

T.C

18 MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI



AKUT KORONER SENDROM TANISI İLE BAŞVURAN ASETİLSALİSİLİK ASİT
VEYA KLOPİDOGREL KULLANAN HASTALARDA MDR1 VE eNOS T786C GEN
POLİMORFİZİMİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. UFUK ÖZTÜRK

TEZ DANIŞMANI
DÇ DR. EMİNE GAZİ

ÇANAKKALE 2015

T.C

18 MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT KORONER SENDROM TANISI İLE BAŞVURAN ASETİLSALİSİLİK ASİT
VEYA KLOPİDOGREL KULLANAN HASTALARDA MDR1 VE eNOS T786C GEN
POLİMORFİZİMİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. UFUK ÖZTÜRK

TEZ DANIŞMANI
DOÇ DR. EMİNE GAZİ

ÇANAKKALE 2015

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
Proje Kodu: TTU-2014-336

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Kardiyoloji uzmanlık eğitimi
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15/06/2015

TEZ KONUSU BAŞLIĞI

“Akut Koroner Sendrom Tanısı İle Başvuran Asetilsalisilik Asit Veya
Klopidogrel Kullanan Hastalarda Mdr1 Ve Enos T786c Gen Polimorfiziminin
Araştırılması “

Tez Danışmanı:

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

Doç.Dr.Ahmet TEMİZ

Doç.Dr.Emine GAZİ

Doç.Dr.Meryem AKTOZ

İmzası

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim
Kurulunun 23/06/2015 tarih ve /2015/15.. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Dekan,
Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU
Dekan

TEŞEKKÜR

Kardiyoloji ihtisasım süresince tezimin oluşumunda desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç Dr. Emine GAZİ'ye, tezimin konusunun belirlenmesindeki önerileri için Çanakkale 18 Mart Tıp Fakültesi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Öztürk Özdemir'e, genetik çalışmaların yürütülmesindeki emeği ve tez yazımına bilgi ve yayınları ile katkıda bulunan Doç. Dr. Fatma Silan'a,

Asistanlığım boyunca dostluklarını esirgemeyen tüm kardiyoloji araştırma görevlisi arkadaşlarıma

Koroner yoğun bakım, kardiyoloji servisi ve koroner anjiyografi laboratuvarı çalışanlarına,

Asistanlığım boyunca deneyimleriyle yol gösteren, herkese bilimsel ve akademik olarak katkıda bulunmayı kendine hedef edinmiş başta Doç. Dr. Bahadır Kırılmaz'a olmak üzere kliniğimizin tüm değerli öğretim üyelerine,

Aldığım her kararda bana destek olan evlatları olmaktan gurur duyduğum aileme ve eşime teşekkür ediyorum.

Dr. Ufuk Öztürk

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Ateroskleroz	3
2.2 Aterosklerozun Komplikasyonu Olarak Akut Koroner Sendromlar	6
2.3 Akut Koroner Sendromlarda Antiagregan Tedavi	7
2.4 Mdr1 Gen Polimorfizmi Ve P-Glikoproteini	8
2.5 Nitrik Oksit Ve eNOS T786 Gen Polimorfizmi	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1 Gereç	12
3.2 Yöntem	13
4. BULGULAR	14
5.TARTIŞMA	28
6.SONUÇ	31
7.KAYNAKÇA	32

SİMGE VE KISALTMALAR

%	:Yüzde
°C	:Santigrad derece
A	: Adenin
ABCB 1	:ATP-binding cassette, sub-family B
AKS	:Akut koroner sendrom
Arg	:Arginin
bç	:Baz çifti
BKİ	:Beden kitle indeksi
C	:Sitozin
Ca ²⁺	:Kalsiyum
cGMP	:Döngüsel guanozin monofosfat
CO ₂	:Karbon dioksit
Dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleozid trifosfat
EDRF	:Endotel kaynaklı gevsetici faktör
eNOS	:Endotelyal nitrik oksid sentaz
ET	:Endotelin
G	:Guanin
HDL	:Yüksek dansiteli lipoprotein
iNOS	:İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
ICAM 1	:Hücreler arası adezyon molekülü
KKAH	:Kronik koroner arter hastalığı
KKY	:Kronik kalp yetmezliği
LDL	:Düşük dansiteli lipoprotein
M-CSF	:Makrofaj –Koloni Uyarıcı Faktör
Mİ	:Miyokard infarktüsü
MDR1	:Multi drug resistanse 1
NO	:Nitrik oksid

non-STEMİ	:ST segment elevasyonu olmayan miyokard enfarktüsü
Nt	:Nükleotid
O2	:Oksijen
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
Pgp	:P glikoprotein
PDGF	:Platelet kökenli büyüme faktörü
RFLP	:Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RNA	:Ribonükleik asit
SCARA	:Scavenger Reseptör A
Sn	:Saniye
STEMİ	:ST elevasyonlu miyokard enfarktüsü
T	:Timin
TG	:Trigliserid
VCAM 1	:Vasküler hücre adezyon molekül1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Aterosklerozun gelişim süreçleri	5
Şekil 2. P glikoproteininin iki boyutlu yapısı	9
Şekil 3. TRITON TIMI 38 çalışması	10
Şekil 4. Çalışma grubunda antiagregan kullanımı	16
Şekil 5. eNOS tek gen polimorfizmi açısından hastaların dağılımı	17
Şekil 1 MDR1 tek gen polimorfizmi açısından hastaların dağılımı	18

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Hastaların klinik ve demografik özellikleri	15
Tablo 2. eNOS tek gen polimorfizminin gruplar arasında dağılımı	16
Tablo 3. MDR1 tek gen polimorfizminin gruplar arasında dağılımı	18
Tablo 4. MDR1 İçin Alel Frekansları	19
Tablo 5. eNOS İçin Alel Frekansları	19
Tablo 6. MDR1 ve eNOS heterozigot bireylerin dağılımı	20
Tablo 7. MDR1 ve eNOS homozigot bireylerin dağılımı	20
Tablo 8. Hastaların genotiplerine göre subgrup analizleri	21
Tablo 9. Damar hastalığının yaygınlığı ve genotip dağılımı	27

1. ÖZET

Endotelial nitrik oksit sentetaz geninde belirlenen mutasyonlardan biri 5' flanking bölgesinde, nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar. Bu polimorfik genin eNOS promotor aktivitesi ve NO sentezinde azalmayla sonuçlandığı koroner arter spazmı, KAH ve yaygınlığı, miyokard infarktüsü ve hipertansiyon ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. MDR1 geninin kodladığı P-gp'nin, özellikle 3435C→T gen polimorfizimine sahip bireylerde klopidogrel tedavisi altında tekrarlayan kardiyak olay yaşama ihtimalini arttırdığı gosterilmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada eNOS ve MDR1 genetik polimorfizimlerinin asetilsalisilik asit ve/veya klopidogrel kullanan akut koroner sendrom hastalarındaki etkilerini inceledik.

Asetilsalisilik asit, klopidogrel veya her ikisini beraber kullanan çalışma grubunda olan hastaların eNOS tek gen mutasyonu açsından kontrol grubundan farklı olmadığı saptandı ($p=0.931$). C/T aleline sahip birey sayısı çalışma grubunda $n=16$ (38,1%) kontrol grubunda $n=18$ (%37,5) olarak izlendi. C/C homozigot bireyler ise çalışma grubunda $n=5$ kontrol grubunda $n=7$ olarak izlendi.

MDR1 tek gen mutasyonuna sahip bireylerin sayının antiagregan kullanan çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak farklı olmadığını saptadık ($p=0,521$). Çalışma grubunda T aleli taşıyan homozigot birey sayısı $n=5$ (%11,9) kontrol grubunda ise $n=7$ (%14,6) idi. T aleli taşıyan heterozigot birey sayısı ise çalışma grubunda $n=26$ (%61,9) kontrol grubunda ise $n=24$ (%50,0) idi.

Sonuç olarak alışmamızda MDR1 ve eNOS tek gen polimorfizminin antiagregan kullanan hastalarda AKS sıklığını artırmadığını, 65 yaş üstü hastalarda MDR1 polimorfizminin antiagregan kullanımına rağmen AKS riskini arttırdığını saptamış olduk. eNOS ve MDR1 birlikteliğinin yaygın damar hastalığı ile birlikte olduğunu ortaya koyduk.

2. SUMMARY

One of the mutations identified in the endothelial nitric oxide synthase gene 5' flanking region, arises from the nucleotide cytosine to thymidine in the displacement of 786. Some studies showed that this polymorphic gene is related to decrease in promoter activity of eNOS and synthesis of nitric oxide, coronary artery spasm, presence and severity of coronary artery disease, myocardial infarction, hypertension. The MDR1 gene encoding P-gp gene, particularly 3435C→T polymorphism, has been shown that individuals taking clopidogrel increase the likelihood of recurrent cardiac events.

In this study we investigated effects of eNOS and MDR1 polymorphisms in acute coronary syndrome patients using clopidogrel and/or aspirin.

eNOS polymorphism was not different in patients using acetyl salicylic acid, clopidogrel or both of these drugs than control group ($p=0.931$). The number of patients who had C/T and C/C allele were 16 (38,1%) and 5 in study group and 18 (37,5%) and 7 in control group, respectively.

The number of patients with MDR1 single gene mutation had no statistically different into two groups in our study ($p=0,521$). The number of individuals with the homozygous T allele was 5 (11.9%) in the study group and 7 (14.6%) in the control group, respectively. The number of heterozygous individuals carrying the T allele in the study group was 26 (61.9%) and in the control group, was 24 (50.0%), respectively.

In conclusion, we found in our study MDR1 and eNOS polymorphisms are not increase the frequency of acute coronary syndrome in patients using antiagregan drug but MDR1 polymorphism is increase the risk in patients more than 65 years. And we showed MDR1 and eNOS polymorphisms together is related to severity of coronary artery disease.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Koroner arter hastalığı (KAH) dünyanın diğer ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Onat ve ark. tarafından ülkemizde yapılan TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı Ve Risk Faktörleri Kohort Çalışması) çalışmasında 10 yıllık sürede nedeni bilinen tüm ölümlerin %42'sinin KAH kökenli olduğu bulunmuştur (1). Ateroskleroz, koroner arter hastalığının, en sık görülen nedenidir. Ateroskleroz çoğunlukla lipid toplanmasına bağlı olarak orta boyutlu ve büyük arterlerde meydana gelen kronik, multifokal, immüno-inflamatuvar ve fibroproliferatif bir hastalıktır. Daha önceden yapılan seri anjiyografik ve fizyopatolojik gözlemler koroner arter hastalığının doğal ilerlemesinin iki farklı süreç içerdiğini gösterir; yavaş yavaş on yıllar boyu kademeli olarak lümenin daralmasına yol açan sabit ve hemen hemen hiç geri dönüşü olmayan süreç (ateroskleroz, stabil koroner arter hastalığı) ve hızlı koroner tıkanmaya neden olan, yavaş ilerlemeyi aniden noktlayan, dinamik ve geri dönüşü olan süreç (tromboz veya vazospazm, akut koroner sendromlar). Kronik kararlı anjinalardan sorumlu lezyonlarda genellikle ateroskleroz baskın iken, akut koroner sendromlarda lezyonların önemli bir bileşenini tromboz oluşturur (2).

Üç temel fizyopatolojik mekanizma vasküler inflamasyon ile akut koroner sendrom gelişimini birbirine bağlar. Birincisi, aterosklerotik plak içerisindeki inflamasyon; monosit toplanması, makrofaj aktivasyonu ve serbest radikallerin salınımı ile görülür. Bunun sonucunda, metalloproteinazların aktivasyonu ve plakların destabilizasyonu meydana gelir. İkincisi, paradoksal vazokonstriksiyon; trombosit agregasyonu, trombin-endotelin 1 salınımı ve sempatik uyarım ile tetiklenen endotel disfonksiyonu ile bağlantılıdır. Üçüncüsü, trombojenisite; nitrik oksit (NO), prostasiklin, protein C/S ve doku plazminojen aktivatörünün endojen konsantrasyonları ile doku faktörü ve endotel kökenli apoptotik mikro partikülleri içeren plak bileşenlerinin protrombik uyarısı arasındaki dengesizlikten doğar (3).

Aterosklerozun başlaması, ilerlemesi ve komplike olmasında endotel disfonksiyonu önemli rol oynar. Endotel, vazomotor tonusun regülasyonu, trombotik süreçleri ve vasküler tonusu etkileyen prostasiklin, endotelin-1 ve nitrik oksit salınımı gibi fonksiyonları ile vasküler hemostazın korunmasından sorumludur. Oksitadif stres artışı ve nitrik oksit biyoyararlanımının azalması endotel disfonksiyonuna neden olarak ateroskleroz gelişimine zemin hazırlayan faktörlerdendir.

Nitrik oksit bazal vasküler düz kas tonusunun temel belirleyicisi olmanın yanında, anijotensin II ve endotelin-1 gibi endotel kökenli güçlü vazokonstrüktör faktörlerin etkisine karşı koyar. NO, vasküler endotelde endotelyal nitrik oksit sentetaz (eNOS) enzimi tarafından L-argininden sentezlenen vazoaktif bir maddedir ve vasküler düz kas gevşetici etkisi ile endotel bağımlı vazodilatasyonun ana mediyatörüdür. NO'in vasküler endotelde ateroskleroz gelişimini önleyici çeşitli etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Trombosit ve lökositlerin endotele yapışmasını önler, vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu azaltır; LDL oksidasyonunu kısıtlayarak LDL'nin aterojenik LDL'ye dönüşümünü engeller (4). Son yıllarda eNOS enzimini kodlayan gende çeşitli mutasyonlar saptanmış, bu mutasyonların bozulmuş NO salınımına, sonuç olarak da koroner arter hastalığına (KAH) ve hipertansiyona neden olabileceği bildirilmiştir (5-6).

Endotelyal nitrik oksit sentetaz geninde belirlenen mutasyonlardan biri 5' flanking bölgesinde, nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar. Bu polimorfik genin eNOS promotor aktivitesi ve NO sentezinde azalmayla sonuçlandığı koroner arter spazmı (5), KAH ve yaygınlığı (6,7), miyokard infarktüsü (8) ve hipertansiyon (9) ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada eNOS geninin T-786 C mutasyonunun toplumumuzda koroner arter hastalığının varlığı ve yaygınlığında rol aldığı gösterilmiştir (10).

ABCB1 (ATP-bağlayıcı kaset B ailesi) olarak da bilinen insan MDR1 (Multidrug Resistance) geni 7p21'de lokalizedir ve 28 ekzon içermektedir. MDR1'in kodladığı P-glikoprotein (Pgp), ABCB1 ailesinin bir üyesidir. P-gp, ATP bağımlı olarak ksenobiyotiklerin, metabolik artık ürünlerin ve pek çok ilacın hücre dışına pompalanmasında fonksiyon görür (11). Bugün için P-gp'nin gastrointestinal yol boyunca ilaç absorpsiyonunu etkilediği, ilaçların safra ve idrara atılımını sağladığı ve yine ilaçların kan-beyin bariyerini geçişini engellediği bilinmektedir.

MDR1 geninin kodladığı P-gp'nin, özellikle 3435C→T gen polimorfizmine sahip bireylerde klopidogrel tedavisi altında tekrarlayan kardiyak olay yaşama riskinin arttığı gösterilmiştir (12).

Akut koroner sendromlu hastalarla ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda hastaların antiagregan tedavi altında re-enfarktüs geçirdiği saptanmış ve bu konu hakkında çalışmalar devam etmiştir. Bu konuda yapılmış CURE çalışılmasında yalnız ASA kullanan hastalarda Mİ oranı %6.7 olarak saptanmış iken ASA ve klopidogrel kullananlarda %5.2 olarak saptanmıştır(13). Antiagregan kullanımına rağmen AKS olaylarının görülmesi açıklanması gereken bir sorun olarak devam etmektedir.

Biz bu çalışmada asetilsalisilik asit veya klopidogrel kullanırken akut koroner sendrom tanısı alan hastalarda eNOS T786-C gen polimorfizmi ve MDR1 gen polimorfizminin endotel disfonksiyonu ve akut koroner sendrom patolojisindeki yerini araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ateroskleroz

Ateroskleroz ve komplikasyonları günümüz toplumunda en sık ölüme neden olan hastalıklar arasında yer almaktadır. Aterosklerozun patolojisinde birbirini izleyen birçok karmaşık süreç yer almaktadır.

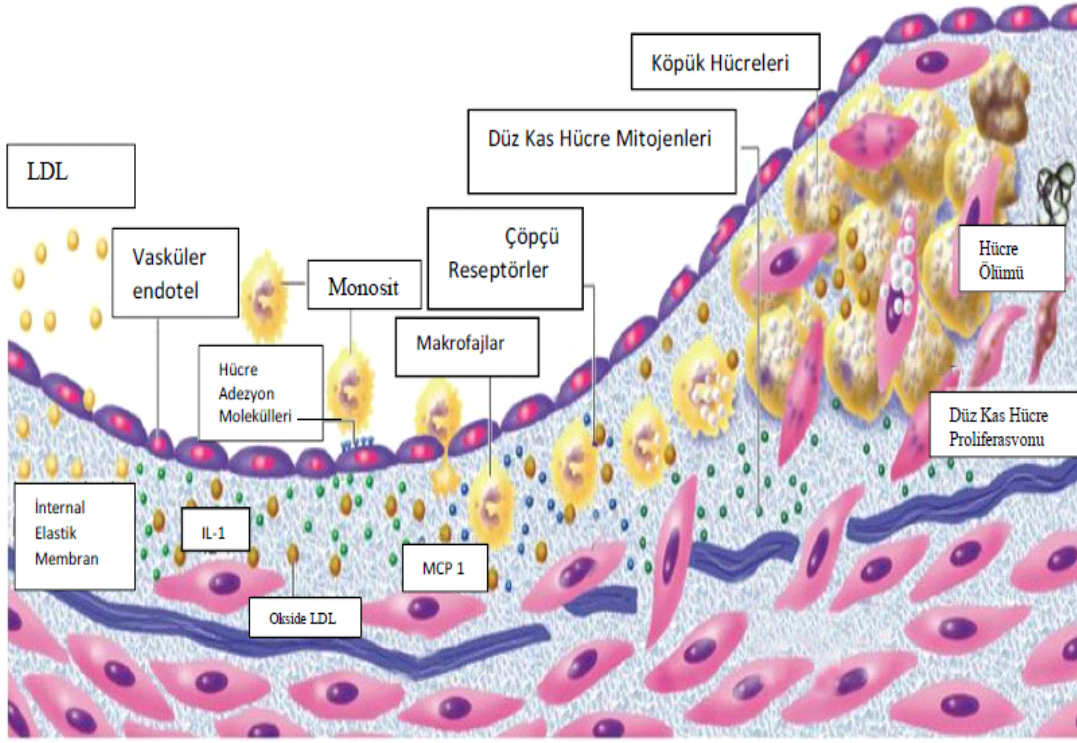
Normal arterin yapısı birbirini takip eden üç katmandan oluşmaktadır. En içte kan ile temas eden intima tabakası, ortada düz kas hücrelerinden zengin media tabakası en dışta ise vaza vazorum ve sinir uçlarının yer aldığı adventisya tabakası. Esas olarak ateroskleroz kolesterolden zengin diyet sonrası intima tabakasında lipit partiküllerinin birikmesi ile başlar (14). Plazmada düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyleri yükseldiği zaman, çok miktarda LDL endotelden geçerek intimaya ulaşır.

Geçirgenliğin arttığı arterlerin dallanma bölgelerinde bu süreç hızlanır. LDL'nin intimadan eliminasyonu sınırlıdır, bu nedenle ekstraselüler matriks içinde tutulur (15).

Matriks proteoglikanlarının LDL'ye ilgisi vardır. LDL, intimada agregasyon ve oksidasyona maruz kalarak komponentlerine ayrışır. Lipit birikimden sonra en önemli faktör LDL'nin oksidasyon ve glikolize uğramasıdır. Okside LDL yüzeyel endotel tabakasından lökosit adezyon moleküllerinin salınmasına neden olur. Kan dolaşımındaki monositler VCAM 1 (Vasküler hücre adezyon molekül 1) aracılığı ile endotel yüzeyine yapışırken ICAM 1 (hücreler arası adezyon molekülü) ile de endotel duvarını aşarak intima içine göç ederler (16-17). Burada intima tabakasına göç ve monosit birikimde rol oynayan faktör ise 1 monosit kemotaktan protein 1 (MCP-1) dir (18,19). Doku içerisine girdikten sonra monositler makrofaj formuna geçerek okside olmuş LDL partiküllerini fagosite etmeye başlayarak lipid ile yüklü köpük hücrelerine dönüşürler. Aşırı lipit yüklü köpük hücrelerinin oluşumunda bir diğer önemli faktör ise bu hücrelerde normal LDL reseptörü yerine SCARA (Scavenger Reseptör A) isimli reseptörün bulunmasıdır(20). İntima içerisindeki köpük hücreleri daha sonra Makrofaj –Koloni Uyarıcı Faktör (M-CSF) ile intima içerisinde çoğalmaya başlar. Yeni oluşan aterom içerisinde buraya kadar lezyon esasen lipit ile yüklü makrofajlardan oluşmaktadır.

İlerleyen süreçte bu lipit yüklü makrofajlar sitokinler, çeşitli eikonazanoitler , trombosit aktive edici faktör gibi proinflamatuvar faktörler yanında süperoksit anyon gibi oksidan maddeleri de plak içerisinde salgılamaya başlarlar. Böylece plak içerisinde kronik infalmatuvar bir süreç başlamış olur.

Bunu takiben aktive olmuş makrofajlar tarafından salgılanan platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) ile media tabakasından intima tabakasına düz kas hücre göçü başlar. Düz kas hücreleri aterom plağında zaman içerisinde çok yavaş olarak çoğalmaktadırlar. Ancak araya giren plak parçalanması gibi inflamasyonun arttığı dönemlerde salgılanan güçlü mitojenlerin etkisiyle hızlı hücre proliferasyonu gösterebilirler. Aynı zamanda plak içerisinde biriken T hücreleri Fas ligand aracılı programlanmış hücre ölümü apoptoz yoluyla da düz kas hücre ölümüne de neden olmaktadır (21) (Şekil1).



Şekil 2 Aterosklerozun gelişim süreçleri (20)

Aterosklerotik plakta önemli bir bileşen de hücre dışı matris öğeleridir. Aslında aterosklerotik plağın hacimsel olarak büyük miktarı hücre dışı matris elemanlarından oluşmaktadır. Hücre dışı matrisse tip I ve tip III gibi interstisyel kollajenler ve versikan, agrekan, biglikan gibi proteoglikanlar yer almaktadır (22). Hücre dışı matris elemanlarının salgılanmasında rol oynayan esas hücreler vasküler düz kas hücreleri, matris birikiminde ve miktarında rol oynayan esas faktörler ise matris metalloproteinazları ve bunların inhibitörleridir. Bu ikisinin arasındaki denge plak stabilizasyonunda önemli bir faktördür.

Zaman içerisinde plak içerisinde düz kas proliferasyonu, köpük hücre birikimi, apoptoz ile ölen hücre debrislerinden oluşan kompleks bir yapı gelişmeye başlar. Lezyon önce damar lümenine doğru değil lümen dışı doğru genişlemeye başlar. İntimanın bu yeniden gelişimi damar kalibrasyonun tümüyle artmasına yol açmaktadır. Plak yükü arterin enine kesitinin %40'ını aştığında ise lümeni daraltmaya başlar (23).

Plak yükü arterin dışı doğru yeniden biçimlenme kapasitesine göre aşırı miktarda olduğunda arter lümeni etkilenmeye ve daralmaya başlar. Lezyonlar zaman içerisinde kesintili bir büyüme paterni izler. Lezyon lümen çapının %60'ını aştığı zaman ise

iskemik semptomlar oluşmaya başlar ve genelde stabil koroner arter hastalığı olarak adlandırılıp anjinal semptomlar ile kendini gösterir.

Spektrumun bir diğer ucunda ise akut koroner sendromların yer aldığı klinik tablolar yer almaktadır. Akut koroner sendromlar plak rüptürü ve akut tromboz gibi patofizyolojik süreçler ile kendini göstermektedir.

2.2 Aterosklerozun Komplikasyonu Olarak Akut Koroner Sendromlar

Birkaç klinik çalışma akut miyokard enfarktüslerinin (AMİ) aslında önemli bir kısmının yüksek dereceli lezyonlardan değil genelde anjiyografik olarak %50 den az darlığa neden olan lezyonlardan kaynaklandığını göstermiştir (24).

Akut koroner sendromlar genelde klinik olarak 2 grupta incelenir: Isırcı ST segment yükselmesi ile kendini gösteren ST elevasyonlu miyokard enfarktüsü (STEMİ) ve ST segment elevasyonu olmayan miyokard enfarktüsü (non-STEMİ).

Akut STEMİ'de temel patolojik mekanizma plak rüptürü sonucu platelet aktivasyonu ve agregasyonunu takiben, intrakoroner trombüs oluşumu ve kan akımının tamamen kesilmesidir. Sunum yetersizliğini takiben akımın tekrar sağlanamaması miyokardiyal nekroz ile sonuçlanır. Yırtılmaya meyilli plaklarda kollajenaz, jektinaz, stromyelizin gibi koruyucu interstisyel matris komponentlerini parçalayan metalloproteinaz düzeylerinde artış vardır (25). Bu metalloproteinazlar ateromatöz erozyonların olduğu plak rüptürü olan bölgelerde aktive makrofajlar ve mast hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Hassas plakların bu özelliğine ek olarak intraluminal basınçlar tarafından indüklenen intravasküler stres, kalp hızı, kan viskozitesi, endojen doku plazminojen aktivatör (t-PA) aktivesi, plazminojen aktivatör inhibitör (PAI-1) seviyeleri, plazma kortizol düzeyleri, plazma epinefrin düzeyleri gibi ek faktörlerin etkisi altındadır (26-28).

Tüm bu faktörlerin hepsi birlikte plak rüptürüne ve koroner tromboza neden olarak STEMİ'nün klinik manifestasyonlarını ortaya çıkarır. Plak yırtılması ile yeterli miktarda trombojenik madde açığa çıkar ve koroner arter lümeni platelet agregatları, fibrin ve

kırmızı kan hücreleri ile tıkanır. Karakteristik olarak tam tıkanan arter beslediği alanda tam ya da tama yakın miyokardiyal nekroza neden olur.

NSTEMİ'deki patofizyoloji STEMI ile aynıdır. AKS sendrom tanımının bir diğer ucunda olması, patofizyolojik bir sınıflama olmasından çok klinik bir tanımlama olmasındandır. Klinik olarak tipik göğüs ağrısını takip eden enzim ve EKG değişikliğinin olması NSTEMİ olarak tanımlanabilir. Aslında hastalığın ilk belirtileri çok uzun zaman önce başlamış olsa da hastalık daha çok akut aterotromboz döneminde fark edilir. Genel olarak STEMI'deki gibi tek bir damarı ilgilendirmekten çok birden fazla damar tutulumu veya tam tıkalı olmayan bir epikardiyal arterin ortaya çıkardığı bir klinik durumdur. Yavaş gelişen ve uzun sürede ortaya çıkan stenoz yeni kollaterallerin oluşmasına neden olur ve miyokardın iskemiye direncini artırır. Miyokardın oksijen istemi ve sunumu arasındaki dengesizliğe neden olan bir durum esnasında ya da plak rüptürü nedeniyle iskemi ve mikroembolilere neden olarak dinamik EKG ve enzim değişikliği ile ortaya çıkar.

2.3 Akut Koroner Sendromlarda Antiagregan Tedavi

Akut koroner sendromlarda antiagregan tedavi, ilaç tedavisinin temel taşlarından biridir. Akut koroner sendromlarda trombüs oluşumu temel patoloji olduğu için ilk basamak ilaçlar genellikle erken hemostazda rol oynayan trombosit agregasyonunu hedef almaktadır.

Endotel hasarını takiben damar endotelinden salgılanan doku faktörü ve dolaşımda bulunan von-Willebrand faktör ile etkileşime giren trombositlerle birlikte trombosit agregasyonu ve adezyonu başlar. Takiben trombositlerden salgılanan tromboxan A2 ile adezyon ve agregasyon artar ve trombosün erken dönemi oluşmuş olur. Ardından da trombin üzerinden fibrin tıkaç oluşarak trombüs yapısını sağlamlaştırır.

Aspirin, siklooksijenaz-I asetilasyonu ile trombositlerde Tromboxan A2 sentezini engelleyerek etki gösterir. Tromboksan potent bir vazokonstrüktör, aynı zamanda trombosit agregasyonu için önemli bir araçtır. Bu sayede trombüs sahasında

trombosit agregasyonunu azaltmış olur. Çekirdeksiz trombositler tekrar siklooksijenaz enzimi sentezleyemedikleri için aspirin, kendisine maruz kalmış trombositlerde 7-10 gün boyunca bu enzimin etkilerini bloke etmiş olur. Aspirin kullanıma girmesi ile akut koroner sendromlarda mortalitede %50 ye varan azalma izlenmiştir (29-30). Aspirin dört randomize çalışmada 75-150 mg dozunda kullanılmış ve her çalışmada Mİ ya da ölüm oranlarında %50 azalma sağlanmıştır (29-31). Yine ISIS-2 çalışmasında 160 mg/gün dozunda mortalitede yararlı etkisi gözlenmiş ve başlangıç dozu olarak önerilmiştir (32). Kronik tedavide ile ilgili yapılan bir çalışmada aspirin direnci belirlenmiş hastalarda tekrarlayan kardiyak olay yaşama ihtimalleri daha yüksek bulunmuştur (33).

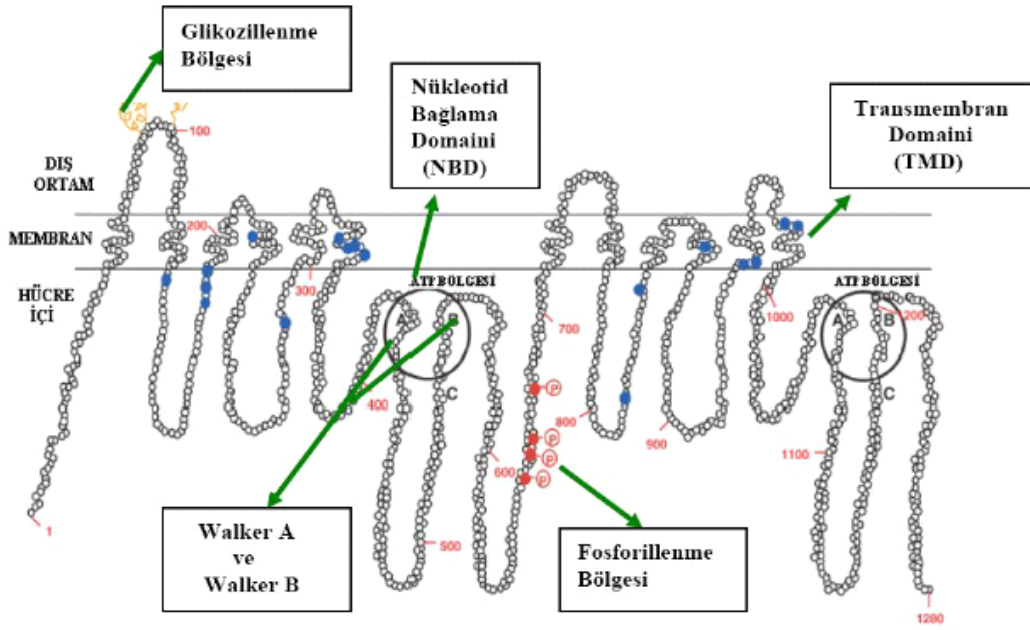
Akut koroner sendromlarda kullanılan bir diğer antiagregan ilaç ise bir tienopiridin türevi olan klopidogrel'dir. Etkisini trombositler üzerindeki adenosin difosfat (ADP) reseptörlerini inhibe ederek ortaya koyarlar (34). Özellikle bu etkilerini ADP reseptörlerinin P2Y12 komponentini inhibe ederek gösterirler. Bu reseptörün blokajı ile sadece ADP ile tetiklenen trombosit aktivasyonunu engellemekle kalmayıp aynı zamanda von-Willebrand faktörü gibi dış etkilere bağlı trombosit aktivasyonu da azalır (35). Aspirine klopidogrel eklenmesi CURE çalışması ile test edilmiş ve kardiyovasküler ölüm, Mİ, inme, yüksek veya düşük riskli NSTEMİ hastalarında tek başına aspirine göre %20 azalma sağlamıştır (36). Akut koroner sendrom tanısında 300-600 mg dozlarında kullanılmış ve iyi tolere edilmiştir (37).

2.4 Mdr1 Gen Polimorfizmi Ve P-Glikoproteini

Günümüzde ilaç direncini açıklayan bir çok mekanizma ortaya konmuştur. P-gp (permablite glikoprotein), transmembran ilaç atılım pompası olarak fonksiyon görmektedir ve ilaç direncine neden olan önemli mekanizmalardan biridir (38). 1280 amino asit uzunluğunda ve 170 kDa büyüklüğünde bir molekül olup insanlarda 7. kromozomda lokalize MDR1 geninin ürünüdür (39).

P gp ince bağırsak, hepatosit membranı, kan-beyin bariyeri, böbrek proximal hücreleri gibi bölgelerde bulunmakta ve yabancı maddelerin atılımına yardım etmektedir. İntestinal absorpsiyon hepatik ve üriner salgılamada P-gb inhibisyon ve indüksiyonu substratların emilim ve atılımında farklılıklara neden olmaktadır.

P-glikoprotein, ATP-Binding Cassette (ABC) superfamilyası olarak bilinen taşıyıcı protein ailesine üyedir (40). Bu protein yapıdaki taşıyıcı ailesinde iki ATP bağlama bölgesi bulunmaktadır. ABC superfamilyası içinde yer alan P-gp, fosforillenmiş ve glikozillenmiş bir protein olup 170 kDa ağırlığındadır (41). 1280 amino asit içeren P-gp, birbirine benzeyen iki kısımdan oluşmuştur; Her bir kısım, bir nükleotid bağlama bölgesi (NBB) ve yüksek oranda hidrofobik olan altı transmembran bölgesi (42) (Şekil 2).



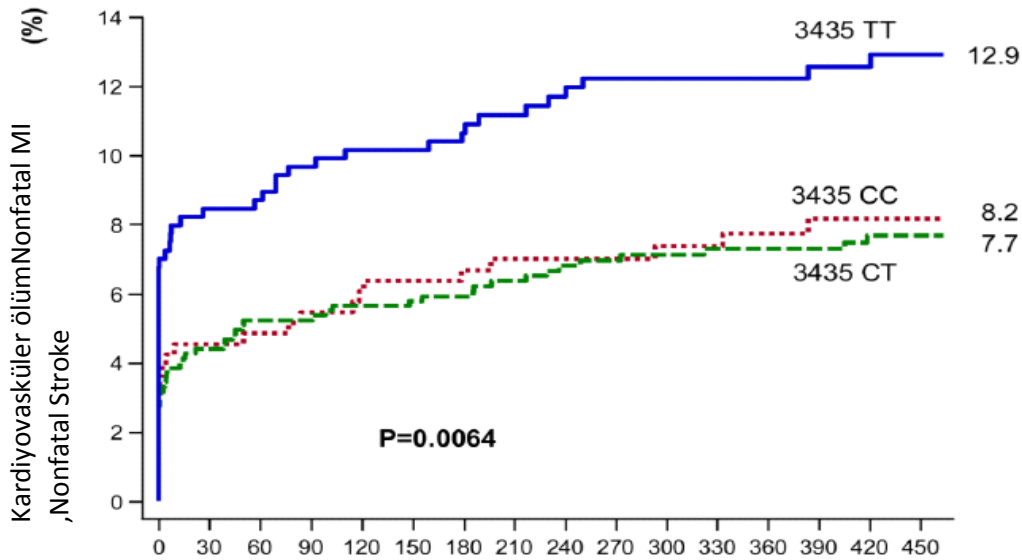
Şekil 3 P glikoprotein'in 2 boyutlu yapısı (42)

Transmembran proteinlerin ilaç, toksin vb diğer moleküllerin membrandan geçişinde rol oynadığı düşünülmektedir. Her bir nükleotid bağlama bölgesi Walker A ve B olarak isimlendirilen iki bölgeden meydana gelmiştir. Bu bölgelerin ATP'az görevi üstlendiği ve nükleotidlerin bağlanmasında görev aldığı düşünülmektedir (41). P-gp aktivitesi için ATP gerekmekte olup, ATP bağlayıcı domainler ATPaz olarak işlev görmekte P-gp'nin substratları membranın dışına çıkarmada gerekli enerjiyi sağlamaktadır. ATP'nin bağlanması ile P-gp'de yapısı değişmekte ATP'nin hidrolizi ile de transport gerçekleşmektedir (43).

P-gp ATP bağımlı akış pompası olarak görev yaparak endojen ve eksojen maddelerin transportunda görev alır. P-gp'ni normal dokulardaki fizyolojik varlığı bir çok ilaç ve toksinin detoksifikasyonunda rol almakta ve hücrel savunmada yer almaktadır (44).

P-glikoprotein, ilacın bağlandığı taşıyıcı proteini hücre dışına pompaladığının düşünülmesine rağmen, direkt olarak ilaca bağlandığı yönünde de kanıtlar bulunmaktadır (45). P-gp, ilaçları modifiye olmamış formuyla taşımaktadır. İlaçların hücre dışına akışını arttırarak, hücre içi konsantrasyonunu düşürmekte ve sonuçta birçok sitotoksik antikanser ilaca karşı bir direnç oluşturmaktadır (46).

MDR1 genin kodladığı P-gp'nin özellikle 3435C→T gen polimorfizmine sahip bireylerde klopidogrel tedavisi altında tekrarlayan kardiyak olay yaşama ihtimalini arttırdığı gösterilmiştir (12). TIRITON TIMI 38 çalışmasının genetik analizlerinde özellikle 3435C→T gen polimorfizmi incelenmiş, bu polimorfizm sonucunda üç farklı fenotip araştırılmıştır. CC homozigot bireyler, CT heterozigot bireyler ve TT homozigot bireyler çalışma esnasında primer kardiyak olay, inme ve ölüm açısından değerlendirilmiş ve TT homozigot bireylerin tekrarlayan kardiyak olay yaşama ihtimali anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Şekil 3).



Şekil 4 TRITON TIMI 38 çalışması. Klopidogrel alan hastalarda MDR1 gen polimorfizminin primer son noktalara etkisi

2.5 Nitrik Oksit Ve eNOS T786 Gen Polimorfizmi

Nitrik Oksit, endotel hücrelerinden üretilip salgılanır ve vasküler yapılarda gevşeme ile sonuçlanan kimyasal bir reaksiyon başlatır. NO, membranlardan kolayca geçebilen, hidrofobik, küçük bir molekül olup 5-10 saniye yarılanma ömrü olan bir gazdır (47-48). Pek çok hücrede nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesi tarafından, endojen bir aminoasit olan L-argininin terminal guanidin grubunun NO'e çevrilmesiyle üretilir (49-50). 5-10 saniye arasında değişen yarı ömrü nedeniyle hücre dışı alanda sadece lokal bir etkiye sahiptir. NOS enziminin üç formu bulunmaktadır. Endotelial NO, nöronal NO ve indüklenebilir NO.

Endotelial NO özellikle kardiyovasküler etkileri üzerinde durulan ve sıkça çalışma konusu olmuş bir NO formudur. eNOS ürünü olan NO'in düz kas hücrelerinde gevşeme, aktive trombosit oluşumunun engellenmesi, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşmasının engellenmesi, vasküler endotelden salınan endotelin salınımının düzenlenmesi gibi görevleri mevcuttur (51, 52). Bir çok uyarıcı endotelden nitrik oksit salınımını artırır. Bunların arasında en kuvvetli uyarıcı ise vasküler endotelin maruz kaldığı akım kuvvetidir (shear stress) (53). Asetilkolin, bradikinin, serotonin, substans P, norepinefrin, histamin, trombin gibi pek çok mediyatör ise yine NO sentez ve salınımını artırır. Bahsedilen mediyatör ve fiziksel uyarıcılar sonucu endotel yüzeyinde bulunan G-proteininde yapısal değişiklik meydana gelir ve fosfolipaz-C aktiflenir. Fosfolipaz-C, fosfatidilinositolbifosfat'ı (PIP2) inositoltrifosfata (IP3) dönüştürür. Sitoplazmada IP3 seviyesinin artışı endoplazmik retikulumda depolanan Ca^{2+} ' un sitoplazmaya geçişini tetikler. Sitozolda oluşan Ca^{2+} /kalmodulin kompleksinin NOS'ı aktiflemesi sonucu Larginin ve O_2 ' den, sitrülin ve NO sentezlenir (54-55)

Endotel hücrelerinden salınan NO çevre dokuda farklı etkiler yol açar. cGMP üzerinden etkisini gösteren NO vasküler düz kaslarda gevşeme, trombosit agregasyonun inhibisyonu, monosit ve makrofajların adezyonun engellenmesi, endotel geçirgenliğinin azalması gibi parakrin etkilere yol açar.(56-57)

NO, çevre dokulara diffüzyon yoluyla hızla dağıldıktan sonra kısa sürede etkisi sonlandırılır. NO'in etkisinin sonlandırılmasında eritrositler ve çevre dokularda bulunan

myoglobinlerde bulunan hem yapılı bileşikler görev alır. Hemoglobin veya myoglobine bağlanan NO NO₂ (nitrit) ve NO₃ (nitrat) bazlı bileşikler olarak atılır (58). eNOS salınımının düzenleyicisi olan e-NOS geni, 7q 32 → 7q terminal bölgesinde yer alır.

eNOS geni 26 ekson içerir ve yaklaşık olarak 21 kilobazlık genomik DNA' dan oluşur. eNOS geninin kodladığı mRNA 4052 nükleotid içerir ve haploid genomda tek kopya olarak bulunur (59). eNOS gen polimorfizmi çeşitli çalışmalarda araştırılmış ve farklı genetik polimorfizim örneklerinin kardiyovasküler hastalıklar ile bağlantıları ortaya konmuştur. Glu298Asp polimorfizmi, 4a/4b polimorfizmi , T-786C polimorfizmi en sık incelenen genetik polimorfizmler olup bu genetik yapıya sahip kişilerde kardiyovasküler hastalıklar ve hızlanmış aterosklerozun daha sık olduğu izlenmiştir. Tangürek ve ark. Türk toplumunda T-786C gen mutasyonunu incelemiş, CC homozigot ve CT heterozigot bireylerde koroner arter hastalığı sıklığı ve şiddetini anlamlı olarak fazla bulmuşlardır. CC genotipi , normal bireylere kıyasla koroner arter hastalarında daha sık izlenirken, CC genotipine sahip koroner arter hastalarında 3 damar tutulumu da daha sık izlenmiştir (10).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Çalışmaya 18 Mart Üniversitesi Kardioloji A.D'na akut koroner sendrom tanısı ile başvuran, yaşları 18-80 yaş arasında olan toplam 90 hasta alındı. Hastalar asetilsalisilik asit ve klopidogrel kullanımlarına göre, öncesinde anti-agregan tedavi kullanan ve kullanmayan olarak, çalışma ve kontrol gruplarına ayrıldı. Hastalara akut koroner sendrom tanısı uluslararası kılavuzlarda belirtilen laboratuvar ve klinik tanımlamalara uygun olarak konuldu. Hastaların acil servise başvuru esnasında çekilen elektrokardiyografilerinde 1mm> ST elevasyonu ile birlikte tipik göğüs ağrısı olması STEMI, iskemik ST segment değişiklikleri ile birlikte tipik göğüs ağrısı ve/veya enzim yüksekliği olması NSTEMI olarak kabul edildi. Çalışmaya yalnız troponin değerleri belirlenen laboratuvar değerlerinin üzerinde olan hastalar alındı. Troponin değerleri normal sınırlarda olan hastalar çalışmaya alınmadı. Onsekiz yaşından küçük seksen yaşından büyük, böbrek yetmezliği olup hemodiyalize giren hastalar, ciddi karaciğer yetmezliği, romatizmal hastalığı olanlar, kanser hastaları, çalışmaya katılmayı kabul etmeyen hastalar çalışmaya alınmadı.

3.2 Yöntem

Periferik venlerden alınan venöz kan örnekleri -20 C de EDTA'lı tüplerde saklandı. 90 hastanın DNA genotipi real-time PCR tekniği kullanılarak çıkarıldı.

DNA İzolasyonu

Total genomik DNA EDTA'lı tüpe alınmış olan periferik kandan QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini Kit kullanılarak elde edilmiştir. DNA izolasyonu prosedürü şu şekilde yapılmıştır:

1. 20 µl QIAGEN Proteaz (ya da proteinaz K) 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpünün dip kısmına alınmıştır.
2. Mikrosantrifüj tüpüne 200 µl örnek (periferik kan) eklenmiştir. Örnek miktarı 200 µl'den az ise gerekli miktar oluşana kadar PBS eklenmiştir. RNA-free genomik DNA kullanılacaksa 4 µl RNase solusyonu eklenmiştir.
3. Örneğe 200 µl Buffer AL eklenmiş, 15 saniye vortekslenmiştir.
4. 56 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
5. Mikrosantrifüj tüpü kısa santrifüj edilmiştir.
6. Örneğe % 96-100'lük 200 µl etanol eklenmiş ve 15 saniye vortekslenmiştir. Kısa santrifüj yapılmıştır.
7. Karışım QIAamp Mini spin kolona (2 ml'lik toplama tüpü) tüpün kenarları ıslatılmadan aktarılmıştır. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Spin kolon, temiz bir 2 ml'lik toplama tüpüne alınmıştır, filtratı içeren toplama tüpü atılmıştır.
8. Spin kolona 500 µl AW1 buffer eklenmiştir. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Spin kolon, temiz bir 2 ml'lik toplama tüpüne alınmıştır, filtratı içeren toplama tüpü atılmıştır.
9. Spin kolona 500 µl AW2 buffer eklenmiştir. 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir.
10. Spin kolon, temiz bir 2 ml'lik toplama tüpüne alınmıştır, filtratı içeren toplama tüpü atılmıştır. En yüksek devirde 1 dakika santrifüj edilmiştir.
11. Spin kolon, temiz bir 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alınmıştır, filtratı içeren toplama tüpü atılmıştır. Spin kolona 200 µl AE buffer ya da distile su eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilmiştir ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

Hedef genler Real Time PCR LightCycler 2.0 methods (Roche) ile genotiplendirildi. LightCycler FastStart DNA Master HybProbes, master mix (water, PCR-grade, MgCl₂, stock solution, Primer mix, HybProbe mix) ve DNA kalıpları real-time amplifikasyon için kullanıldı.

MDR1 genotiplendirmesi için protokole 30 saniye 95°C'de denatürasyon basamağı ile başlandı; takiben amplifikasyon basamağı için 45 tur 95°C 5 saniye, 5 saniye 55°C'de, ve 8 saniye 72°C'de; ve melting curve analizi için 30 saniye 95°C, takiben 2 dakika 40°C'de, 0.1 saniye (sürekli) 80°C'de, soğutma basamağında 30 saniye 40°C 'de bekletildi. Yazılım programı (LightCycler 2.0, Roche) kullanılarak hedef MDR1 gen mutasyonları saptandı. eNOS genotiplendirilmesi amacı ile protokole, denatürasyon 95 °C'de 10 dakika, kuantifikasyon 45 döngü 95 °C'de 5 saniye, 60 °C'de 10 saniye ve 72 °C'de 15 saniye, erime-melting 95 °C'de 20 saniye, 40 °C'de 20 saniye ve 85 °C'de 0.2 devamlı mod, soğutma 40 °C'de 30 saniye olarak uygulanmıştır. Yazılım programı kullanılarak hedef eNOS gen mutasyonları saptandı.

4. BULGULAR

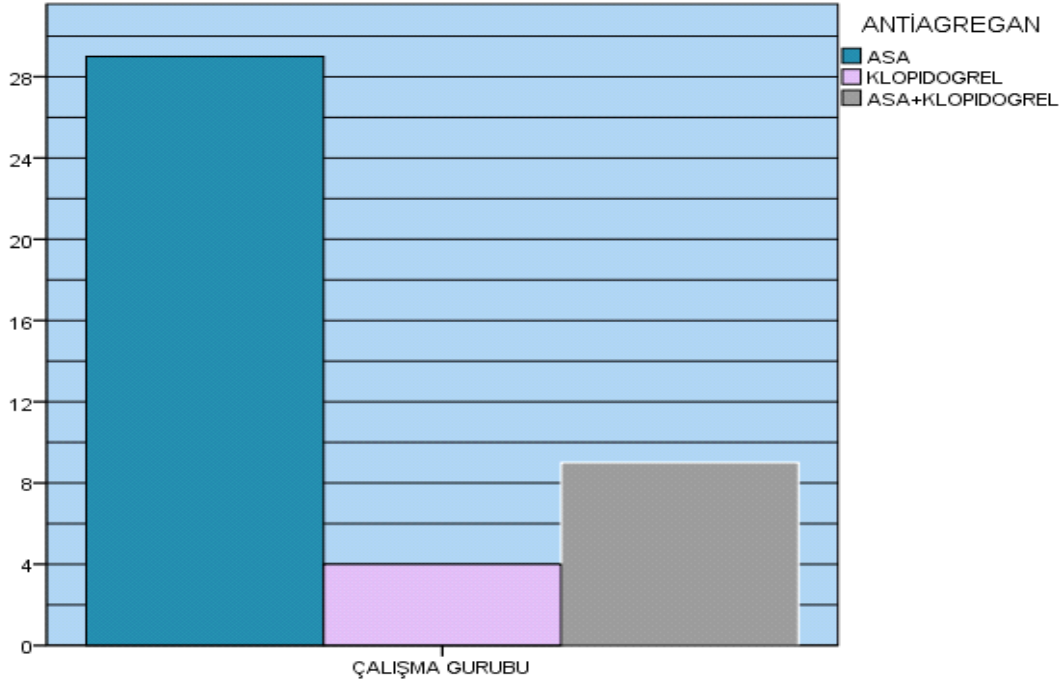
Çalışmaya toplam 90 hasta alındı. Hastaların 42 tanesi antiagregan tedavi alan çalışma grubuna, 48 tanesi kontrol grubunda idi. Çalışma grubunda ortalama yaş 65,1±9 (kadın 27, erkek 15), kontrol grubunda 60,5±8,9 (36 erkek,12 kadın) idi. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark izlenmezken, her iki grupta da beklendiği üzere erkek hasta sayısı daha sık izlendi. Çalışma ve kontrol grubu arasında yaş açısından anlamlı farklılık izlendi ve çalışma grubunda yaş daha ileri saptandı (p=0,018).

Hastaların aile öyküsü, hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı, diyabet öyküsü, periferik arter hastalığı, kronik böbrek hastalığı varlığı sorgulandı. Hastaların klinik özellikleri tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1 Hastaların klinik ve demografik özellikleri

Klinik özellikler	Çalışma grubu N=42	Kontrol grubu N=48	p Değeri
Yaş	65,1±9	60,5±8,9	0,018
Kadın, n (%)	15 (37,2)	12 (25)	
Erkek, n (%)	27 (62,8)	36 (75)	0,270
Diyabet, n (%)	15 (34,9)	15 (31,3)	0,713
Hipertansiyon, n (%)	31 (72,1)	23 (47,9)	0,019
Hiperlipidemi, n (%)	23 (53,5)	6 (12,5)	<0,001
Sigara, n (%)	19 (44,2)	33 (68,8)	0,018
Aile Öyküsü, n (%)	3 (7,0)	5 (10,4)	0,563
Periferik Arter Hastalığı, n (%)	1 (2,3)	1 (2,1)	0,937
Serebrovasküler Hastalık, n (%)	3 (7,0)	2 (4,2)	0,557
Kalp Yetmezliği, n (%)	3 (7,0)	-	0,06
Koroner Bypass, n(%)	5 (11,6)	-	0,015

Çalışma grubunda 29 hasta ASA,6 hasta klopidogrel, 7 hasta ASA ve klopidogrel birlikte kullanmakta idi (Şekil 4.)



Şekil 5 Çalışma grubunda antiagregan kullanımı

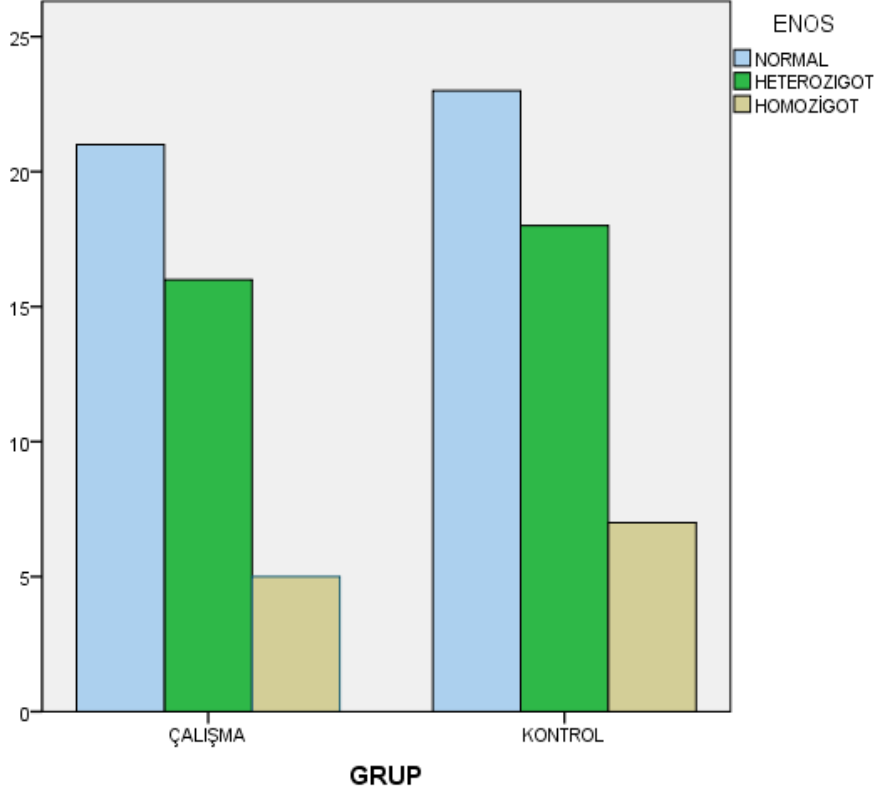
Çalışma grubuna alınan hastaların MDR1 ve eNOS tek gen polimorfizmi ve alel frekansları hesaplandı. Sonuçlar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 2. eNOS tek gen polimorfizminin gruplar arasında dağılımı

	ÇALIŞMA	KONTROL	<i>p</i> değeri
T/T Homozigot, n (%)	21 (50,0)	23 (47,9)	<i>p</i> =0,931
C/T Heterozigot, n (%)	16 (38,1)	18 (37,5)	
C/C Homozigot, n (%)	5 (11,99)	7 (14,6)	

eNOS tek gen polimorfizim açısından hastalar değerlendirildiğinde çalışma grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmedi ($p=0,931$). Çalışma grubunda C aleli taşıyan homozigot birey sayısı $n=5$ (%11,9) kontrol grubunda ise $n=7$ (%14,6) idi. C aleli taşıyan heterozigot birey sayısı ise çalışma grubunda $n=16$ (%38,1) kontrol grubunda ise $n=18$ (%37,5) idi. C aleli taşıyan toplam birey sayısı ise $n=46$ (%51,1) idi.

Bu bulgular ile antiagregan tedavi kullanımı ile eNOS gen polimorfizmi arasında ilişki saptanmadı.



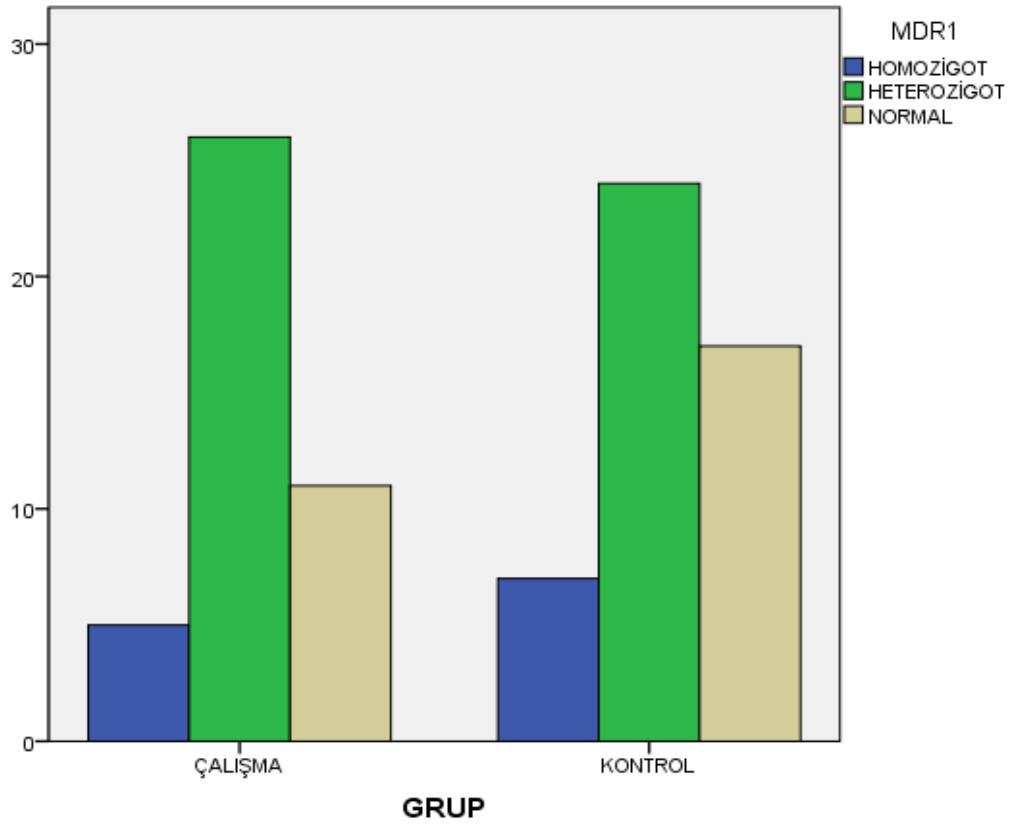
Şekil 6 eNOS tek gen polimorfizmi açısından hastaların dağılımı

MDR1 tek gen polimorfizim açısından hastalar değerlendirildiğinde çalışma grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmedi ($p=0,521$). Çalışma grubunda T aleli taşıyan homozigot birey sayısı $n=5$ (%11,9) kontrol grubunda ise $n=7$ (%14,6) idi. T aleli taşıyan heterozigot birey sayısı ise çalışma grubunda $n=26$ (%61,9) kontrol grubunda ise $n=24$ (%50,0) idi. T aleli taşıyan toplam birey sayısı ise $n=62$ (%68,9) idi.

Tablo 3. MDR1 tek gen polimorfizminin gruplar arasında dağılımı

	ÇALIŞMA	KONTROL	P value
T/T Homozigot, n (%)	5 (11,9)	7 (14,6)	p=0,521
C/T Heterozigot, n (%)	26 (61,9)	24 (50,0)	
C/C Homozigot, n (%)	11 (26,2)	17 (35,4)	

Bu bulgular ile antiagregan tedavi kullanımı ile MDR1 gen polimorfizmi arasında ilişki saptanmadı.



Şekil 7 MDR1 tek gen polimorfizminin dağılımı

Hastalar alel frekanslarına göre yeniden dağılım yapıldığı zaman ise aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 4. MDR1 İçin Alel Frekansları

MDR1 Tek Gen Alel Dağılımı		Alel frekansı	OR ,CI , P değeri
C Aleli	Çalışma n=48	0,57	OR=0,90 CI 0,56-1,61 p=0,73
	Kontrol n=58	0,54	
T Aleli	Çalışma n=36	0,42	
	Kontrol n=48	0,45	

Tablo 5. eNOS İçin Alel Frekansları

eNOS Tek Gen Alel Dağılımı		Alel frekansı	OR, CI , P değeri
C Aleli	Çalışma n=26	0,30	OR=0,89 CI=0,47-1,67 p=0,73
	Kontrol n=58	0,33	
T Aleli	Çalışma n=58	0,69	
	Kontrol n=48	0,66	

Her iki genetik polimorfizmin alel frekansları arasında da anlamlı fark izlenmemiştir.

Aynı zamanda çalışma ve kontrol grupları arasında MDR1 ve eNOS genetik polimorfizmini taşıyan homozigot ve heterozigot bireylerin birlikteliğine bakıldı. Bu iki genetik polimorfizmi aynı anda taşıyan birey sayısı çalışma grubunda n=10 (%23,8) iken, kontrol grubunda n=11(%22,9) idi ve gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi (p=0,920).

Tablo 6. MDR1 ve eNOS heterozigot bireylerin dağılımı

		Her iki heterozigot genotipi taşıyan bireyler	Her iki heterozigot genotipi taşımayan bireyler
Mdr1 ve Enos Heterozigot Bireyler	ÇALIŞMA %	32 76,2%	10 23,8%
	KONTROL %	37 77,1%	11 22,9%
	Toplam %	69 76,7%	21 23,3%

Homozigot bireylerin dağılımını içeren tablo aşağıda özetlenmiştir. Çalışma grubunda n=2 (%4,8) bireyde genetik polimorfizm birlikteliği izlenirken kontrol grubunda hiçbir bireyde bu iki genin homozigot birlikteliği izlenmemiştir. Çalışma ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir(p=0,126)

Tablo 7 MDR1 ve eNOS homozigot bireylerin dağılımı

		Her iki homozigot genotipi taşıyan bireyler	Her iki homozigot genotipi taşımayan bireyler
MDR1 Ve Enos Homozigot Bireyler	ÇALIŞMA %	40 95,2%	2 4,8%
	KONTROL %	48 100,0%	0 0,0%
	Toplam %	88 97,8%	2 2,2%

Hastalar subgrup analizlerine göre tekrar değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

Tablo 8 Hastaların genotiplerine göre subgrup analizleri

Grup özellikleri	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	OR, CI, p value
65 > Yaş Üzeri Bireyler			
MDR1	n= 4 (T/T) Homozigot n=14 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot Toplam =20	n= 4 (T/T) Homozigot n=6 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot Toplam =12	OR = 2,85 CI= 1,12 – 7,19 p=0,026
	T aleli taşıyan birey sayısı=18	T aleli taşıyan birey sayısı=10	
eNOS	n= 10 (T/T)Homozigot n=7 (C/T)Heterozigot n=3 (C/C) Homozigot Toplam=20 C aleli taşıyan birey sayısı=10	n= 7 (T/T) Homozigot n=3 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot Toplam=13 C aleli taşıyan birey sayısı=5	OR= 2,28 CI= 0,83-8,63 P=0,096
Erkek Cinsiyet			
MDR1	n= 3 (T/T) Homozigot n=14 (C/T)Heterozigot n=9 (C/C) Homozigot Toplam=26 T aleli taşıyan birey sayısı=17	n= 5 (T/T) Homozigot n=18 (C/T)Heterozigot n=13 (C/C) Homozigot Toplam=36 T aleli taşıyan birey sayısı=23	OR= 0,73 CI= 0,32-1,70 P=0,479
eNOS	n= 12 (T/T)Homozigot n=11 (C/T)Heterozigot n=3 (C/C) Homozigot Toplam=26 C aleli taşıyan birey sayısı=14	n= 18 (T/T)Homozigot n=13 (C/T)Heterozigot n=5 (C/C) Homozigot Toplam=36 C aleli taşıyan birey sayısı=18	OR= 0,83 CI= 0,34 -1,98 P= 0,680

Kadın Cinsiyet			
MDR1	n= 2 (T/T) Homozigot n=12 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	n= 2 (T/T) Homozigot n=6 (C/T)Heterozigot n=4 (C/C) Homozigot	OR= 2,50 CI= 0,92 -6,75 P= 0,070
	Toplam=16 T aleli taşıyan birey sayısı=14	Toplam=12 T aleli taşıyan birey sayısı=8	
eNOS	n= 9 (T/T) Homozigot n=5 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	n= 5 (T/T) Homozigot n=5 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	OR= 1,17 CI= 0,37 -3,66 P= 0,787
	Toplam=16 C aleli taşıyan birey sayısı=7	Toplam=12 C aleli taşıyan birey sayısı=7	
Diabetes Mellitus			
MDR1	n= 1 (T/T) Homozigot n=10 (C/T)Heterozigot n=4 (C/C) Homozigot	n= 3 (T/T) Homozigot n=8 (C/T)Heterozigot n=4 (C/C) Homozigot	OR= 1,14 CI= 0,44- 2,90 P= 0,779
	Toplam=15 T aleli taşıyan birey sayısı=11	Toplam=15 T aleli taşıyan birey sayısı=11	
eNOS	n= 9 (T/T) Homozigot n=4 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	n= 8 (T/T) Homozigot n=6 (C/T)Heterozigot n=1 (C/C) Homozigot	OR= 0,97 CI= 0,30 -3,14 P= 0,970
	Toplam=15 C aleli taşıyan birey sayısı=6	Toplam=15 C aleli taşıyan birey sayısı=7	

Hipertansiyon			
MDR1	n= 4 (T/T) Homozigot n=20 (C/T)Heterozigot n=7 (C/C) Homozigot	n= 3 (T/T) Homozigot n=12 (C/T)Heterozigot n=8 (C/C) Homozigot	OR=1,54 CI= 0,75- 3,14 P= 0,232
	Toplam=31 T aleli taşıyan birey sayısı=27	Toplam=23 T aleli taşıyan birey sayısı=20	
eNOS	n= 16 (T/T)Homozigot n=10 (C/T)Heterozigot n=5 (C/C) Homozigot	n= 11 (T/T)Homozigot n=8 (C/T)Heterozigot n=4 (C/C) Homozigot	OR= 1,42 CI= 0,60-3,39 P= 0,418
	Toplam=31 C aleli taşıyan birey sayısı=15	Toplam=23 C aleli taşıyan birey sayısı=12	
Hiperlipidemi			
MDR1	n= 2 (T/T) Homozigot n=15 (C/T)Heterozigot n=6 (C/C) Homozigot	n= 1 (T/T) Homozigot n=3 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	OR=7,48 CI=2,26- 24,70 P=0,001
	Toplam=23 T aleli taşıyan birey sayısı=17	Toplam=6 T aleli taşıyan birey sayısı=4	
eNOS	n= 12 (T/T)Homozigot n=8 (C/T)Heterozigot n=3 (C/C) Homozigot	n= 2 (T/T) Homozigot n=2 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	OR=3,90 CI=1,13-13,39 P=0,034
	Toplam=23 C aleli taşıyan birey sayısı=11	Toplam=6 T aleli taşıyan birey sayısı=4	

Sigara			
MDR1	n= 1 (T/T) Homozigot n=10 (C/T)Heterozigot n=7 (C/C) Homozigot	n= 6 (T/T) Homozigot n=16 (C/T)Heterozigot n=11 (C/C) Homozigot	OR=0,41 CI=0,17 – 1,02 P=0,056
	Toplam=18 T aleli taşıyan birey sayısı=11	Toplam=33 T aleli taşıyan birey sayısı=22	
eNOS	n= 8 (T/T)Homozigot n=8 (C/T)Heterozigot n=2 (C/C) Homozigot	n= 15 (T/T) Homozigot n=13(C/T)Heterozigot n=5 (C/C) Homozigot	OR=0,52 CI=0,20 -1,30 P=0,164
	Toplam=18 C aleli taşıyan birey sayısı=10	Toplam=33 C aleli taşıyan birey sayısı=18	
Aile öyküsü			
Mdr1	n= 1 (T/T) Homozigot n=2 (C/T)Heterozigot n=0 (C/C) Homozigot	n= 2 (T/T) Homozigot n=1 (C/T)Heterozigot n=1 (C/C) Homozigot	OR=1,18 CI=0,22-6,21 P=0,8415
	Toplam=3 T aleli taşıyan birey sayısı=3	Toplam=4 T aleli taşıyan birey sayısı=3	
eNOS	n= 1 (T/T) Homozigot n=1 (C/T)Heterozigot n=1 (C/C) Homozigot	n= 4 (T/T) Homozigot n=1 (C/T)Heterozigot n=0 (C/C) Homozigot	OR=0,67 CI=0,15-1,73 P=0,612
	Toplam=3 C aleli taşıyan birey sayısı=2	Toplam=5 C aleli taşıyan birey sayısı=1	

BMI>25			
Mdr1	n= 6 (T/T) Homozigot n=17 (C/T)Heterozigot n=4 (C/C) Homozigot	n= 14 (T/T) Homozigot n=15 (C/T)Heterozigot n=6 (C/C) Homozigot	OR=0,83 CI=0,5-1,95 P=0,680
	Toplam=27 T aleli taşıyan birey sayısı=23	Toplam=35 T aleli taşıyan birey sayısı=29	
Enos	n= 12 (T/T) Homozigot n=11 (C/T)Heterozigot n=4 (C/C) Homozigot	n= 18 (T/T) Homozigot n=11 (C/T)Heterozigot n=6 (C/C) Homozigot	OR=1,01 CI=0,42-2,40 P=0,976
	Toplam=27 C aleli taşıyan birey sayısı=15	Toplam=35 C aleli taşıyan birey sayısı=17	

Altgrup analizlerine bakıldığında her iki grup arasında çeşitli farklılıklar saptanmıştır.

65 yaş üzeri bireylerde MDR1 genetik polimorfizmi açısından T alel frekansı çalışma grubunda (%56,5) kontrol grubuna (%31,2) kıyasla daha fazla saptanmıştır.(OR=2,85; CI= 1,12 – 7,19; p=0,026). 65 yaş üzeri grupta hastalar eNOS polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde C alel frekansı çalışma grubunda (%30,3) kontrol grubuna (%15.1) oranla fazla olmasına rağmen istatistiksel fark izlenmemiştir (OR= 2,28; CI= 0,83-8,63; P=0,096).

Cinsiyete göre hastalar tekrar değerlendirildiğinde, erkek hastaların MDR1 genetik polimorfizmi açısından kontrol grubunda (n=23 %37,5) çalışma grubuna (n=17 %27,4) kıyasla daha fazla gözlemlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir (OR= 0,73; CI= 0,32-1,70; P=0,47), eNOS bakımından ise anlamlı fark izlenmemiştir (OR= 0,83; CI= 0,34 -1,98; P=0,68). Kadın cinsiyet açısından hastalar değerlendirildiğinde MDR1 grubunda kadın cinsiyetin çalışma grubunda (n=14 %50) kontrol grubuna (n=8 %28,5) oranla daha sık izlendiği ancak istatistiksel fark

oluşturmadığı gözlemlendi (OR= 2,50; CI= 0,92-6,75; p= 0,070). eNOS bakımından ise anlamlı fark izlenmedi. (OR= 1,17; CI= 0,37 -3,66; p= 0,785)

Aile öyküsü, BMI>25 olan hastalar, DM ve HT açısından hastalar değerlendirildiğinde MDR1 ve eNOS gruplarında çalışma ve kontrol grupları arasında anlamlı fark izlenmez iken, HPL grubunda MDR1 ve eNOS genetik polimorfizminin (homozigot ve heterozigot bireylerin) çalışma grubunda (n=17 %58,6) kontrol grubuna (n=4 %13,7) oranla daha fazla izlendiği gözlemlenmiştir (MDR1 için OR=7,48; CI=2,26-24,70; P=0,001, eNOS için OR=3,90; CI=1,13-13,39; P=0,030). Sigara içen bireylerde ise MDR1 genetik polimorfizmi kontrol grubunda (n=22 %43,1) çalışma grubuna (n=11%21,5) oranla istatistiksel olarak daha fazla izlenmiştir. (OR=3,90; CI=1,13-13,39; P=0,030). eNOS bakımından ise fark izlenmemiştir. (OR=0,52; CI=0,20 -1.30; P=0,164)

Hastaların koroner arter hastalığı yaygınlığı ve genetik polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde heterozigot eNOS, heterozigot MDR1 ve ikisini birlikte taşıyan bireylerde 3 damar hastalığının daha sık izlendiği gözlenmiştir.

Yaygın damar hastalığı olan MDR1 heterozigot birey sayısı, çalışma grubunda n=11 (%26,2) kontrol grubunda n=4 (%8.3) (p=0,030; CI=1,13-13,39; OR=3,90) iken, eNOS heterozigot birey sayısı çalışma grubunda n=9 (%21,4) kontrol grubunda n=2 (%4.2) (p= 0.0241; CI=1,27-30,94; OR=6.27) idi. Her iki genetik polimorfizmi birlikte taşıyan heterozigot bireylerin sayısının yaygın damar hastalarında daha sık izlendiği gözlemlenmiştir. eNOS ve MDR1 heterozigot genotiplerini birlikte taşıyan birey sayısı çalışma grubunda n=6 (%14.3), kontrol grubunda n=2 %4.2 (p=0,112; CI=0.72-20,13; OR=3.83) olup çalışma grubunda daha sık izlemesine rağmen anlamlı istatistiksel sonuç elde edilmemiştir.

Elde edilen veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 9 Damar hastalığının yaygınlığı ve genotip dağılımı

MDR1 heterozigot		3 damar tutulumu olan MDR1 heterozigot bireyler		
		3<damar tutulumu	3>damar tutulumu	
	ÇALIŞMA %	31	11	P=0,03 CI(1,13-13,39) OR=3,90
		73,8%	26,2%	
	KONTROL %	44	4	
		91,7%	8,3%	
MDR1 homozigot		3 damar tutulumu olan MDR1 homozigot bireyler		
		3<damar tutulumu	>damar tutulumu	
	ÇALIŞMA %	41	1	P=0,39 CI(0.03 -3.65) OR= 0.36
		%97,6	%2,4	
	KONTROL %	45	3	
		%93,8	%6,3	
eNOS heterozigot		3 damar tutulumu olan eNOS heterozigot bireyler		
		3<damar tutulumu	3>damar tutulumu	
	ÇALIŞMA %	33	9	P= 0.02 CI(1.27-30.94) OR= 6.27
		%78.6	%21.4	
	KONTROL %	46	2	
		%95.8	%4.2	
eNOS homozigot		3 damar tutulumu olan eNOS homozigot bireyler		
		3<damar tutulumu	3>damar tutulumu	
	ÇALIŞMA %	41	1	P= 0.64 CI(0.04-6.41) OR= 0.56
		%97.6	%2.4	
	KONTROL %	46	2	
		%95.8	%4.2	
MDR1 ve eNOS heterozigot		3 damar tutulumu olan MDR1 ve eNOS heterozigot bireyler		
		3<damar tutulumu	3>damar tutulumu	
	ÇALIŞMA %	36	6	P= 0.11 CI(0.72-20.13) OR= 3.83
		%85.7	%14,3	
	KONTROL %	46	2	
		%95.8	%4,2	

5. TARTIŞMA

Son yıllarda eNOS ve MDR1 hakkında yapılan çalışmalar, akut koroner sendrom patolojisinde genetik mutasyonların da etkili olabileceğini gündeme taşımıştır. Özellikle eNOS gen polimorfizminin endotel disfonksiyonuna neden olabileceğinin yapılan çalışmalar (6,10) ile gösterilmesi bu konunun araştırılmasının günlük pratikte karşılaştığımız kimi koroner olayları açıklamakta faydalı olabileceğini göstermektedir.

Endotelial nitrik oksit sentetaz geninde 5' flanking bölgesinde nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi sonucu eNOS T-786 C polimorfizmi ortaya çıkar. Bu genetik polimorfizminin koroner arter spazmı, KAH yaygınlığı, miyokard infarktüsü ve hipertansiyonla ilişkisi yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (5,6,7,8). Fatini ve arkadaşlarının AKS'lu hastalarda yaptıkları bir çalışmada eNOS genine ait G894T, 4a4b ve T-786C polimorfizmlerini araştırılmıştır (60). Araştırmacılar 4a/4b homozigot ve hiperhomosisteinemili hastalarda T-786 C/C genotipinin KAH yatkınlığı 9.1 kat arttırdığını bulmuşlardır. Bu çalışmada T-786 C/C genotipine sahip kişilerin sıklıkları %22,4 oranında saptarken T/C genotip sıklıklarını %51,8 T/T genotip sıklığını ise %25.7 oranında bildirmişlerdir. Aynı zamanda Tangürek ve ark. Türk toplumunda yaptığı çalışmada eNOS T786 C gen polimorfizminin toplumumuzda koroner arter hastalığı ve yaygınlığı konusunda bir risk faktörü olabileceği ortaya konmuştur. Stabil koroner arter hastalarında ve çok damar hastalarında en az bir C aleli (TC+CC) taşıyanlar, TT homozigot bireylere göre daha fazla izlenmiş; iki grup alel dağılımı açısından karşılaştırıldığında, C alelin (sitozin) T (timidin) aleline göre KAH'de daha sık olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Ayrıca Tangürek ve ark.nın çalışmasında C dominant bireylerde KAH'nin 2.9 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Biz yaptığımız bu çalışmada AKS'li hastalarda eNOS tek gen mutasyonunun, antiagregan kullanımı altında iken klinik sonuçları etkileyip etkilemediğini araştırdık. eNOS tek gen mutasyonu açısından asetilsalisilik asit, klopidoğrel veya her ikisini beraber kullanan çalışma grubu hastaları ile kontrol grubu arasında fark olmadığı saptandı ($p=0.931$). C/T aleline sahip birey sayısı çalışma grubunda $n=16$ (38,1%) kontrol grubunda $n=18$ (%37,5) olarak izlendi. C/C homozigot bireyler ise çalışma grubunda $n=5$ kontrol grubunda $n=7$ olarak izlendi. Bu bulgular altında çalışmamızda eNOS gen polimorfizminin antiagregan kullanımı ile kardiyak olay yaşanması arasında bağlantı olmadığı sonucuna vardık.

Fakat çalışmamızda subgroup analizlerinde hastalığın yaygınlığı ile eNOS gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptadık. Rossi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada

T-786C CC genotipine sahip bireylerin aterosklerozun yaygınlığı ve damar tutulumu açısından bağımsız bir risk faktörü olarak bulunurken (7) Alvarez ve arkadaşları (55) ise 786 T/C genotipine sahip bireylerde koroner arter hastalığının daha erken yaş grubu ile ilişkisi olduğunu bulmuştur. Yaptığımız çalışmada, eNOS tek gen polimorfizmine sahip bireylerde C/C aleli taşıyan homozigot ve C/T aleli taşıyan heterozigot bireylerin çalışma n=15 (%35) ve kontrol grupları n=12(%25) arasında HT açısından anlamlı fark izlenmez iken (OR= 1.42 CI= 0.60-3.39 P= 0.418), HPL açısından değerlendirildiğinde eNOS gen polimorfizmine sahip homozigot ve heterozigot bireylerde HPL'nin daha sık izlendiği gözlenmiştir.(Çalışma n=11 %26,1 ve kontrol n=4 %8,3 OR=3.90 CI=1.13-13.39 P=0.030). Damar hastalığının yaygınlığı açısından bakıldığında ise 3 koroner damarda %70'in üzerinde lezyon olan hastalarda eNOS C/T heterozigot bireylerin (n=9 %21,4) kontrol grubuna (n=2%4,1) oranla daha sık izlendiği (p=0.024 OR= 6.27, CI=1.27-30.94) saptanmıştır. C/C homozigot bireyler ise çalışmada yeterli sayıda temsil edilmediği için istatistiki olarak değerlendirilememiştir.

Aynı zamanda TIRITON-TIMI 38 çalışmasının subgrup analizlerinde antiagregan tedavi alan hastalarda MDR1 gen polimorfizminin koroner olay sıklığını artırdığının saptanması (12), koroner arter hastalığı olan hastalarda antiagregan ilaç direncinde farklı mekanizmaların olabileceği ve reenfarktüstten sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Yine yapılan PLATO çalışmasında tikagrelor ve klopidogrel alan hastalar çalışmaya alınmış ve bu çalışmanın subgrup analizinde özellikle klopidogrel grubunda MDR1 tek gen mutasyonuna sahip bireylerde kardiyak ölüm, inme ve reenfarktüs sıklığının tikagrelor grubuna göre daha sık olduğu izlenmiştir (p=0,39; OR=0,71; CI=0,55–0,92) (61). Bu iki çalışma sonucunda da antiagregan ilaç kullanımına rağmen gerçekleşen kardiyak olaylarda genetik mutasyonların neden olabileceği ve bundan birkaç farklı genetik mutasyonun sorumlu olabileceği öne sürülmüştür. Yapılan bir başka çalışmada ise MDR1 genin son ürünü olan P-glikoprotein AKS hastalarında klopidogrel yükleme dozu sonrası intestinal emilime katkısı araştırılmış ve T/T homoizgot bireylerde kan düzeylerinin anlamlı olarak daha az olduğu saptanmıştır (P=0,006) (62). Biz ise yaptığımız çalışmada MDR1 tek gen mutasyonuna sahip bireylerin antiagregan kullanan çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak farklı olmadığını saptadık (p=0,52). Çalışma grubunda T aleli taşıyan homozigot birey sayısı n=5 (%11,9) kontrol grubunda ise n=7(%14.6) idi. T aleli

taşıyan heterozigot birey sayısı ise çalışma grubunda n=26 (%61,9) kontrol grubunda ise n=24 (%50,0) idi.

MDR1 için yaygın damar hastalığı olanlar, HPL ve 65 yaş üzeri altgruplarında çalışma ve kontrol grupları arasında anlamlı fark izlendiği saptandı. MDR1 C/T heterozigot ve T/T homozigot polimorfizm HPL olan bireyler incelendiğinde çalışma grubunda n=17 (%40,4) kontrol grubuna n=4 (%8,3) oranla anlamlı olarak fazla olduğu (OR=7,48; CI=2,26-24,70; P=0,001), 65 yaş üzerin bireylere bakıldığında çalışma grubunda MDR1 T aleli taşıyan birey sayısının çalışma grubunda n=18 (%42,8) kontrol grubuna n=10 (%20,8) oranla daha sık izlendiği (OR=2,80; CI= 1,12 – 7,19; p=0,026) gözlenmiştir. Damar hastalığının yaygınlığı açısından bakıldığında ise çalışmanın MDR1 kolunda 3 koroner damarda %70 'in üzerinde lezyon olan hastalarda T/C heterozigot birey sayısının çalışma grubunda n=11(%26,1) kontrol grubuna n=4(%8,3) oranla anlamlı olarak daha fazla izlendiğini saptadık (OR=3,90; CI=1,13-13,39; p=0,030).

Literatürde MDR1 ve eNOS genetik polimorfizminin beraber değerlendirildiği bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda bu iki genetik polimorfizmin hastalar üzerindeki sonuçlarını değerlendirdiğimizde eNOS ve MDR1 heterozigot birlikteliğine sahip birey sayısının çalışma ve kontrol grubunda anlamlı olarak farklı olmadığını saptadık. Bu iki genetik polimorfizmi aynı anda taşıyan birey sayısı çalışma grubunda n=10 (%23,8) iken, kontrol grubunda n=11 (%22,9) idi ve gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi (p=0,920). Homozigot bireylerin birlikteliğine bakıldığında ise çalışma grubunda n=2 (%4,8) bireyde genetik polimorfizm birlikteliği izlenirken kontrol grubunda hiçbir bireyde bu iki genin homozigot birlikteliği izlenmemiş ve gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmamıştır (p=0,126). Damar hastalığının yaygınlığı açısından değerlendirildiğinde ise her iki heterozigot grubun çalışma grubunda daha sık izlendiği fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. eNOS ve MDR1 heterozigot genotiplerini birlikte taşıyan birey sayısı çalışma grubunda n=6 (%14,3), kontrol grubunda n=2 (%4,2) olup çalışma grubunda daha sık izlemesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Her iki genetik polimorfizmi ise homozigot olarak taşıyan birey yoktur.

SONUÇ

Biz yaptığımız bu çalışmada antiagregan tedavi alan hastalarda MDR1 ve eNOS gen polimorfizmini araştırarak, bu iki genetik mutasyonun birlikteliğinin hastalarda koroner olay patofizyolojisine olası etkilerini ortaya çıkarmayı hedefledik.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde MDR1 ve eNOS genetik polimorfizmi varlığının antiagregan kullanmakta olan hastalarda miyokard enfarktüsü ile bağlantılı olmadığını saptamış bulunmaktayız. Ancak bu iki polimorfizme sahip bireylerde hastalığın daha yaygın olduğunu ve medikal tedavi altında bile hastaların kardiyak olay yaşama riskini arttırdığını ortaya çıkarmaktadır. Klasik kardiyak risk faktörlerinin yanında elde ettiğimiz veriler ileri yaşlarda MDR1 genetik polimorfizminin hastalığın gidişatına katkıda bulunabileceği, antiagregan tedavi altında olan hastalarda ilaç metabolizmasını değiştirerek hastalığın sonuçlarını olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda MDR1 genetik polimorfizminin kardiyak risk faktörleri ile eNOS'a göre daha sık birlikte olduğunu gözlemlenmekle birlikte sadece HPL ile istatistiksel olarak anlamlı birliktelik saptanmış olup; HPL eNOS grubunda da kontrol grubuna oranla daha fazla izlenmiştir.

Çalışmamıza alınan hasta sayısının az olması çalışmanın gücünü azaltmakta aynı zamanda genel toplumsal genetik havuzu yansıtmakta yetersiz kalabileceğini düşündürmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar koroner arter hastalığının genetik kökenlerini açıklamaya katkıda bulunmakla birlikte bu konuda daha geniş katılımlı çalışmalar yapılmasında gerek duyulmaktadır.

KAYNAKLAR:

1. **ONAT A. , SANSOY V, ERER B. , BAŞAR Ö. , CEYHAN K. (2001).** TEKHARF Çalışması 2001 Yılı Takibi Kısmi Sonuçları: Koroner Ölüm ve Olaylar *Türk Kardiyoloji Dern. Arş.*; 29:633-636

2. LIBBY P. (2001). Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes *Circulation* ; 104: 365-372
3. ZIAD MALLAT, HAKİM BENAMER, BÉNÉDICTE HUGEL, JOËLLE BENESSIANO, P. GABRIEL STEG (2000).Elevated Levels of Shed Membrane Microparticles With Procoagulant Potential in the Peripheral Circulating Blood of Patients With Acute Coronary Syndromes *Circulation*;101:841-843
4. SCHMIDT HH. , WALTER U(1994). NO At Work. *Cell*;78:919-25.
5. NAKAYAMA M, YASUE H, YOSHIMURA M, SHIMASAKI Y,KUGIYAMA K, OGAWA H. (1999). T-786 C Mutation In The 5'-Flanking Region Of The Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Is Associated With Coronary Spasm. *Circulation*;99:2864-70.
6. COLOMBO MG., PARADOSSI U. , ANDREASSI MG. , BOTTO N. ,MANFREDI S. , MASETTI S. (2003). Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms And Risk Of Coronar Artery Disease. *Clin Chem*;49:389-95.
7. ROSSI GP., CESARI M., ZANCHETTA M., COLONNA S.,MAIOLINO G., PEDON L. (2003). The T-786C Endothelial Nitric Oxide Synthase Genotype Is A Novel Risk Factor For Coronary Artery Disease In Caucasian Patients Of The GENICA Study. *Journal of the American College of Cardiology.*;41:930-7.
8. NAKAYAMA M., YASUE H., YOSHIMURA M., SHIMASAKI Y.,OGAWA H., KUGIYAMA K. (2000).T(-786) C Mutation Inthe 5'-Flanking Region Of The Endothelial Nitric Oxidesynthase Gene Is Associated With Myocardial Infarction,Especially Without Coronary Organic Stenosis. *Journal of the American College of Cardiology* ;86:628-34.
9. HYNDMAN ME., PARSONS HG., VERMA S., BRIDGE PJ.,EDWORTHY S., JONES C. (2002) . The T-786- C Mutation Inendothelial Nitric Oxide Synthase Is Associated With Hypertension. *Hypertension*;39:919-22.
10. Tangürek B., Özer N.,Sayar N.,Terzi S., Yılmaz H.Y., Asiltürk R.,Aksu H., Çiloğlu F., Aksoy Ş., Çağıl A.(2005). The Relationship Between Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism (T-786 C) And Coronary Artery Disease In A Turkish Population *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi - Arch Turk Soc Cardiol*;33(8):467-472
- 11.SAKAEDA T. (2005). Mdr1 Genotype-Related Pharmacokinetics: Fact Or Fiction? *Drug Metab Pharmacokinet.* ;20(6):391-414
- 12.MEGA JL., CLOSE SL., WIVIOTT SD., SHEN L., WALKER JR., SIMON T., ANTMAN EM., BRAUNWALD E., SABATINE MS(2010). Genetic Variants In ABCB1 And CYP2C19 And Cardiovascular Outcomes After Treatment With

- Clopidogrel And Prasugrel In The TRITON-TIMI 38 Trial: A Pharmacogenetic Analysis. *Lancet*;376(9749):1312-9
13. YUSUF S., ZHAO F., MEHTA SR., CHROLAVICIUS S., TOGNONI G., FOX KK.(2001). Effects Of Clopidogrel In Addition To Aspirin In Patients With Acute Coronary Syndromes Without ST-Segment Elevation. Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. *New England Journal of Medicine*;345:494-502.
 14. KRUTH HS. (1997). The **Fate Of Lipoprotein Cholesterol Entering The Arterial Wall**. *Current Opinion in Lipidology* **8:246-252**
 15. NORDESTGAARD BG. (1996). The Vascular Endothelial Barrier--Selective Retention Of Lipoproteins. *Current Opinion in Lipidology* ;7(5):269-73
 16. NAKASHIIMA Y.,RAINES EW.,PLUMP AS.(1998) Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at Atherosclerosis-Prone Sites on the Endothelium in the ApoE-Deficient Mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*;18(5):842-51.
 17. LIYAMA K.,HAJRA L.,LIYAMA M.(1999). Patterns Of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 And Intercellular Adhesion Molecule-1 Expression In Rabbit And Mouse Atherosclerotic Lesions And At Sites Predisposed To Lesion Formation. *Circ Res. Jul 23*;85(2):199-207.
 18. LUSTER AD.(1998).Chemokin-Chemotactic cytokines that mediate .*The New England Journal of Medicine* ; 338:436-445
 19. GU L., OKADA Y., CLINTON SK., GERARD C., SUKHOVA GK., LIBBY P., ROLLINS BJ(1998).Absence Of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Reduces Atherosclerosis In Low Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. *Mol Cell. Aug*;2(2):275-81.
 20. GENG YJ.,LIBBY P. (2002).Progression of atheroma: a struggle between death and procreation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*;22(9):1370-80.
 21. ZIPES DP.,LIBBY P.,BONOW , BRAUNDWALD E.(2008).A Textbook Of Cardiovascular Medicine Seventh Edition:925-35
 22. WILLAMS KJ .(2001). Arterial wall chondroitin sulfate proteoglycans: diverse molecules with distinct roles in lipoprotein retention and atherogenesis. *Current Opinion in Lipidology.*;12(5):477-87.
 23. PASTERKAMP G., DE KLEIJN DP., BORST C.(2000). Arterial Remodeling In Atherosclerosis, Restenosis And After Alteration Of Blood Flow: Potential

Mechanisms And Clinical Implications. *Cardiovascular Resarch. (4):843-52. Review.*

24. NAGHAVI M., LIBBY P., FALK E., CASSCELLS SW., LITOVSKY S., RUMBERGER J., BADIMON JJ., STEFANADIS C., MORENO P., PASTERKAMP G., FAYAD Z., STONE PH., WAXMAN S., RAGGI P., MADJID M., ZARRABI A., BURKE A., YUAN C., FITZGERALD PJ., SISCOVICIK DS., DE KORTE CL., AIKAWA M., AIRAKSINEN KE., ASSMANN G., BECKER CR., CHESEBRO JH., FARB A., GALIS ZS., JACKSON C., JANG IK., KOENIG W., LODDER RA., MARCH K., DEMIROVIC J., NAVAB M., PRIORI SG., REKHTER MD., BAHR R., GRUNDY SM., MEHRAN R., COLOMBO A., BOERWINKLE E., BALLANTYNE C., INSULL W JR., SCHWARTZ RS., VOGEL R., SERRUYS PW., HANSSON GK., FAXON DP., KAUL S., DREXLER H., GREENLAND P., MULLER JE., VIRMANI R., RIDKER PM., ZIPES D.P, SHAH PK., WILLERSON JT.(2003). From Vulnerable Plaque To Vulnerable Patient: A Call For New Definitions And Risk Assessment Strategies: *Circulation.14;108(15):1772-8.*
25. LIBBY P. (2001). Current Concepts Of The Pathogenesis Of The Acute Coronary Syndromes. *Circulation. ;104(3):365-72.*
26. MALEK AM., ALPER SL., IZUMO S.(1999). Hemodynamic Shear Stress And Its Role In Atherosclerosis.. *JAMA. ;282(21):2035-4*
27. ROSENBERG RD, AIRD WC.(1999). Vascular-bed--specific hemostasis and hypercoagulable states. *New England Journal of Medicine. ;340(20):1555-64.*
28. ARDISSINO D., MERLINI PA., ARIENS R., COPPOLA R., BRAMUCCI E., MANNUCCI PM. (1997) Tissue-Factor Antigen And Activity In Human Coronary Atherosclerotic Plaques,. *Lancet. ;349(9054):769-71*
29. THEROUX P., OUMET H., MCCANS J., LATOUR JG., JOLY P., LEVY G., PELLETIER E., JUNEAU M., STASIAK J., DEGUISE P. (1988) Aspirin, Heparin, Or Both To Treat Acute Unstable Angina. *New England Journal of Medicine. ;319(17):1105-11.*

30. RISC Group (1990). Risk Of Myocardial Infarction And Death During Treatment With Low Dose Aspirin And Intravenous Heparin In Men With Unstable Coronary Artery Disease. *The Lancet.* ;336(8719):827-30.
31. CAIRNS JA., GENT M., SINGER J., FINNIE KJ., FROGGATT GM., HOLDER DA., JABLONSKY G., KOSTUK WJ., MELENDEZ LJ., MYERS MG. (1985). Aspirin, Sulfinpyrazone, Or Both In Unstable Angina. Results Of A Canadian Multicenter Trial. *New England Journal of Medicine.* 28;313(22):1369-75.
32. BAIGENT C., COLLINS R., APPLEBY P., PARISH S., SLEIGHT P., PETO R. (1998). ISIS-2: 10 Year Survival Among Patients With Suspected Acute Myocardial Infarction In Randomised Comparison Of Intravenous Streptokinase, Oral Aspirin, Both, Or Neither. The ISIS-2 (Second International Study Of Infarct Survival) Collaborative Group. *The BMJ.* ;316(7141):1337-43.
33. EIKELBOOM JW., HIRSH J., WEITZ JL., JOHNSTON M., YI Q., YUSUF S. (2002). Aspirin-Resistant Thromboxane Biosynthesis And The Risk Of Myocardial Infarction, Stroke, Or Cardiovascular Death In Patients At High Risk For Cardiovascular Events.. *Circulation.* ;105(14):1650-5.
34. STOREY RF., NEWBY LJ., HEPTINSTALL S., Effects (2001) Of P2Y(1) And P2Y(12) Receptor Antagonists On Platelet Aggregation Induced By Different Agonists In Human Whole Blood. *Platelets. Nov;*12(7):443-7.
35. GOTO S., TAMURA N., ETO K., IKEDA Y., HANDA S., 2002 Functional Significance Of Adenosine 5'-Diphosphate Receptor (P2Y(12)) In Platelet Activation Initiated By Binding Of Von Willebrand Factor To Platelet GP Ibalpha Induced By Conditions Of High Shear Rate. *Circulation.* ;105(21):2531-6.
36. YUSUF S (Chair And Principal Investigator), K.A.A. FOX (Cochair), G. TOGNONI (Cochair), S.R. MEHTA (Project Officer), S. CHROLAVICIUS (Study Coordinator), S. ANAND, A. AVEZUM, N. AWAN, M. BERTRAND, A. BUDAJ, L. CEREMUZYNSKI, J. COL, P.J. COMMERFORD, R. DIAZ, M. FLATHER, M.-

G. FRANZOSI, B. GERSH, W. GROSSMAN, D.A. HALON, D. HUNT, C. JOYNER (CHAIR OF THE EVENTS ADJUDICATION COMMITTEE), N. KARATZAS, M. KELTAI, S. KOPECKY, B.S. LEWIS, A. MAGGIONI, K. MALMBERG, T. MOCCHETTI, J. MORAIS, M. NATARAJAN, E. PAOLASSO, R. PETERS, L. PIEGAS, A. PIPILIS, J. POGUE, M. RAMOS-CORRALES, H.-J. RUPPRECHT, E. SITKEI, V. VALENTIN, J. VARIGOS, P. WIDIMSKY, T. WITTLINGER, M. BLUMENTHAL, J. BOUTHIER, C. GAUDIN, T. HESS, N. KHURMI, M. SOTTY. The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. *New England Journal of Medicine* 2001; 345:494-502

37. NEUMANN FJ, KASTRATI A, POGATSA-MURRAY G, MEHILLI J, BOLLWEIN H, BESTEHORN HP, SCHMITT C, SEYFARTH M, DIRSCHINGER J, SCHÖMIG A. (2003) Evaluation Of Prolonged Antithrombotic Pretreatment ("Cooling-Off" Strategy) Before Intervention In Patients With Unstable Coronary Syndromes: A Randomized Controlled Trial. *JAMA.* ;290(12):1593-9.
38. ALEXANDROVA R. Multidrug Resistance and P-Glycoprotein. *Bulgarian Academy of Sciences* 1998; 1: 62-66
39. Ueda K., Cardarelli C., Gottesman MM., Pastan I., Expression of a full-length cDNA for the human "MDR1" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. *Proc Natl Acad Sci*, 1987;84: 3004–3008
40. SAKAEDA T. MDR1 Genotype-Related Pharmacokinetics: Fact Or Fiction? *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005; 20: 391-414
41. ALEXANDROVA R. Multidrug Resistance and P-Glycoprotein. *Bulgarian Academy of Sciences* 1998; 1: 62-66
42. AMBUDKAR SV, KIMCHI-SARFATY C, SAUNA ZE, GOTTESMAN MM. P-Glycoprotein: From Genomics To Mechanism. *Oncogene* 2003; 22: 7468-85
43. ZHOU SF. Structure, Function And Regulation Of P-Glycoprotein And Its Clinical Relevance In Drug Disposition. *Xenobiotica.* 2008; 38: 802-32
44. HATTORI H, SUMINOE A, WADA M, KOGA Y, KOHNO K, OKAMURA J, HARA T, MATSUZAKI A. Regulatory Polymorphisms Of Multidrug Resistance 1

- (MDR1) Gene Are Associated With The Development Of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leuk Res* 2007; 31: 1633-1640
45. HORIO M, GOTTESMAN MM, PASTAN I. ATP-Dependent Transport Of Vinblastine In Vesicles From Human Multidrug-Resistant Cells. *Proc Natl Acad Sci*. 1988; 85: 3580-3584
46. KAYA P, GÜNDÜZ U, ARPACI F, URAL AU, GURAN S. Identification Of Polymorphisms On The MDR1 Gene Among Turkish Population And Their Effects On Multidrug Resistance In Acute Leukemia Patients. *Am J Hematol*. 2005; 80 (1): 26-34
47. CANNON RO . Role Of Nitric Oxide In Cardiovascular Disease: Focus On The Endothelium. *Clin Chem* 1998; 44(8):1809-19.
48. BLAISE GA, GAUVIN D, GANGAL M, AUTHIER S. Nitric Oxide, Cell Signaling And Cell Death. *Toxicology* 2005;208(2):177-92.
49. MARIN J, RODRIGUEZ-MARTINEZ MA. Role Of Vascular Nitric Oxide In Physiological And Pathological Conditions. *Pharmacol Ther* 1997;75(2):111-34.
50. CYLWIK D, MOGIELNICKI A, BUCZKO W. L-Arginine And Cardiovascular System. *Pharmacol Rep* 2005;57(1):14-22.
51. CORNWELL TL, ARNOLD E, BOERTH NJ, LINCOLN TM. Inhibition Of Smooth Muscle Cell Growth By Nitric Oxide And Activation Of Camp-Dependent Protein Kinase By Cgmp .*Am J Physiol*. 1994, 267:1405-1413
52. GRAAF JC, BANGA JD, MONCADA S, PALMER RM, GROOT PG, SIXMA JJ. Nitric Oxide Functions As An Inhibitor Of Platelet Adhesion Under Flow Conditions *Circulation*. 1992,85:2284-2290.
53. Sessa WC. Regulation Of Endothelial Derived Nitric Oxide In Health And Disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100 Suppl 1:15-8.
54. ALVAREZ R, GONZALEZ P, BATALLA A, REGUERO JA, CUBERO G, HEVIA S, CORTINA A, MERINO E, GONZALEZ I, ALVAREZ V, COTO E. Association Between The NOS3 (2786 T/C) And The ACE(I/D) DNA Genotypes And Early Coronary Artery Disease. *J Biol Chem*. 2001, 5:343348.
55. UWABO J, SOMA M, NAKAYAMA T, KANMATSUSE K .Association Of A Variable Number Of Tandem Repeats In The Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene With Essential Hypertension In Japanese. *Am J Hypertens*. 1998, 11:125-128.

56. CARR A, FREI B. The Role Of Natural Antioxidants In Preserving The Biological Activity of Endothelium Derived Nitric Oxide. *Free Radical Biology Medicine* 2000;28:1806-14.
57. KAWASHIMA S. Malfunction Of Vascular Control In Lifestyle-Related Diseases: Endothelial Nitric Oxide (NO) Synthase/NO System In Atherosclerosis. *J Pharmacol Sci* 2004;96(4):411-9.
58. ANGGARD E. Nitric Oxide Mediator, Murder And Medicine. *Lancet* 1994;343:1199-1206.
59. MARSDEN PA, HENG HH, SCHERER SW, STEWART RJ, HALL AV, SHI XM, TSULC, SCHAPPERT KT. Structure And Chromosomal Localization Of The Human Constitutive Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene. *The Journal of Biological Chemistry* 1993;268(23):17478-88.
60. FATINI C, SOFI F, STICCHI E, GENSINI F, GORI AM, FEDI S, LAPINI I, ROSTAGNO C, COMEGLIO M, BROGI D, GENSINI G, ABBATE R. Influence Of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms (G894T, 4a4b, T-786c) And Hyperhomocysteinemia On The Predisposition To Acute Coronary Syndromes. *Am Heart J.* 2004, 147:516-521.
61. LARS WALLENTIN, STEFAN JAMES, ROBERT F STOREY, MARTIN ARMSTRONG, BRYAN J BARRATT, JAY HORROW, STEEN HUSTED, HUGO KATUS, P GABRIEL STEG, SVATI H SHAH, RICHARD C BECKER, for the PLATO investigators. Effect Of CYP2C19 And ABCB1 Single Nucleotide Polymorphisms On Outcomes Of Treatment With Ticagrelor Versus Clopidogrel For Acute Coronary Syndromes: A Genetic Substudy Of The PLATO Trial. *Lancet.* 2010 16;376(9749):1320-8.
62. TAUBERT, D., VON BECKERATH, N., GRIMBERG, G., LAZAR, A., JUNG, N., GOESER, T, KASTRATI, A. SCHOMIG, A., SCHOMIG, E., , Impact Of P-Glycoprotein On Clopidogrel Absorption, *Clin Pharmacol Ther*(2006) 486-501