griese E, Schwab M, Fritz P, Thon K, Klotz U. Telomere length in different tissues of elderly patients. *Mech Ageing Dev.* 2000;119(3):89–99.
177. Jeanclos E, Schork NJ, Kyvik KO, Kimura M, Skurnick JH, Aviv A. Telomere length inversely correlates with pulse pressure and is highly familial. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2000;36(2):195–200.
178. Takubo K, Izumiyama-Shimomura N, Honma N, Sawabe M, Arai T, Kato M, et al. Telomere lengths are characteristic in each human individual. *Exp Gerontol.* 2002;37(4):523–31.
179. Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet.* 1994;55(5):876–82.
180. Nawrot TS, Staessen JA, Gardner JP, Aviv A. Telomere length and possible link to X chromosome. *Lancet.* 2004;363(9408):507–10.
181. Leri A, Malhotra A, Liew C-C, Kajstura J, Anversa P. Telomerase Activity in Rat Cardiac Myocytes is Age and Gender Dependent. *J Mol Cell Cardiol.* 2000;32(3):385–90.
182. Coviello-McLaughlin GM, Prowse KR. Telomere length regulation during postnatal development and ageing in *Mus spretus*. *Nucleic Acids Res.* 1997;25(15):3051–8.
183. Cherif H, Tarry JL, Ozanne SE, Hales CN. Ageing and telomeres: a study into organ- and gender-specific telomere shortening. *Nucleic Acids Res.* 2003;31(5):1576–83.
184. Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, Skurnick J, et al. Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2001;37(2 Pt 2):381–5.
185. De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, De Bacquer D, Van Criekinge W, De Backer GG, et al. Paternal age at birth is an important determinant of

- offspring telomere length. *Hum Mol Genet.* 2007;16(24):3097–102.
186. Unryn BM, Cook LS, Riabowol KT. Paternal age is positively linked to telomere length of children. *Aging Cell.* 2005;4(2):97–101.
187. Kimura M, Cherkas LF, Kato BS, Demissie S, Hjelmborg JB, Brimacombe M, et al. Offspring's Leukocyte Telomere Length, Paternal Age, and Telomere Elongation in Sperm. *PLoS Genet.* 2008;4(2):e37.
188. Holohan B, De Meyer T, Batten K, Mangino M, Hunt SC, Bekaert S, et al. Decreasing initial telomere length in humans intergenerationally understates age-associated telomere shortening. *Aging Cell.* 2015;14(4):669–77.
189. Brouillette SW, Moore JS, McMahan AD, Thompson JR, Ford I, Shepherd J, et al. Telomere length, risk of coronary heart disease, and statin treatment in the West of Scotland Primary Prevention Study: a nested case-control study. *Lancet.* 2007;369(9556):107–14.
190. D'Mello MJ, Ross SA, Anand SS, Gerstein H, McQueen M, Yusuf S, et al. Telomere Length and Risk of Myocardial Infarction in a MultiEthnic Population. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(15):1863–5.
191. Toupance S, Labat C, Temmar M, Rossignol P, Kimura M, Aviv A, et al. Short Telomeres, but Not Telomere Attrition Rates, Are Associated With Carotid Atherosclerosis. *Hypertension.* 2017;70(2):420–5.
192. Fuster JJ, Díez J, André V. Telomere dysfunction in hypertension. Vol. 25, *Journal of Hypertension.* 2007.
193. Daniali L, Benetos A, Susser E, Kark JD, Labat C, Kimura M, et al. Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nat Commun.* 2013;4(1):1597.