



T.C

MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-3 (MMP-3) ve MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-9 (MMP-9) GEN POLİMORFİZMİNİN AKUT
MİYOKARD İNFARKTÜSÜNE OLASI ETKİLERİ**

Dr. Fikret ŞEN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ

MERSİN 2012



T.C

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI**

**MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-3 (MMP-3) ve MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-9 (MMP-9) GEN POLİMORFİZMİNİN AKUT
MİYOKARD İNFARKTÜSÜNE OLASI ETKİLERİ**

Dr. Fikret ŞEN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ

Bu tez, BAP-TF TTB (FŞ) 2011-5TU kodlu proje olarak

**Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir.**

MERSİN 2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman destek ve yardımlarını yanımda hissettiğim bilgisini, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeyen tezimin hazırlanmasında büyük emeği geçen değerli Hocam Prof.Dr.Lülüfer Tamer Gümüş'e

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli Hocalarım; Prof. Dr. Gürbüz Polat, Doç.Dr.Gülçin Eskandari, Doç. Dr. Burak Çimen'e ve Doç. Dr. Necati Muşlu'ya,

Tezime ait hasta grubu örneklerinin toplanması ve tezimin klinik sürecindeki katkılarından dolayı Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr.Ahmet Çamsarı'ya,

Tezimin istatistik analizinde yardımlarını esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalından Arş. Gör. Dr. M. Ali Sungur'a,

Tezimin laboratuvar aşamasındaki katkılarından dolayı tüm teknisyen arkadaşlarıma,

Asistanlığıma başladığım ilk günden bu yana kendimi şanslı hissettiğim ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Yaşamım süresince her zaman destek ve sevgilerini yanı başımda hissettiğim canım aileme, eşim Nilüfer Şen ve Kızım Ada Şen'e

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Fikret Şen

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	6
GİRİŞ VE AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	
Ekstrasellüler Matriks	10
Tanım	10
Kollajen	11
Elastin	12
Adesiv Özellikte Olan Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri	14
Fibronektin	14
İntegrin	15
Laminin	16
Osteonektin	17
Vitronektin	18
Tenaskin	18
Proteoglikanlar	18
Kalp Dokusunun Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri	19
Matriks Metalloproteinazlar	19
Matriks Metalloproteinazların Tarihçesi	19
Matriks Metalloproteinazların Yapısı ve Sınıflandırılması	20
Kollajenazlar	24
Jelatinazlar	24
Stromelizinler	25

Matrilizinler	26
Membran Tipi Matriks Metalloproteinazlar	26
Diğer Matriks Metalloproteinazlar	27
Matriks Metalloproteinazların Etkinliğinin Düzenlenmesi	27
Transkripsiyonel Düzenlenme	29
Proenzimin Etkinleşmesi Aşamasında Düzenlenme	29
Matriks Metalloproteinaz Enzim Etkinliğinin Baskılanması	31
Ateroskleroz ve Aterosklerozun Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü	32
Ateroskleroz; Lezyon Oluşum Basamakları	32
Lökositlerin Biraraya Toplanması	33
Hücre İçi Lipit Birikimi; Köpük Hücre Oluşumu	33
Başlatıcı Olay LDL Modifikasyonu	34
Lipit Dışı Kardiyovasküler Risk Faktörleri	34
Yeni Risk Faktörleri	35
Ateroskleroz Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü	35
Akut Miyokard İnfarktüsü ve Akut Miyokard İnfarktüsü Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü	37
Akut Miyokard İnfarktüsü ; Tanım, Ayırıcı Tanı ve Laboratuvar Belirteçleri	37
Akut Miyokard İnfarktüsü Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü	43
GEREÇ VE YÖNTEMLER	48
Araç ve Gereçler	48
Kimyasal Madde ve Çözücüler	48

Alet ve Gereçler	48
Kullanılan Kitler	48
Kullanılan Ayıracılar ve Hazırlanması	49
Çalışma Grubu ve Örnek alımı	50
Yöntemler	51
Matriks Metalloproteinaz-3 (MMP-3) ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Düzeylerinin Belirlenmesi	53
Matriks Metalloproteinaz-3 (MMP-3) ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Mutasyon Analizlerinin Belirlenmesi	58
İstatistiksel Yöntemler	67
BULGULAR	68
TARTIŞMA	75
SONUÇ VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	86
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	96
ŞEKİLLER DİZİNİ	98
TABLolar DİZİNİ	99
EKLER	
EK 1. Sağlıklı/Hasta Gönüllü Denekler İçin Bilgilendirilmiş Olur Formu Örneği	

ÖZET

Akut miyokard İnfarktüsü (AMİ), dünyada mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birisidir. Koroner damarların aterosklerozu AMİ gelişimi için en önemli nedendir. AMİ fizyopatolojisi Matriks Metalloproteinaz (MMP) gibi çeşitli proteinlerin dahil olduğu karmaşık bir süreçtir. MMP etkinliğinin ateromatöz plak oluşumu, arter duvarı ve plağın yırtılması gibi süreçleri etkileyerek AMİ'ye neden olabileceği ileri sürülmektedir. Hem ateroskleroz gelişim sürecinde hem de plak yırtılmasında rolü olduğu düşünülen MMP'ler arasında özellikle MMP-3 ve MMP-9'un normal arterlerde bulunmayıp aterosklerotik plaklarda bulunması nedeni ile bu çalışmada, MMP-3 5A/6A ve MMP-9 C1562T genlerine ait polimorfizmlerin AMİ tanısında erken bir belirteç olarak rutinde kullanılabilir mi sorusuna ışık tutmayı amaçladık.

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kardiyoloji polikliniklerine göğüs ağrısı ile başvuran ve miyokard infarktüsü tanısı alan, yaşları 34-85 arasında değişen 68 erkek, 22 kadından oluşan 90 hasta ve herhangi sistemik bir hastalığı bulunmayan yaşları 30-68 arasında değişen, 39 erkek ve 51 kadından oluşan 90 birey olmak üzere toplam 180 kişi dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunun periferik kanından alınan örneklerde DNA izolasyonu High Pure PCR Template kiti kullanılarak yapıldı ve MMP-3, MMP-9 genlerine ait mutasyonlar Real Time PCR cihazı ile, Serum MMP-3 ve MMP-9 düzeyleri ise Raybio Human ELISA kitleri kullanılarak saptandı.

Hastalarda MMP-3 6A/6A ($p=0,021$) genotipi kontrole göre belirgin yüksek bulunurken, MMP-9 polimorfizmi ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,507$). Serum MMP-3 düzeyleri yalnızca 5A/6A genotipinde anlamlı olarak düşük saptandı ($p=0,022$). MMP-9 düzeyleri ise CC ve CT genotipine sahip hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p=0,001$).

Sonuç olarak Türk toplumunda diğer toplumlardan farklı olarak AMİ ile yalnızca MMP-3 6A/6A genotipi ilişkili bulundu.

Anahtar sözcükler: AMİ, MMP, polimorfizm

ABSTRACT

Myocardial infarction has become one of the leading causes of death around the world. Physiopathology of the AMI is complex process that is contributed by MMP and other proteins. It is suggested that MMP activity causes AMI by affecting atherosclerotic plaque formation, rupture of arterial wall and plaque. Although some patients who have had a myocardial infarction don't have any conventional risk factors, suggesting the contribution of uncharacterized genetic component. The purpose of this study is to identify MMP-3 and MMP-9 polymorphisms that confer to myocardial infarction and relation of polymorphisms between their serum concentrations and identify the question that whether MMP-3 5A/6A and MMP-9 C1562T polymorphisms were able to be biomarkers for AMI.

The patients who admitted to Mersin University medical faculty Hospital cardiology department with chest pain and diagnosed as AMI were recruited to this study. We studied ninety control subjects(39 males, 51 females) who haven't any systemic disease and ninety patients(68 males, 22 females). DNA isolation was made from peripheral blood samples of patients and control groups by using High Pure PCR Template kits. The mutations of MMP-3 and MMP-9 genes were detected with Real Time PCR (Light Cycler, Roche Diagnostic). Serum MMP-3 and MMP-9 levels were detected with Ray Bio Human Elisa kits. We found that MMP-3 6A/6A genotype had been significantly high in patients($p=0,021$). It is found that there were no association between MMP-9 polymorphism and AMI($p=0,507$). Serum MMP-3 levels were significantly low in 5A/6A genotype($p=0,022$). MMP-9 levels were significantly high in CC and CT genotypes($p=0,001$).

In conclusion, our results show that the only MMP-3 6A/6A genotype was found to be related with AMI in Turkish population.

Keywords: AMI, MMP, Polymorphism.

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut miyokard İnfarktüsü (AMI), dünyada mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birisidir. Koroner damarların ateroskleroza AMİ gelişimi için en önemli nedendir. Aterosklerotik plağın büyümesinin nedeni; damarın intima tabakasında hücreler, ekstrasellüler matriks elemanları ve lipidlerin birikip yapısal değişiklikler oluşturmasıdır.¹ Tromboz oluşumuyla birlikte olan plak yırtılması AMİ patogenezinde iyi bilinen ve önemli bir etkidir.²

Akut miyokard İnfarktüsü için en önemli risk etkenleri; hiperkolesterolemi, yüksek kan basıncı, diabetes mellitus, şişmanlık, sigara kullanımı ve koroner damar hastalığı aile öyküsünün bulunmasıdır. Ancak bu etkenler olguların yalnızca bir bölümünü açıklayabilmektedir. Dahası bazı AMİ hastalarının bu sayılan geleneksel risk etkenlerini bulundurmamaları kalıtsal getirilerin de etkili olduğunu düşündürmektedir.³ Bireylerin kesin riskini hesaplayabilmek için konuyla ilgili diğer risk etkenleri de araştırılmalıdır.¹

Akut miyokard İnfarktüsü ani gerçekleşmesi, önceden belirlenememesi ve tanısal klinik belirtilerinin olmaması nedeniyle akut miyokard infarktüsü için erken tanı belirteçlerinin ortaya çıkarılması çok önemlidir. Koroner plak yırtılmasında görev alan çeşitli etkenlerin araştırılması miyokard infarktüsü riskinin öngörülmesinde önemli aşamalar kat ettirmektedir. Koroner plak yırtılmasındaki etkenlerden birisi de Matriks Metalloproteinaz (MMP)'lerdir.⁴

Makrofajlardan salıverilen TNF- α ve IL-1, trombositlerden salıverilen Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblastlar ve endotel hücrelerinden salıverilen bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler, insanlarda vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, makrofajlar, lenfositler gibi farklı hücre tipleri değişen oranlarda olmak üzere MMP sentezini uyarırlar. Çeşitli deneysel ateroskleroz modellerinde oluşan aterosklerotik lezyonlarda ve aortik okluzif hastalığı ya da aortik anevrizması olan hastalardan alınan aterosklerotik arter örneklerinde özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10,

MMP-11, MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'ün ekspresyon ve etkinliklerinin arttığı gösterilmiştir. Uyarılan MMP'ler kollajen, jelatin, elastin, laminin, proteoglikan gibi Ekstraselüler Matriks (ESM) proteinlerini yıkıma uğratırlar ve böylece düz kas hücre göçünü kolaylaştırır, çoğalmasını hızlandırırlar. Süregelen düz kas hücre çoğalması, göçü ve sonrasında ESM birikimi aracılığıyla damar duvar matriksi modifiye edilir ve sonuçta erken dönemde intimal kalınlaşma ileri evrede de aterosklerotik plak oluşumu gerçekleşir.^{5, 6}

İntimal kalınlaşmanın önce yağlı çizgilenme daha sonra da fibröz aterosklerotik plağa dönüşmesinde ESM döngüsü (yapım ve yıkımı) önemlidir ve MMP'lerin de ESM döngüsünde temel rol oynadıkları kabul edilmektedir. Aterosklerotik plağın yırtılmaya eğilimli bölgeleri olan lezyonun omuz bölgesinde makrofaj kökenli köpük hücrelerinin biriktiğinin gösterilmesi, makrofaj kaynaklı MMP'lerin plak kırılabilirliği ve yırtılmasında önemli görevleri olduğunu düşündürmektedir. Lezyondaki makrofajlardan MMP'lerin üretiminin uyarılması aktive T hücreleri tarafından sağlanmaktadır.^{7, 8}

Aterosklerotik plak dokusunda çeşitli MMP türlerinin ekspresyon ve etkinliklerinin arttığı gösterilmesi plak destabilizasyonunda MMP'lerin önemli role sahip olduğu görüşünü desteklemektedir.⁹ Kardiyak yeniden yapılanma, kardiyak miyositlerde ve ESM'de değişikliklere neden olur. ESM, biyolojik olarak aktif moleküller için depo görevi görmekle birlikte fibriler kollajen, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi yapısal proteinleri de içermektedir. Kalp kası kollajenleri, yan yana bulunan kas hücrelerinin yapısal devamlılığını sağladığı için ESM'de olan değişiklikler kalp kasının işlev ve yapısının kaybolmasına neden olmaktadır.¹⁰

Matriks Metalloproteinazların kalpte birçok patolojik durumda etkinlikleri ve ekspresyonları artar. MMP etkinliğindeki artış MI'dan bir gün sonra çok erken ortaya çıkmaktadır.¹¹

Matriks Metalloproteinaz geni yok edilmiş sıçanlarla yapılan çalışmalarda, MMP-2 ve MMP-9'un MI sonrası kardiyak yırtılmalarda önemli olduğu belirtilmiştir.

Ayrıca son çalışmalarda MMP-14 düzeyinin iskemi-reperfüzyon sonrası arttığı bulunmuştur. MMP-3 ve MMP-9'un ise aterosklerotik plak üzerinde, plak büyümesini sınırlayarak ve plak kararlılığını artırarak koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Fakat MMP-12'nin aterosklerotik lezyonun genişlemesini sağlayıp ve plak kararlılığını azalttığı ortaya konulmuştur.¹²

Matriks Metalloproteinazlar içinde MMP-3 ve MMP-9 aterosklerotik plaklarda en yaygın bulunan enzimlerdir. MMP ekspresyonu ana olarak transkripsiyon düzeyinde ve çeşitli büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıt veren promoter genler düzeyinde düzenlenirler. Artan kanıtlar MMP promoter bölgesinde tek nükleotid polimorfizminin, MMP'nin transkripsiyonel etkinliğini değiştirdiği ve sonuç olarak koroner damar hastalığına duyarlılığı artırdığını göstermektedir.¹³ MMP-3, ekstrasellüler matriks proteinlerinden; tip 2 , tip 4 ve tip 9 kollajen, proteoglikan, laminin, fibronektin, jelatin ve elastin üzerinde proteolitik etkiye sahiptir. Aynı zamanda çapraz bağ yapmış fibrini de parçalayabilmektedir. MMP-9 ise damar duvarı endotel altındaki yapıları ve damar düz kas hücrelerini çevreleyen bazal membranın ana yapıtaşı olan tip 4 kollajeni parçalar. Bu çok yönlü enzimin damar ve kalp yeniden yapılandırılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca çok sayıda genetik epidemiyolojik çalışma MMP-3 polimorfizminin değişik kalp-damar hastalıkları ile ilişkili olduğunu göstermiştir.^{13,14, 15,16}

Bugün dikkatler daha çok miyokard infarktüsünde genetik duyarlılık ve bazı genetik belirteçlerin tanımlanması üzerinedir ve bulunan bulguların miyokard infarktüsünün erken tanısına yardımcı olacağı yönündedir.¹⁷ Birçok MMP gen polimorfizmi ile koroner arter hastalığı, darlık, kalp krizi, koroner anevrizma, inme ve büyük damar ateroskerozu gibi kalp damar hastalıkları birlikte bulunmaktadır.¹⁴

Çalışmamızda hem ateroskleroz gelişim sürecinde hem de plak yırtılmasında rolü olduğu düşünülen MMP'ler arasında özellikle MMP-3 ve MMP-9'un normal arterlerde bulunmayıp aterosklerotik plaklarda bulunması nedeni ile bu çalışmada MMP-3 ve MMP-9 genlerine ait polimorfizmlerin AMİ tanısında erken bir belirteç olabilir mi sorusuna ışık tutmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Ekstrasellüler Matriks

Tanım

Ekstrasellüler matriks (ESM), hücrelerarası boşluklarda özel bir ortam oluşturan dinamik bir yapıdır. Dokulardaki hücrelerin bir arada tutulmasına yardımcı olur ve bunun yanı sıra hücre büyümesi ve farklılaşmasını denetleyen pek çok hormon için depo görevi yapar. Bu yapı, hücrelerin özel işlevleri gerçekleştirmesi için kendilerini yönlendirecek hücre içi iletişim yolları ile doğrudan ya da dolaylı olarak etkileşmesini sağlar. Matriks ile hücreler arasında meydana gelen bu etkileşmeler organizmanın normal gelişimi için önemlidir. Çevrelediği hücreler için destek oluşturmasının yanı sıra ESM'nin çok değişik işlevleri bulunur.

ESM'nin İşlevleri: ^{9,18}

1. Hücrelerin ve dokuların bir arada tutulmasına yardım eder.
2. Hücreler arası boşlukları doldurur.
3. Destek görevi görür (kemik ve kıkırdak).
4. Hücre yapısı ve hareketinde görev alır.
5. Hücre gelişim ve farklılaşmasını sağlar.
6. Besin ve madde alışverişi sağlar.
7. Hücre yaşamının devamlılığında görev alır.
8. Hücrelerin göçü ve birbirleri ile olan ilişkilerini düzenler.

Ekstrasellüler matriksin temel bileşenleri; kollajen, adesiv glikoproteinler ve proteoglikanlardır. ESM temelde substantia fundamentalis içinde yüzen çözünmez protein liflerinden oluşmuştur. ESM'de bulunan başlıca lifsel proteinler kollajen ve

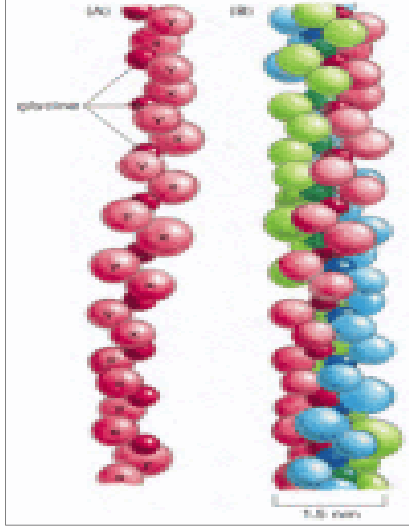
elastindir. Kollajen, elastin ve temel maddenin doku bileşimindeki oranlarına göre bağ dokularının özellikleri değişmektedir. Liflerin arasını dolduran temel maddenin moleküler bileşenleri arasında proteoglikanlar ile adesiv glikoproteinler önem taşımaktadır. Kendilerine özgül lifleri oluşturan kollajen ve elastin ile bir çok dokuda yer alan ve 10-12 nm uzunluğundaki mikrofibrillerin yapısal bileşeni olan fibrillin, bağ dokusu ekstrasellüler matriksinin başlıca proteinleri arasında yer almaktadır.¹⁹ Oldukça akışmaz yapıda olan proteoglikanlar hücrelere yastık görevi yaparlar. Kollajen fibrilleri çözünür yapıda değildir, hücrelere esneklik ve güç kazandırır. Adesiv glikoproteinler ise çözünür yapıda olup proteoglikanlar ve kollajenin hücre yüzeyine bağlanmasını sağlarlar.²⁰

Kollajen

Sinekten insana kadar birçok canlıda en fazla bulunan protein kollajendir. İnsan vücudundaki toplam proteinin yaklaşık %30'unu oluşturur. Kollajeni diğer matriks moleküllerinden ayıran özellikleri şunlardır:²¹

1. α zinciri olarak adlandırılan, üç polipeptit zincirden oluşan üçlü sarmal yapıdadır.
2. Glisin bu üçlü sarmal yapı için esastır.
3. İki özgün aminoasit içerir; hidroksilizin ve hidroksiprolin.
4. Lizin kaynaklı intra ve intermoleküler çapraz bağlar ile stabilizasyonu sağlar.

Değişik kollajen alt birimlerinin birleşmesi sonucunda farklı kollajen tipleri ortaya çıkmaktadır. Bugüne kadar en az 19 farklı kollajen tipi tanımlanmıştır. Vücut kollajenleri içinde nicel olarak toplam kollajen miktarının %70 kadarını tip I, II ve III kollajenler oluşturmaktadır. Glisin'in en küçük amino asit olması, üçlü sarmallı α heliksin bir arada sıkıca sarılıp kollajen süperheliksinin oluşmasını sağlar. Şekil 1'de kollajen süperheliksinin yapısı verilmiştir.²²



Şekil 1: Kollajen süperheliksinin yapısı

Kollajen fibrilleri sıklıkla, çapı mikrometrelerce olan iplik benzeri yapıları oluşturmak üzere bir araya gelirler. Tip IX ve tip XII kollajenler, kollajen fibrilin yüzey biçimlenmesini oluşturduklarından fibril ilişkili kollajenler olarak adlandırılırlar. Tip IX ve XII kollajenlerin, ESM içinde bir iplikçiğin diğerine tutunmasını sağladıkları düşünülmektedir. Tip IV ve VII kollajenler ağ oluşturan kollajenlerdir. Tip IV kollajenler, bazal laminanın büyük bölümünü yapan keçe benzeri tabakaları oluşturmak üzere bir araya toplanırlar. Tip VII kollajenler ise ankorig fibriller olarak adlandırılan özelleşmiş yapıları oluşturmak üzere dimer oluştururlar. Bu ankorig fibriller, çok katlı epitellerin bazal laminasının altındaki bağ dokusuna tutunmasını sağlarlar.²²

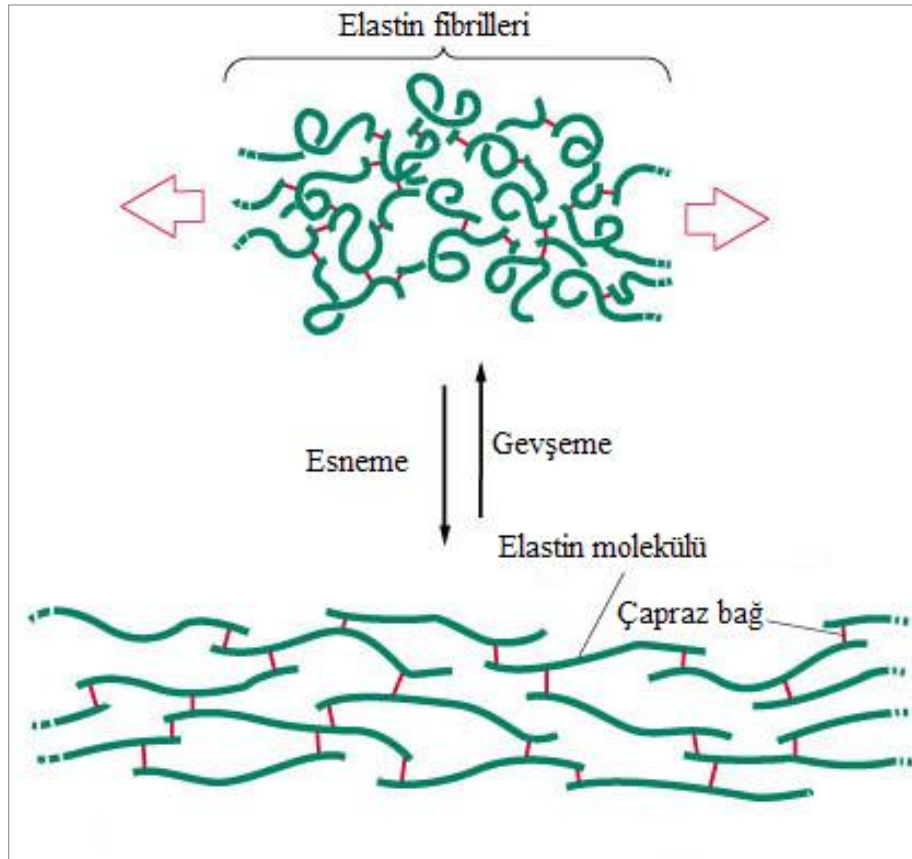
Elastin

Elastin, akciğer ve kan damarı gibi yinelenen, gerilmelere maruz kalan dokulara esneklik kazandıran ESM proteindir. Memelilerde tek gen tarafından kodlanır ve tropoelastin adı verilen 60-70 kDa ağırlığında monomerler halinde salgılanır. Bu monomerler fibulinler yardımıyla mikrofibrillerle ilişki kurar, böylece

esnek lifler oluşur. Elastinin yapısında kollajenden farklı olarak karbonhidrat yer almamaktadır.²²

Elastinin amino asit bileşiminin %90 kadarını apolar yan zincirler içeren aminoasitler oluşturmaktadır. Bu nedenle elastin bilinen en apolar proteinlerden birisidir. Su ile hidrojen bağı veya elektrostatik bağ yapabilen hidrofilik aminoasitlerin oranı çok düşüktür. Kollajende bulunan hidroksilizin, elastinin bileşiminde bulunmaz. Elastin ve kollajenin glisin ve prolin düzeyleri birbirine yakındır. Metiyonin ve histidin, elastin ve kollajen yapısında yok denecek kadar az miktardadır. Elastinin hidroliz ürünleri arasında yer alan aminoasitlerden olan desmozin, izodesmozin, merodesmozin ve lizinilnorlösin, proteinin çapraz bağlarının yapısal bileşenini oluşturmaktadır.^{19,22}

Yapısal özellikleri ile yakından ilişkili olan elastin molekülünün esnek yapısının gerilme ve gevşeme gibi başlıca iki bileşeni bulunmaktadır. Esneme ve gevşeme durumunda elastin molekülündeki değişiklikler Şekil 2'de verilmiş olup, gerilme olayı sırasında elastin yapısındaki hidrofobik etkileşimler yıkılmakta ve polar olmayan aminoasitler su molekülleri ile karşıkışıya kalmaktadır. Serbest enerji miktarı artmakta ve esnek enerji birikmektedir. Geri dönüş olan gevşeme sırasında ise bu enerji kullanılmakta, serbest iç enerji azalmakta ve hidrofobik etkileşimler yeniden oluşmaktadır. Vücut proteinleri arasında en az yenilene protein olarak bilinen elastin, ancak bir hasar sonrasında yeniden yapılmaktadır. Ribozomlarda yapılan tropoelastin, kollajendeki kadar olmasa da birtakım post-translasyonel değişimlere uğramaktadır. Hücre dışına salgılanan tropoelastin ve yapısal glikoproteinler arasındaki elektrostatik etkileşimler sonucu tropoelastin molekülleri mikrofibril dizilerinin arasında yer almakta ve çapraz kovalent bağlar oluşturarak elastine polimerleşmektedir.^{19,18}



Şekil 2: Esneme ve gevşeme durumunda elastin molekülündeki değişiklikler

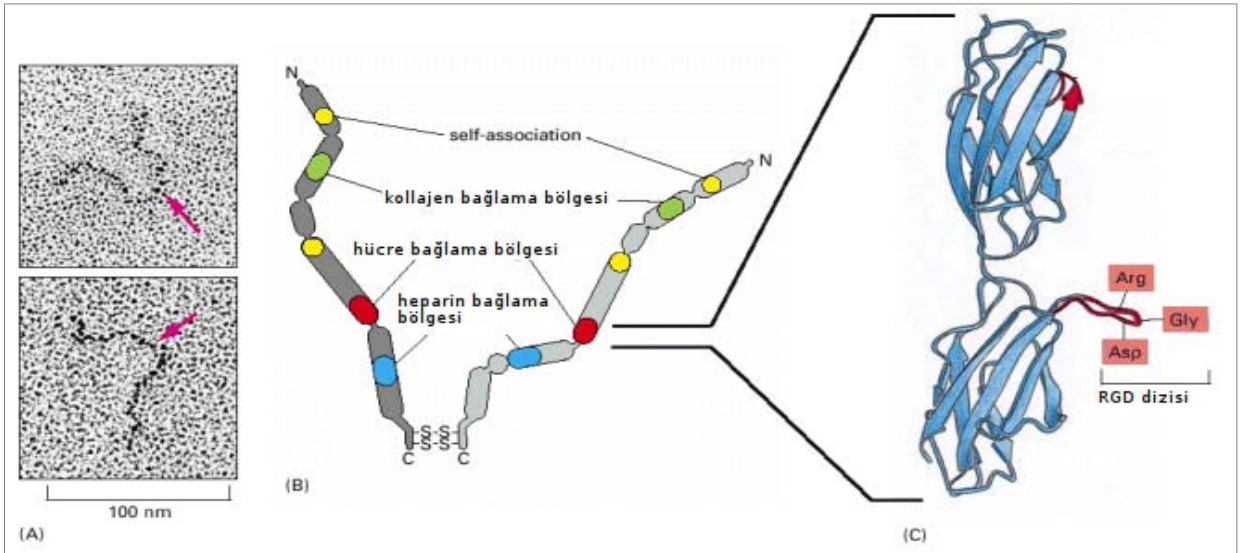
Adesiv Özellikte Olan Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri

Hücreler ESM'ye fibronektin, laminin, vitronektin, trombospondin, tenaskin, entaktin, nefronektin, fibrinojen gibi adesiv glikoproteinler aracılığı ile tutunurlar. Birçok adesiv glikoprotein hücrelere, distroglikan ve sindekan gibi hücre yüzey reseptörleri ile ilişkide olan hücre yüzey integrin reseptörleri aracılığı ile bağlanır. İntegrinler hücreleri ESM'ye bağlayan en önemli hücre yüzey reseptörleridirler. Hücreler ve ESM arasındaki ilişki, hücre göçü, büyümesi, farklılaşması ve yaşamını sürdürebilmesi gibi hücresel yanıtlara neden olmaktadır.²²

Fibronektin

Ekstrasellüler matriksin temel adesiv glikoproteinlerinden olan fibronektin, aynı zamanda plazmada çözünür biçimde bulunmaktadır. Şekil 3'de yapısı verilen fibronektin, her biri 230 kDa olan ve birbirlerine karboksil uçlarından iki adet disülfid

köprüsü ile bağlı iki benzer alt birimden oluşmuştur. Doku kültürlerinde veya jelatin kaplı yüzeylere hücrelerin yapışmasını sağlayan fibronektinin geniş biyolojik etkinlik alanı bulunmaktadır. Embriyonik hücreler ile tümör hücrelerinin in vitro ve in vivo olarak göçünü ve çoğalmasını başlattığı, hücre farklılaşmasını, hücrenin şekli ile hareketini denetlediği gösterilmiştir. Ayrıca, yara iyileşmesi, homeostaz, metastaz ve doku ile organ gelişiminin denetlenmesinde görev almaktadır. Fibrinojen ve kollajenin makrofajlara bağlanmasının ve fibroblastların fibrin pıhtılarının retraksiyonunun düzenleyicisidir. Fibroblastların fibronektin reseptörünün aminoasit dizilimi belirlenmiş ve proteinin, integrin sınıfından bir transmembran proteini olduğu ortaya konmuştur.^{18,19}

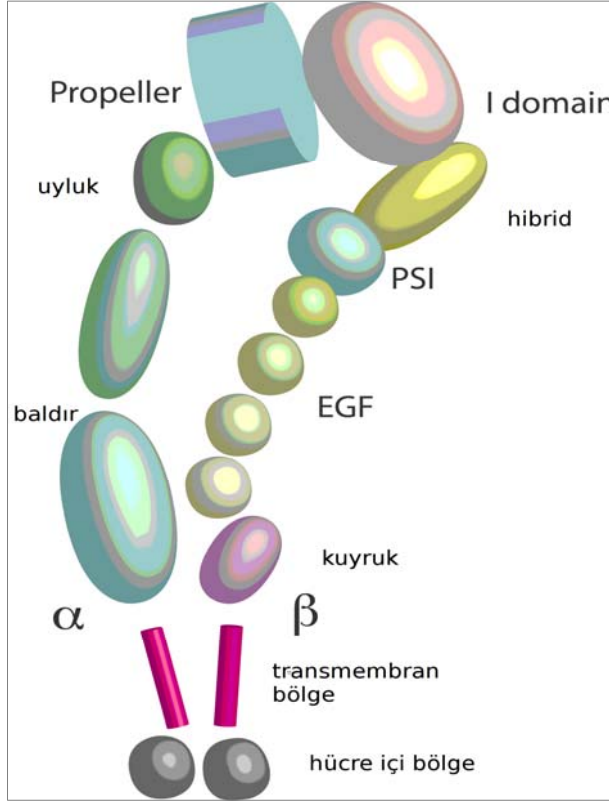


Şekil 3: Fibronektinin yapısı

İntegrin

İntegrinler, değişik α ve β tipi polipeptid zincirleri içeren heterodimerler olup integrinin yapısı şekil 4'te verilmiştir. Fibronektinde tekrarlayan dizi oluşturan Arg-Gli-Asp (RGD), reseptöre bağlanmaktadır. RGD üçlü yapısını içeren sentetik peptidler, fibronektinin hücre yüzeylerine bağlanmasını engellemektedir. Bu transmembran

protein reseptörlere bağlanabilen diğer adesiv glikoproteinlerde de RGD üçlü yapısı bulunmaktadır. Bu şekilde hücre içi ile dışı arasındaki ilişki sağlanmaktadır. ^{19,22}

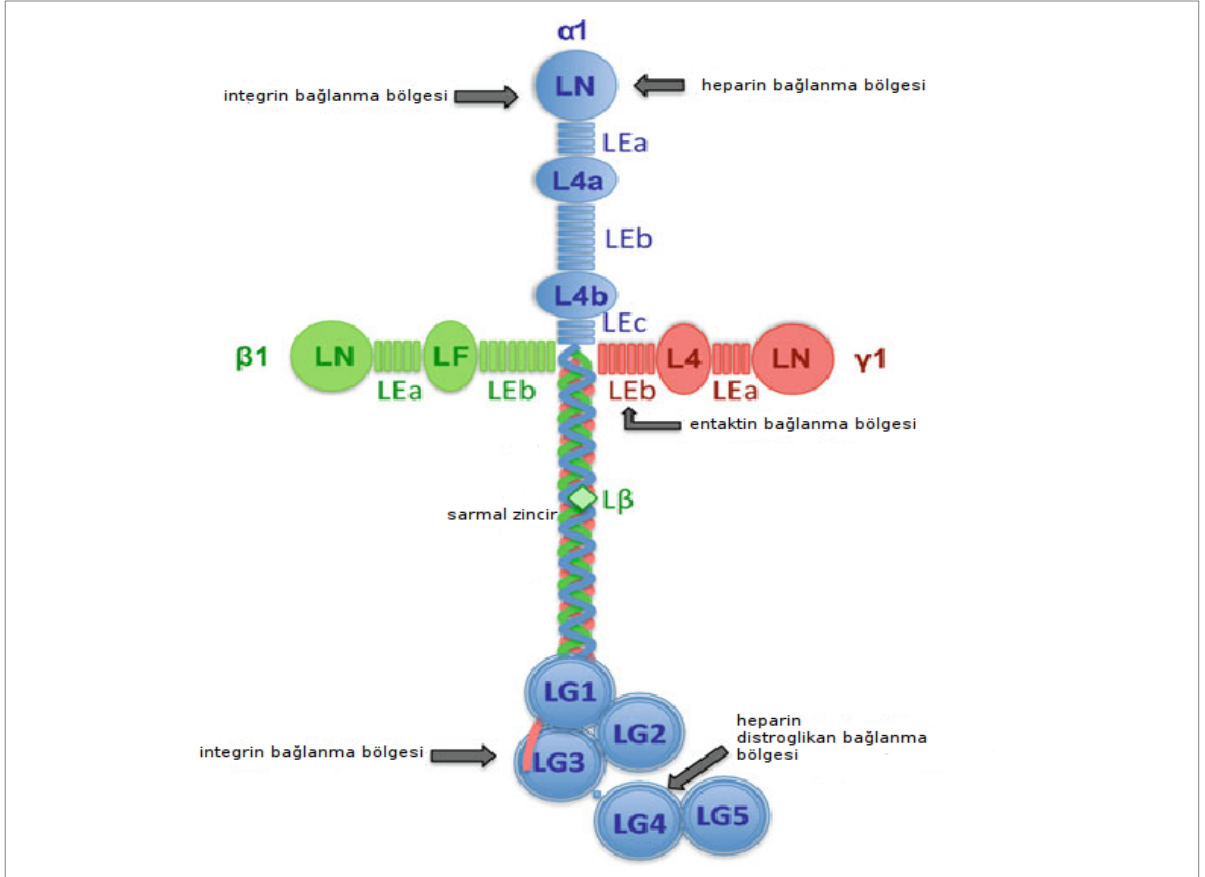


Şekil 4: İntegrinin yapısı

Laminin

Birçok hücre bir bazal membrana yapışık durumdadır. Bazal membran ile hücre yüzey reseptörleri arasındaki etkileşimler sonucunda hücre şekli, göç, farklılaşma ve apoptozis gibi fonksiyonlar yönlendirilir. Ayrıca, bazal membran büyüme faktörlerini bağlayarak hücrelere ulaştırır. Bazal membranlar Tip IV kollajen, laminin, nidojen ve diğer proteinlerden oluşur. Bunlardan laminin bazal membranın başlıca nonkollagenöz proteinidir. Laminin ESM bileşenleriyle etkileşimlerin yanısıra çeşitli hücrelerin yapışma, çoğalma ve göç etkinliklerini de düzenler. Şekil 5'te laminin yapısı ve bağlanma bölgeleri verilmiş olup, yapısında integrin, heparin,

entaktin ve distroglikan bağlanma bölgeleri olmak üzere 4 farklı bağlanma bölgesi vardır. Laminin hücrelerin hareketliliğini arttırabilir ya da azaltabilir. Bazal epitel hücrelerinin bazal laminadan ayrılması, hızlı büyüme ve MMP salgısı gibi etkinlikler için sinyal oluşturabilir.^{18,22}



Şekil 5: Laminin yapısı ve bağlanma bölgeleri

Osteonektin

Morfogenez, remodelasyon ve tamir olaylarında dokulardaki osteonektin miktarı artar. Kollagen, hidrokسيلapatit, albümin ve trombospondin gibi çeşitli bileşenlere bağlanabilir. Periodontal fibroblastlar tarafından sentezlenir. Yara iyileşmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Hücrelerin yayılmasını engeller. Sitokin ve büyüme faktörlerine bağlanarak endotel hücreleri gibi bazı hücrelerin

büyümelerini düzenler. ESM bileşenlerinin ve özellikle MMP'lerin sentezini etkiler. Transforming büyüme faktörü β (TGF β) osteonektinin etkinliğini düzenlemede etkilidir.²¹

Vitronektin

Plazma ve ESM'de bulunan asidik bir glikoproteindir. Çeşitli integrinlere bağlanabilir. Hücre-matriks haberleşmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Hücre adezyonunu artırır, hücre yayılımını ve göçünü yönlendirir. Yara iyileşmesinde önemlidir. Konak immün işlevlerini etkileyebilir. Belirli bazı hücreler, özellikle polimorf nüveli lökositler (PNL) vitronektin üzerinde göç eder.²¹

Tenaskin

Hücre bağlanmasını artırabilir ya da engelleyebilir. Kondroitin sülfat, proteoglikan tenasin ile yüksek etkileşim özelliğine sahiptir. Kollagen, fibronektin veya lamininlere önemli bir bağlanma özelliği yoktur. Epitel-mezenkimal doku birleşim bölgelerinde bulunur. Erişkin dokularında azdır fakat yara iyileşmesinde, özellikle granülasyon dokusunun oluşum aşamasında artar.²¹

Proteoglikanlar

Hücreler arası madde, lifler ve liflerin içinde yüzdüğü temel madde veya substantia fundamentalisten oluşmaktadır. Substantia fundamentalisin temel bileşenleri olan proteoglikanların polisakkarid zincirlerine glikozaminoglikan adı verilmektedir. Hiyaluronik asit, 4- ve 6- kondroitin sülfatlar, dermatan sülfat, heparin ve heparan sülfat olmak üzere altı glikozaminoglikan sınıfı bulunmaktadır. Protein zincirine hiyaluronik asit dışında kovalent olarak bağlanan bütün glikozaminoglikanların bağlantı bölgesinde, galaktoz-galaktoz-ksiloz-serin bulunmaktadır. Bu şekilde kıkırdakta hiyalüronat, keratan sülfat, kondroitin sülfat ve protein kapsayan proteoglikan agregatı gibi karmaşık bir yapı oluşmaktadır.¹⁹

Hiyaluronik asit ile özellikle ilişkide olan proteoglikanlar hiyalektin olarak bilinirler. Bu aileye aggrekan, versikan, nörokan ve brevikan dahildir. Hiyaluronik asit ile ilişkideki proteoglikanlar farklı dokuların yapısal ve mekanik kararlılığını sağlayan makromolekülleri oluştururlar.²¹

Kalp Dokusunun Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri

Kalp bağ dokusu temel olarak kollajenden daha az olarak ise elastin, laminin ve fibronektinden oluşur. Kollajenlerden de Tip I ve III kollajen kalp ekstrasellüler matriksinin ana bileşeni olup iplikçikler oluşturarak kalp kası hücrelerinin ve myokardiyumdaki diğer yapıların bir arada tutulmasını sağlar. Bu özellik de ortaya çıkan mekanik gücün iletilmesinde önemlidir. Kalp dokusundaki toplam kollajenin yaklaşık %85'i Tip I kollajendir ve buna ek olarak Tip III ve Tip V kollajen de bulunmaktadır. Diğer dokularda olduğu gibi kalp dokusunun bazal membranında Tip VI ve tip IV kollajen yer almaktadır. Kalp dokusunda bulunan diğer kollajen türleri Tip XIII, XV ve XVIII'dir.²³

Matriks Metalloproteinazlar

Hücre matriks etkileşimleri, ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu olan proteolitik enzimler tarafından düzenlenir. Bu enzimler ESM yapısının bileşimini ve bütünlüğünü düzenleyerek matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin denetlenmesi, hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre ölümünde de temel rol oynar. Bu enzim sistemlerinin içinde Matriks Metalloproteinazlar (MMP) önemli bir yer tutar. MMP'ler, ESM bileşenlerini yıkıma uğratan Zn⁺⁺ ve Ca⁺⁺ bağımlı endopeptidaz ailesidir. Türlerine göre; endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, damar düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitel hücreleri mezenşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar ve osteoblastlar gibi çok çeşitli hücre tipleri tarafından üretilirler.⁹

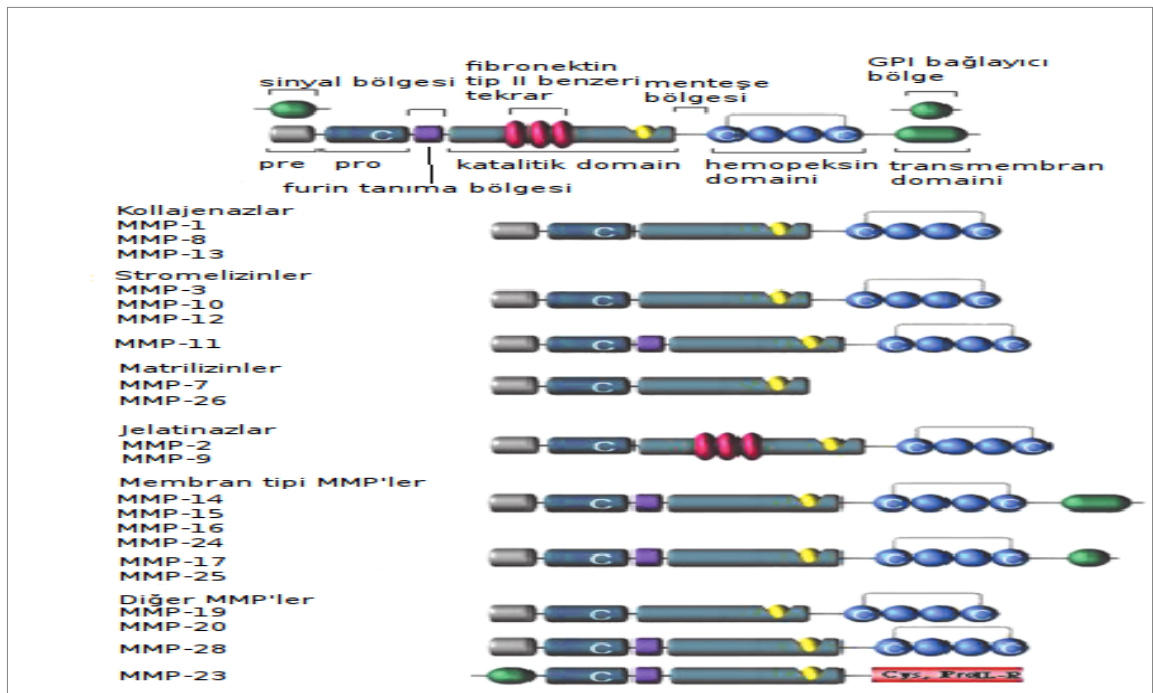
Matriks Metalloproteinazların Tarihçesi

Matriks metalloproteinazlar (MMP) ilk olarak 1949'da depolimerize edici enzimler olarak tanımlanmıştır ve MMP'lerin konnektif stroma ve kan damarlarının oluşumuna katkıda bulunup tümör büyümesini kolaylaştırdıkları öne sürülmüştür. Bundan 13 yıl sonra ilk defa bir omurgalıda matriks metalloproteinazları izole edilmiş ve kollajenazın kurbağa yavrusunun kuyruğunun rezorbe oluşundan sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. Sonraki 20 yılda çeşitli memeli matriks metalloproteinazları kısmen saflaştırılabilmektedir. Seksenli yılların sonlarında moleküler biyolojideki

gelişmeler ile yeni enzimler ve enzimlerin yapılarındaki benzerlikler ortaya konulmuştur. Matriks metalloproteinazlarının bağ dokusu yenilenmesindeki rolü ise yaklaşık 25 yıl kadar önce sinovyal eklem inflamasyon ve artritdeki anormal kırık ve kemik ekstrasellüler matriks dönüşümü çalışmalarında tespit edilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar ile klasik matriks metalloproteinazları ve yeni keşfedilen matriks metalloproteinaz enzim ailelerinin epifizlere ait kırık ve displazileri, kanser ve metastaz, kalp yetmezliği ve serebral iskemide belirgin rollerinin olduğu ortaya konulmuştur.²⁴

Matriks Metalloproteinazların Yapısı ve Sınıflandırılması

Matriks metalloproteinazlar çeşitli ortak yapısal özelliklere sahiptirler. MMP'lerin yapısı Şekil 6'da verilmiş olup tümü tipik olarak N terminalinde enzimin öncü dizilimi olan pre-domain içerirler. Bu öncü dizilim, enzimi salgılanma için işaretler ve salgılanma sonrasında kaybolur. İkinci bölge olan pro-domain, enzimin kalıcı formda kalmasından sorumlu olup enzimin etkinleşmesinin ardından kaybolur. Bir sonraki bölge Zn⁺⁺ bağlayan bölümü içeren katalitik domaindir. Katalitik domain ek olarak 2- 3 Ca⁺⁺ iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzimatik etkinliğin oluşması için gereklidir.²⁵



Şekil 6: Matriks metalloproteinazların yapısı

MMP-7 ve MMP-26 dışındaki diğer bütün MMP'ler C ucunda hemopeksin / vitronektin benzeri domain içerirler. Bu bölge aslında "hem" bağlayan bir peptid olup endojen matriks metalloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) jelatinaz kümesinden MMP'lere ve MMP-13'e bağlanması ile ilişkilidir.²⁶ Katalitik domaini hemopeksin benzeri domaine bağlayan peptid, prolinden zengin olup menteşe bölgesi adını alır.²⁷

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı proteinlerdir. Ancak son çalışmalar da MMP-1, MMP-2 ve MMP-11'in hücre içinde de bulunup hücre içi proteinler üzerinde etkileri olabileceği bildirilmektedir. Tipik bir MMP propeptid bölgesinde 80 aminoasit, katalitik bölgesinde 170 aminoasit, menteşe bölgesinde ve hemopeksin bölgesinde 200 aminoasit bulunmaktadır. Bu genellemeden ayrı olarak MMP-7, MMP-26 ve MMP-23 menteşe ve hemopeksin bölgesi içermemektedir.²⁸

Matriks metalloproteinazlar bu yapısal bütünlüğü düzenleme özelliğinden dolayı bazı fizyolojik olaylarda (embriyonik gelişim, hücre göçü, yara iyileşmesi, doku rezorpsiyonu, blastokist gömülmesi, organ yapısının gelişimi, sinir büyümesi, ovulasyon, servikal genişleme, endometrial döngü, angiogenez, apoptozis, kemik yeniden yapılanması, trombosit işlevlerinin düzenlenmesi) büyük önem taşırlar.^{6,25}

Normal fizyolojik koşullarda MMP etkinliği; transkripsiyon düzeyinde, öncül zimojenlerin etkinleşmesi ve bazı hücre dışı matriks içeriği ile MMP'nin etkileşime girmesi ile düzenlenir. MMP etkinliğinin denetiminin kaybolması sonucunda artrit, kanser, ateroskleroz, ülser, fibrozis ve anevrizma gibi hastalıklara yakalanma olasılığında artış görülmektedir. TIMP'ler dokulardaki MMP'lerin bölgesel etkinliğini düzenlerler. Günümüze kadar 24 farklı MMP tanımlanmış olup bunların 23 tanesi insanda bulunmaktadır.²⁹ Substrat özgüllüğü, sekans benzerliği ve domain içeriği göz önüne alındığında vertebralılardaki MMP'ler altı kümeye ayrılırlar. (Tablo 1) Bunlar²⁸

1. Kollajenazlar
2. Jelatinazlar
3. Stromelisinler
4. Matrilizinler
5. Membran tipi MMP'ler
6. Diğer MMP'ler

1

Tablo 1. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması

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

Kollajenazlar

MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18 kollajenazlar grubunda yer alırlar. Bu enzimlerin ana özelliği, hücreler arası alanda tip I, II, III kollajenleri parçalayabilme yeteneğidir.²⁹ MMP-1, insan keratinosit, fibroblast, sinovyal hücreler ve monosit-makrofaj tarafından sunulur. Fizyolojik pH ve ısıda interstisyel kollajen tip I, Tip II ve Tip III'ü parçalar. Bunlara ek olarak filamentlerdeki kollajen VII'yi, kollajen VIII ve X 'u da parçalar. Plazma antiproteazları gibi bazı kollajen olmayan substratları da parçalar. MMP-8 de (insan nötrofil interstisyel kollojenazı) MMP-1'e çok benzer yapıdadır. Çözünebilen tip I kollajeni daha hızlı, tip III kollajeni daha yavaş parçalar. MMP-13 (kollajenaz 3) diğerlerinden farklı olarak özellikle tip II kollajen üzerine daha etkilidir. Özellikle tip II kollajeni parçalaması ve kondrositler tarafından üretilmesinden dolayı osteoartrit patogenezinde rolü olabileceği düşünölmektedir. Parçalanan kollajenler kendiliğinden denatüre olup jelatinlere dönüşörlür ve diğer proteinazlar tarafından parçalanırlar.²⁴

Jelatinazlar

Jelatinazlar grubunda MMP 2 (jelatinaz A) ve MMP 9 (jelatinaz B) yer alır. Bu grup, denature olmuş kollajenler ve jelatinleri kolayca sindirir. Bu enzimler kollajen, laminin ve jelatine bağlanan katalitik bölgenin içine yerleşmiş ve üç defa tekrarlanmış tip II fibronektin bölgesi içerir. Bu bölge jelatinazların, jelatin ve kollajene yüksek ilgi ile bağlanmalarını sağlar ve böylece proteolitik etkinliklerini artırır. Bu özellik elastolitik etkinlik için de temeldir.³⁰

MMP 9'dan farklı olarak MMP 2 ; Tip I, Tip II ve Tip III kollajeni parçalar. MMP 2'si olmayan farelerde belirgin bir anomali gelişmezken, MMP 2'si mutasyona uğramış insanlarda etkin enzim eksikliği ile giden ve etkilenmiş kemiklerde yıkımla sonuçlanan otozomal resesif bir genetik hastalık olan multisentrik osteolizis ortaya çıkar. Bu da MMP 2'nin insanlardaki kemik oluşumunda önemli olduğunu göstermektedir.²⁹

Tip IV kollajen , bazal membranların ana bileşenidir ve bazal membran toplam proteininin %40-65'ini oluşturur. İnterstisyel kollajenazlar tip IV kollajeni parçalayamazlar. Tip IV kollajenin helikal bölümünü parçalayan ilk kollajenaz fare melanoma hücre kültürlerinde gösterilmiştir. Daha sonra bunun insan fibroblast jelatinaz-A ile aynı olduğu anlaşılmıştır. Jelatinaz-A genel olarak interstisyel kollajenazların başlattığı kollajen yıkımını tamamlar. Jelatini interstisyel kollajenazlardan 100 kat daha hızlı parçalar. İnsan makrofaj, granülosit, keratinosit, ve diğer bazı hücre türleri bir glikoprotein olan jelatinaz-B'yi üretirler.²⁴

Stromelizinler

Stromelizin 1 (MMP 3) ve stromelizin 2 (MMP 10) benzer substrat özgüllüğüne sahip iken, MMP 3'ün proteolitik etkinliği MMP 10'a göre daha yüksektir. MMP 11, stromelizin 3 olarak da adlandırılmasına rağmen diğer MMP'ler içinde sınıflandırılır çünkü sekans ve substrat özgüllüğü MMP 3 ve 10'dan ayırır.²⁹

Fibroblastlardan pro-stromelizin-1 olarak üretilen Stromelizin-1 çok sayıda substratı parçalar. Başlıca substratları proteoglikanlar, tip IV kollajen, laminin ve fibronektindir. Jelatin ve kazeine daha düşük ilgi gösterir, tip III ve IX kollajeni de bir telopeptidaz gibi kesebilir. Hücresele fibrinolizde de önemli işlevi olduğu düşünülmektedir. Stromelizin-2, stromelizin-1 ile aynı substratları parçalar fakat buldukları dokular farklıdır. Örneğin keratinositlerde yalnızca stromelizin-2 uyarılırken Romatoid sinovya sıvısında yalnızca stromelizin-1 bulunur. Yara iyileşmesi sırasında ise keratinositlerde her ikisi de eksprese edilir. Stromelizin-3 diğerlerinin ESM substratlarını parçalamazken özgül olarak α 1-tripsin inhibitörünü parçalar. Fizyolojik rolü kesin olarak bilinmemekle birlikte epitelial tümörlerin stromasında çok miktarda bulunduğu için serin proteaz inhibitörlerini baskılayarak plazmin gibi enzimlerin matriks proteinlerini parçalamasını sağladığı düşünülmektedir.²⁴

Matrilizinler

Matrilizinler, hemopeksin bölgesinin yokluğu ile karakterizedirler. MMP 7(Matrilizin-1) ve MMP 26 (Matrilizin-2) bu gruptadır ve endometazlar olarak da adlandırılırlar. MMP 7, ESM içeriklerine ek olarak hücre yüzey moleküllerinden pro- α -defensin, fas-ligand, TNF- α ve E-cadherin üzerine de etkilidir.²⁹

Matrilizinler, en küçük matriks metalloproteinazlardır. Çok sayıda substratı parçalar. Bunlar başlıca tip IV kollajen, fibronektin, entaktin, elastin, agrekan ve β 4-integrindir. Özel olarak glandüler yapıların epitelinde ve monosit kökenli makrofajlarda bulunur. Duktal yapılardan lümene salınımı olmaktadır ve bu esas işlevinin duktusların tıkanmasını önleyici olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ortamdaki bakteri yükü arttıkça matrilizin de artmaktadır. Matrilizin, prodefensinleri etkin form olan defensinlere parçalayarak epitelyal bağışıklıkta önemli rol almaktadır. Matrilizin ayrıca hava yolları epitellerinin tamirinde önemli rol almaktadır. Çoğu karsinomda matrilizin tespit edilmiştir ve özellikle tümör adalarında saptanmıştır. Buna karşın diğer matriks metalloproteinazları genellikle tümörü çevreleyen stromada tespit edilmiştir. Matrilizin-2 ise ilk defa endometriyumda saptanmıştır. Matrilizin-1 gibi geniş spektrumludur ve jelatinaz-B'yi etkinleştirir. Aminoasit yapısı olarak metalloelastaza benzer.²⁴

Membran Tipi Matriks Metalloproteinazlar

Diğer matriks metalloproteinazlar hücre dışı alana proenzim olarak salınırlar, Membran Tipi matrix metalloproteinazları (MT-MMP) hücre membranına bağlı olarak bulunurlar. Yapı olarak birbirlerine benzerler. Çok sayıda substratları olan güçlü matriks metalloproteinazlarıdır ve başlıca substratları kollajenler, fibronektin ve proteoglikanlardır. Buna karşın yüksek doku özgüllüğü gösterirler ve buldukları dokular farklıdır. Altı tane MT-MMP bulunmaktadır. Dört tanesi Tip 1 transmembran proteini (MMP 14, MMP 15, MMP 16, MMP 24), iki tanesi (MMP 17, MMP 25) glikozilfosfatidilinositol bağlı proteindir.²⁴

Membran tip-matriks metalloproteinaz IV (MT4-MMP) dışındaki MT-MMP'lerin hepsinin proMMP 2'yi etkinleştirme özelliği vardır. Bu enzimler ESM moleküllerinden çoğunu sindirebilmekle birlikte MT1-MMP, kollajen tip I, II ve III'ü parçalayabilme özelliği vardır. MT1-MMP olmayan farelerde doğum sonrasında iskelet anomalilerinin olması kollajenolitik etkinliğin eksikliğinden kaynaklanmaktadır.²⁹ MT1-MMP aynı zamanda anjiogeneziste önemli görev almaktadır. MT-1 MMP'ları özellikle tümör adaları çevresindeki fibroblastik hücrelerde ve kanser hücre membranlarında gösterilmiştir.²⁴ MT5-MMP beyine özgü olup asıl olarak beyincikte eksprese edilir. MT6-MMP (MMP 25) ise kan dolaşımındaki lökositler ve anaplastik astrositoma ve glioblastomalarda eksprese edilir.²⁹

Diğer Matriks Metalloproteinazlar

Bu gruptaki MMP'ler yukarıda sayılan gruplar içinde yer almazlar. Metalloelastazlar (MMP-12), çoğunlukla makrofajlarda eksprese edilirler ve makrofajların göçünde önemli yer tutarlar. Periferik kan monositlerinde bulunmazlar. Akciğerdeki patolojik elastin yıkımında en büyük yeri kaplarlar. Yine plazmini parçalayarak anjiyostatin oluşmasını sağlarlar. Anjiyostatin endotel hücre çoğalmasını baskılayarak anjiogenezini engeller. Enamelizin (MMP-20) ise diş dokusunda bulunur. Mine matriksinin ana bileşiği olan amelogenini parçalar. MMP-19 ve MMP-28 birbirleri ile yakın ilişkiindedirler ve çok sayıda dokuda saptanmışlardır. Bu kadar yaygın olmaları normal doku dönüşümünde görevleri olduğunu düşündürmektedir. MMP-19 bazı bazal membran proteinlerini hidrolize eder. MMP-28 hasar sırasında keratinositlerce eksprese edilmektedir. MMP-23 özellikle over, testis ve prostat dokusunda eksprese edilir.²⁴

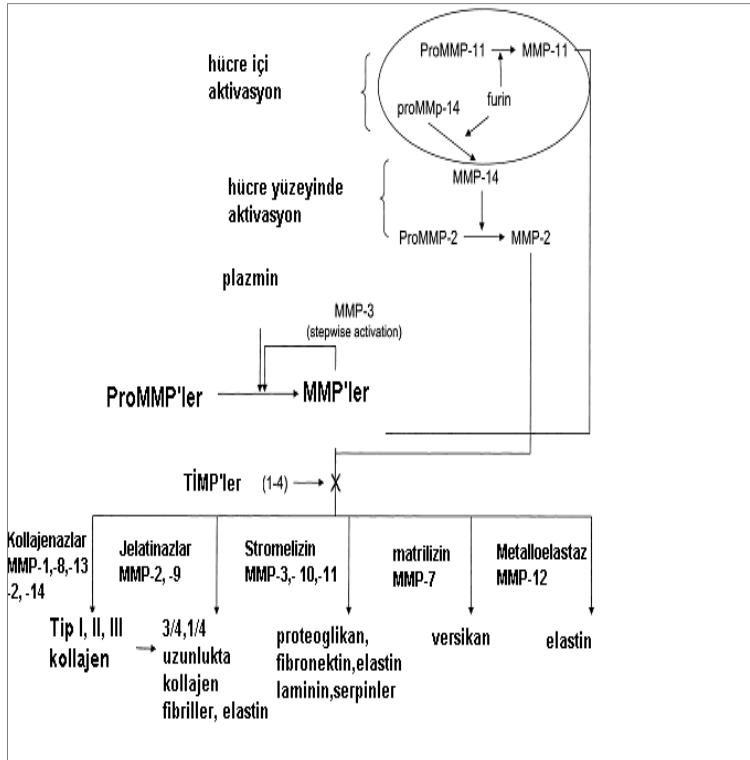
Matriks Metalloproteinazların Etkinliğinin Düzenlenmesi

Matriks Metalloproteinazların (MMP) damar ESM'nin yıkımında işlevi büyüktür. Hemen tüm MMP'ler proenzim olarak üretilip, enzim etkinlikleri propeptid bölge ve çinko içeren bölge arasında bağ oluşumu ile baskılanır. Propeptid

bölgedeki proteolitik yıkım propeptid bölge ile aktif bölge arasındaki bu bağı yıkararak aktif bölgeyi açığa çıkarır.¹⁰ Proenzimlerin etkinleşmesi hücre içinde, MT-MMP'ler aracılığıyla hücre yüzeyinde, diğer proteazların etkisiyle hücre dışı aralıkta ya da "aktivasyon kaskadı" olarak adlandırılan şekilde ya da önceden etkinleşmiş MMP'lerin diğerlerini uyarması ile meydana gelebilir.⁶

MMP'lerin proteolitik etkinliklerinin düzenlenmesi şekil 7'de verilmiş olup, proteolitik etkinliklerinin 3 basamakta düzenlenir. Bunlar¹⁰

1. Transkripsiyon,
2. Pro-enzimin etkinleşmesi,
3. Enzim etkinliğinin baskılanmasıdır.



Şekil 7: Matriks metalloproteinazların etkinliğinin düzenlenmesi

Transkripsiyonel Düzenlenme

Matriks Metalloproteinazların ekspresyonu farklı fizyolojik ve patolojik durumlarda değişiklik gösterir. Ayrıca MMP'lerin ekspresyon düzeyleri sağlıklı yetişkinlerde genel olarak düşüktür. MMP gen ekspresyonu TNF- α , TGF- β , İL-6 İL-1 gibi inflamatuvar sitokinlerle, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi bir çok büyüme faktörü ve hormonlar ile uyarılır. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), heparin, kortikosteroidler, retinoidler, prostoglandin E2 (PGE2) ve diğer eikosanoidler ise MMP gen transkripsiyonunu baskılar. Örneğin TGF- β MMP-2 ve MMP-9'un üretimini uyarırken MMP-1 ve MMP-3'ün üretimini baskılamaktadır.¹⁰ Ayrıca doğrudan hücre hücre etkileşimi, aterosklerotik plakta MMP ekspresyonunun düzenlenmesi üzerinde etkili olabilmektedir. MMP transkripsiyonunda etkili olan birçok sitokin ve büyüme faktörünün ateroskleroz ve restenozda önemli araçlar olarak görev yaptığı gösterilmiştir.³¹

Katekolaminlerden norepinefrinin (NE) artmış üretimi kalp yetmezliğine ilerleyişin en önemli göstergesidir. Ratlara NE infüzyonunun, özellikle infüzyon sonrası 3. günde MMP-2 mRNA ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir. NE'nin MMP transkripsiyonu üzerine dolaylı etkisinin yanında doğrudan etkisi de bulunmaktadır.³²

Proenzimin Etkinleşmesi Aşamasında Düzenleme

Matriks Metalloproteinazlar üretildikten sonra inaktif proenzim (zimojen) olarak salıverilirler. Enzimin pro- bölgesindeki sisteinin sülfidril grubu ile aktif bölgedeki Zn⁺⁺ arasındaki etkileşim latentliğin sürdürülmesinden sorumludur. Latent zimojenlerin uyarılması hücre içinde olabileceği gibi MT-MMP'ler aracılığıyla hücre yüzeyinde, proteazlar veya daha önceden etkinleşmiş MMP'ler yoluyla hücreler arası boşlukta gerçekleşir.⁶

MMP'lerin temel fizyolojik uyararı plazmindir. Çeşitli hücrelerde (endotel hücresi, monosit-makrofaj, düz kas hücresi) eksprese edilen ürokinaz-tip

plazminojen aktivatörü (uPA)'nın aktif formunun plazminojeni plazmine dönüştürdüğü ve oluşan plazminin pro-MMP'leri etkinleştirdiği düşünülmektedir. Bu uPA'nın dahil olduğu proteolitik sistem ile pıhtılaşma kaskadı arasında benzerlikler bulunmaktadır. Örneğin plazmin stromelizini parçalayarak etkinleştirir. Böylece etkinleşen enzim de diğer proenzimleri uyarır. Bu pozitif geri bildirim etkin olduğu bir döngüdür. uPA ekspresyonunun steroid hormonlar, hücresel onkojenler, sitokin ve büyüme faktörleri aracılığıyla düzenlendiği gösterilmiştir. Çeşitli deneysel ateroskleroz modellerinde de arteriyel hasarı takiben gelişen düz kas hücre proliferasyonu sırasında damar duvarında uPA ekspresyonunun önemli oranda arttığı saptanmıştır. Bu nedenle MMP aktivatörü olarak uPA'nın aterosklerotik plak oluşum sürecindeki doku yeniden modellenmesi dahil pek çok aterosklerotik aşamada rol oynadığı kabul edilmektedir. Diğer yandan uPA geni bulunmayan farelerde damar hasarı sonrası neointima gelişiminin durduğu gösterilmiştir.³³

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), uPA üzerinde inhibitör etkilidir ve MMP'lerin plazmin aracılı aktivasyon kaskadı ile zıt yönde etkileşir. PAI-1 yetmezliğinin hasar sonrası neointima artışını uyardığının gösterilmesi bu durumu desteklemektedir. uPA aracılığıyla oluşan aktivasyon kaskadı ile pıhtılaşma kaskadı arasında benzerlikler vardır. uPA aracılı aktivasyon kaskadında bir MMP'nin etkinleşmesi, diğer bir MMP'nin etkinleşmesine yol açar, etkinleşen enzim bir diğer MMP'yi etkinleştirecek şekilde pozitif bir döngü oluşturur. Bu şekilde plazmin pro formdaki MMP-1, MMP-3 ve MMP-9'u etkin formuna dönüştürür. Daha sonra MMP-3, pro-MMP-1'i MMP-1'e dönüştürür, MMP-1 de pro-MMP-9'u etkin formuna dönüştürür. MT-MMP'ler de diğer MMP'lerin özellikle MMP-2'nin uyarıcısıdır. Oluşturdukları proteolitik etkinlik artışı plazminojen/plazmin aktivatör sistemine benzer biçimde hücre yüzeyinde gerçekleşir. Diğer yandan MMP-2 ve MMP-9 etkinleşmiş doku makrofajları tarafından üretilen (özellikle aterosklerotik plak içindeki köpük hücre makrofajları) serbest radikallerin etkisiyle ESM içinde kendiliğinden etkinleşebilir. Böylece oksidatif stres latent MMP zimojenlerinin uyarılmasını artırarak bölgesel metalloproteinaz etkinliğinin artmasına ve arteriyel duvarın yeniden şekillenmesine katkıda bulunur.³³

Matriks Metalloproteinaz Enzim Etkinliğinin Baskılanması

Etkinleşmiş matriks Metalloproteinazların denetiminde özgül matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) anahtar rol oynarlar. Bu güne kadar tanımlanmış ve yapısal olarak ilişkili dört tane TIMP üyesi bulunmaktadır. Bunlar TIMP-1, -2, -3 ve -4'tür.¹¹ Ayrıca α 2-makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında yer alırlar. Genel anlamda TIMP'ler etkinleşmiş MMP'lerin katalitik bölgelerine bağlanarak substratına bağlanmalarını önlerler. TIMP'ler içinde TIMP-3 ekstrasellüler matriks proteinlerine doğrudan bağlanmasından dolayı farklıdır.³²

Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan proteinlerdir. Çoğu dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere geri dönüşümsüz ve kovalent olmayan biçimde bağlanarak latent enzim formunun etkinleşmesini ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de baskılar. Böylece TIMP'ler MMP enzim etkinliğini ve MMP/TIMP dengesini sıkı denetim altında tutarlar.³³

Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri de MMP'ler gibi damar düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilirler. TIMP'ler MMP etkinliğini baskılama yönünden benzerlik göstermekle birlikte matriksteki yerleşimleri ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi yönünden aralarında farklar vardır. TIMP-4, TIMP ailesinin en son tanımlanmış üyesi olup kalp damar sisteminde özellikle de miyokarda yüksek oranda eksprese edilir.³²

Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri değişik MMP türlerine özgüllük gösterirler. Örneğin; MMP-2 tercihen TIMP-2 ile, MMP-9 ise TIMP-1 ile baskılanırlar. Aktif MMP inhibitörlerinden biri olan α 2-makroglobulin yüksek molekül ağırlıklı bir serum proteindir ve aktif MMP-2'ye bağlandığında onun toplam molekül ağırlığını arttırarak hareket yeteneğini kısıtlamaktadır ve inhibitör etkinliğinin sıvı fazda gerçekleştiği ileri sürülmektedir. MMP molekülünün Zn^{++} içeren aktif

bölgesine bağlanarak enzimde yapısal değişikliğe yol açar ve enzimin aktivitesini kaybetmesine neden olur. Son yıllarda peptid ve non-peptid yapıda sentetik MMP inhibitörleri de üretilmiştir. Bu inhibitörler en çok kanser tedavisinde olmak üzere kardiovasküler hastalıklar, artrit, psöriyazis, peridontal hastalık ve makula dejenerasyonu gibi farklı hastalıkların tedavisinde denenmiştir. Bu ilaçların düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu azalttıkları, dolayısıyla ateroskleroz gelişimini inhibe ettikleri de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir.³⁴

Kolesterol biyosentezinde anahtar enzim olan HMGCoA reduktaz enzimini inhibe ederek etki gösteren statinlerin de lipid düşürücü etkilerinden farklı olarak MMP sentez ve aktivitesini ve böylece aterosklerotik plak oluşumunu azalttıkları bildirilmiştir.³⁴

Son yıllarda özellikle makrofajlar tarafından gerçekleştirilen MMP sentezine PGE2'ye bağlı bir yolağın aracılık ettiği ve buna siklooksijenaz (COX) ve PGE sentaz (PGES) enzimlerinin katıldığı bildirilmiştir. Bu enzimlerin izoformlarından olan COX-2 ve mPGES enzimleri inflamatuvar hastalıklarda çeşitli uyarılara yanıt olarak indüklenirler. Son çalışmalarda bu enzimlerin ekspresyonlarındaki artışın aterosklerotik plaklardaki makrofajlarda artan aktif MMP düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle spesifik COX-2 inhibisyonunun MMP ekspresyonunu inhibe edebileceği ileri sürülmektedir. Ateroskleroz ve kanser gibi MMP aktivitesinin arttığı patolojik durumlarda, endotelin (ET) reseptör antagonistlerinin ET ile uyarılan MMP ekspresyon ve etkinliğini de baskıladıkları gösterilmiştir.³⁴

Ateroskleroz ve Ateroskleroz Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü

Ateroskleroz; Lezyon Oluşum Basamakları

Ateroskleroz hem süregen, hem akut belirtiler göstermektedir. Arterleri 20 ve 30'uncu yaşlarda etkilemeye başlayan aterosklerozun kuluçka dönemi bir çok hastalıktan daha uzundur. Ancak tipik ateroskleroz belirtileri birkaç on yıl sonra ortaya çıkmaktadır. Bu sinsi seyrine ve uzun süre klinik aktivite göstermemiş

olmasına rağmen miyokard enfarktüsü, kararsız anjina veya inme tipik olarak aniden ortaya çıkmaktadır. Aterojenik bir beslenmeye başlama ile özellikle kolesterol, doymuş yağ, küçük yoğunluklu lipoprotein parçacıkları intima içinde birikmektedir. İntimada lipoprotein parçacıklarının proteoglikana bağlanması bu parçacıkları yakalayıp tutarak kalış sürelerinin uzamasına neden olurlar. İşaretlenmiş lipoprotein parçacıklarının ayrıntılı kinetik çalışmaları, uzamış kalış süresi tavşanlarda erken lezyon oluşum odaklarını belirlemektedir. Proteoglikana bağlanmış lipoprotein parçacıklarının, oksidatif ve kimyasal etkilere eğilimi artar böylece ateroskleroza zemin hazırlanmış olur.³⁵

Aterosklerotik Lezyon Oluşum Basamakları

Lökositlerin Bir Araya Toplanması

Lezyonun oluşum sürecinin erken evresinde aterogenezin aşamaları lökositlerin toplanması ve birikimidir. Normal endotel hücresi genellikle lökositler de adezyona direnç gösterir. İltihaplı dokularda bile lökositlerin bir araya toplanması arterlerde değil aksine postkapiller venüller içinde gerçekleşmektedir. Ancak hiperkolesterolemi başladıktan hemen sonra lökositler endotele yapışır. Lökositler intimaya girmek için endotel hücre bileşkeleri arasında diapedes oluşur. Monosite ilaveten T lenfositler ise erken dönemde insan ve hayvan aterosklerotik lezyonlarında birikme eğilimi göstermektedir.³⁵

Hücre İçi Lipit Birikimi ; Köpük Hücre Oluşumu

Daha önce arter intimasında toplanan monositler burada lipidi alıp lipit yüklü köpük hücrelerine dönüşebilmektedir. Bu hücrelerin çoğu LDL'ye ilişkin klasik hücre yüzeyi reseptörünü eksprese edebilmektedir. Ancak bu reseptör köpük hücre oluşumunu düzenlememektedir. LDL reseptörü esasen kolesterolle düzenlendiğinden köpük hücre oluşumuna aracılık etmektedir. Makrofaj intima içine yerleşir yerleşmez köpük hücreleri haline dönüşür. Sıklıkla çoğalırlar. Aterom gelişmesinde lipitle şişmiş makrofajlar önemli yer tutmaktadırlar.³⁵

Başlatıcı olay LDL Modifikasyonu

Aterosklerotik lezyonlar geniş arterlerin endoteli altında yağlı çizgilenme ile başlar. Son on yılda temel ve klinik kanıtlar aterogenez sürecinde inflamasyonun önemli olduğunu göstermektedir. Bu sürecin erken döneminde arter duvarında biriken makrofaj köpük hücreleri aşırı miktarda lipidin depolayıcısı olarak işlev görürler. Aterosklerotik lezyonda bu hücreler; sitokinler, kemokinler, çeşitli eikozanoitler, trombosit aktive edici faktör gibi proinflamatuvar araçların ana kaynağını oluşturmaktadır. Bu inflamatuvar araçlar, plak içinde inflamasyonu uyarmakta böylece lezyonların ilerlemesine katkıda bulunmaktadır.³⁵

Lipit Dışı Kardiyovasküler Risk faktörleri

Hipertansiyon: Hipertansiyon, sistolik kan basıncının 140 mmHg veya üzerinde olması diyastolik kan basıncının 90 mmHg veya üzerinde olması olarak tanımlanır. Miyokard infarktüsünün, serebrovasküler olayların, sistolik ve diastolik kalp yetmezliğinin, periferik damar hastalığının gelişimine katkıda bulunur.³⁶

Diabetes mellitus (DM): Tip 1 diabetes mellitus ve tip 2 diabetes mellitus koroner arter hastalığının (KAH) güçlü ve bağımsız belirleyicileridir. DM tiplerinden herhangi birine sahip olan hastalarda erken ölümlerin en önemli nedeni olan KAH, diabetiklerde tüm ölümlerin ve hastaneye yatışların %80'inden sorumludur.³⁶

Şişmanlık : Şişmanlık KAH'ın önde gelen nedenlerindedir ve tüm nedenlere bağlı mortaliteyi ve kardiyovasküler mortaliteyi artırabilen çeşitli kardiyovasküler risk faktörleriyle (kolesterol, hipertansiyon ve glukoz intoleransı) ilişkilidir.

Tütün: Sigara kullanımı tüm dünyada önlenemez en önemli ölüm nedeni ve KAH'ın, serebrovasküler olayın önde gelen risk faktörüdür. Pasif içiciliğin KAH riskini artırdığı gösterilmiştir.³⁶

Sedanter yaşam biçimi: Sedanter yaşam biçimi artmış KAH riski ile ilişkilidir. Sedanter kişiler aktif kişilerle karşılaştırıldığında iki kat daha fazla KAH'dan ölüm riskine sahiptirler.³⁶

Yeni risk faktörleri: Tarama çalışmaları sonucuna göre hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı, aile öyküsü diyabetin risk faktörleri olarak kullanıldığında gelecekteki kardiyovasküler olayların ancak yarısından daha azının öngörülebildiği bilinmektedir. Az sayıda geleneksel risk faktörü bulunan birçok hastada önceden belirti bulunmaksızın yaşamı tehdit eden akut koroner sendromlar görülebilmektedir. KAH riskini hızlandıran bir çok potansiyel risk faktörü tanımlanmıştır. Bunlar arasında C-reaktif protein, lipoprotein-a, homosistein, fibrinojen ve miyeloperoksidaz (MPO) ve bazı aday genlerde mutasyon ve tek nükleotid polimorfizmleri yer almaktadır.^{36 '37}

Ateroskleroz Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü

Makrofajlardan salıverilen TNF- α ve IL-1, trombositlerden salıverilen PDGF, fibroblastlar ve endotel hücrelerinden salıverilen bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler, insanlarda vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, makrofajlar, lenfositler gibi farklı hücre tipleri değişen oranlarda olmak üzere MMP sentezini uyarırlar. Çeşitli deneysel ateroskleroz modellerinde oluşan aterosklerotik lezyonlarda ve aortik okluzif hastalığı ya da aortik anevrizması olan hastalardan alınan aterosklerotik arter örneklerinde özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'ün ekspresyon ve aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir⁶. Aktive olan MMP'ler kollajen, jelatin, elastin, laminin, proteoglikan gibi ESM proteinlerini yıkıma uğratırlar ve böylece düz kas hücre migrasyonunu kolaylaştırır, proliferasyonunu hızlandırır. Süregelen düz kas hücre proliferasyonu, migrasyonu ve sonrasında ESM birikimi aracılığıyla damar duvar matriksi modifiye edilir ve sonuçta erken dönemde intimal kalınlaşma ileri evrede de aterosklerotik plak oluşumu gerçekleşir. İntimal kalınlaşmanın önce yağ izlerine daha sonra da fibröz aterosklerotik plağa dönüşmesinde ESM döngüsü (yapım ve yıkımı) önemlidir.³³

Matriks metalloproteinazların da ESM döngüsünde temel rol oynadıkları kabul edilmektedir. İntimal kalınlaşma ve aterosklerozun erken dönem olayları genellikle jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) ile ilişkilendirilmiş ve neointima geliştirilen çeşitli deneysel hayvan modellerinde çoğunlukla jelatinazların ekspresyon ve etkinlikleri incelenmiştir. Bununla birlikte daha az da olsa diğer MMP'lerin de intimal kalınlaşma sürecine olan katkıları farklı çalışmalarda araştırılmıştır. Bu çalışmalar intimal kalınlaşma için MMP aktivitesinin temel olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca MMP'lerin fibröz doku matriksinin aşırı yıkımına bağlı aterosklerotik plağın zayıflayıp yırtılmasında da rol oynadığı bildirilmiştir.²⁷

Matriks metalloproteinazların eksternal elastik laminanın parçalanmasına yol açarak arteriyel duvarın dışa doğru (pozitif) yeniden modellenmesini kolaylaştırırlar. Bu durum başlangıçta lümen genişliğini koruduğu için yararlı olmasına rağmen sonuçta arteriyel duvarın mekanik direncini azaltarak plağın yırtılma eğilimini arttırmaktadır. Aterosklerotik plağın yırtılmaya eğilimli bölgelerinde makrofaj kökenli köpük hücrelerinin biriktiğinin gösterilmesi, makrofaj kaynaklı MMP'lerin plak kırılabilirliği ve yırtılmasında önemli rolleri olduğunu desteklemektedir.²⁷

Aterosklerotik plak dokusunda çeşitli MMP türlerinin (MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9) ekspresyon ve etkinliklerinin arttığının gösterilmesi plak destabilizasyonunda MMP'lerin önemli role sahip olduğu görüşünü desteklemektedir. Benzer şekilde aortik anevrizmal lezyonlarda da MMP-3 ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. Özellikle MMP-3'ün plak stabilitesinde ve koroner yeniden yapılandırmada geniş substrat özgüllüğüne sahip olması ve diğer MMP'leri uyarma yeteneğinin olmasından dolayı büyük önemi vardır³⁸. Ayrıca MMP-1 ve MMP-13'ün ateromatöz plaklarda fibröz lezyonlara kıyasla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Endarterektomi doku kültüründe MMP-7 ve MMP-12'nin fibröz plak içindeki lipid yüklü makrofajlarda arttığının gösterilmesi de plak yırtılmasında MMP'lerin önemli rolünü açıklamaktadır. Yakın zamanlarda ise MMP-8'in aterosklerotik plaklarda etkinliğinin arttığı ve kollajeni parçalayarak plak destabilizasyonuna katkı sağladığı gösterilmiştir³³. MMP-10'un aterosklerotik plak makrofajlarında artan ekspresyonunun plak stabilitesini azaltarak yırtılmaları kolaylaştırdığı ve yine insan

aterosklerotik lezyonlarında MMP-11 etkinliğinin arttığı ve komplikasyonlara yol açtığı bildirilmiştir. Son olarak MMP-14'ün insan aterosklerotik plaklarında damarın media tabakasında MMP-2 ile birlikte bulunduğu ve MMP-2'yi uyararak aterosklerotik plakların yüzeysel erozyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Kısaca MMP-2 aterosklerozun akut komplikasyonlarının gelişiminden sorumlu tutulmaktadır⁵.

Akut Miyokard İnfarktüsü ve Akut Miyokard İnfarktüsü Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü

Akut Miyokard İnfarktüsü ; Tanım, Ayırıcı Tanı ve Laboratuvar Belirteçleri

Akut miyokard infarktüsü (AMI) tüm dünya genelinde en önemli sağlık sorunu olup birçok yaş gurubunda görülebilmekle birlikte çoğunluğu yaşlılarda görülmektedir³⁹. AMI'nün görülme sıklığı, yaşam ve beslenme biçiminin değişmesiyle birlikte artmaktadır. AMI, infarkt alanının boyutuna bağlı olarak erken dönemde kalp dokusunun yırtılması ile ölümcül sonuçlanacağı gibi geç dönemde süregen kalp yetmezliği ile de sonuçlanabilmektedir⁴⁰. AMI, birincil bir olay olmayıp, her zaman iskemi sonrasında gelişen, miyokardın oksijen gereksiniminin artması ya da oksijen sunumunun azalması ile ortaya çıkan geri dönüşümsüz miyokard hücre hasarı ve ölümü şeklinde tanımlanır.⁴¹ Miyokard infarktüsünün en sık nedeni, kararsız ya da yırtık oluşmuş bir aterosklerotik plak ve bunun sonucunda koroner içinde plak üstüne oturmuş bir trombüstür.³⁷

Koroner arterler içindeki düzenleyici mekanizmalar, aterosklerotik plaklar bulunsa bile miyokardda yeterli oksijen sunumunu genellikle devam ettirirler. Ancak bu koruyucu mekanizmalar bozulduğunda uzamış iskemi veya miyokard infarktüsü gelişebilir⁴². Geniş infarkt alanları, infarkt olan ve olmayan bölgelerde çok büyük yapısal, histolojik ve moleküler değişikliklere neden olur. Bu değişikliklere kardiak remodelling (yeniden yapılanma) denir. Yeniden yapılanmanın derecesi; aritmi, kalp yetmezliği ve mortalite görülme sıklığı ile yakından ilişkilidir.⁴³

Kardiak yeniden yapılanma, kardiak miyositlerde ve ESM'de değişikliklere neden olur. ESM, biyolojik olarak aktif moleküller için depo görevi görmekle birlikte

fibriler kollajen, proteolikanlar ve gilozaminoglikanlar gibi yapısal proteinleri de içermektedir. Kalp kası kollajenleri, yan yana bulunan kas hücrelerinin yapısal devamlılığını sağladığı için ESM'de olan değişiklikler kalp kasının işlev ve yapısının kaybolmasına neden olmaktadır. ¹⁰

Koroner ateromun fibröz kapsülündeki yırtılma altta yatan subendotelyal matriksin dolaşan kan elemanları ile etkileşmesini sağlar ve böylece trombosit etkinleşmesi, trombin oluşumu ve trombüs gelişimine yol açar. Sonuç olarak, tam damar tıkanması, kısmi damar tıkanması ve reperfüzyon arasındaki döngüsel geçişi içeren dinamik bir süreçtir. Belirgin kollateral damarların yokluğunda tıkaçıcı trombüs sıklıkla ST-segment yükseltili MI (STEMİ) ile sonuçlanır. STEMİ ve ST –segment yükseltisiz MI (NSTEMI) patofizyolojisi benzerdir, bu benzerlik akut koroner sendromların sonuçları, nekroz yaygınlığı ve mortalite hızlarına ait örtüşmeyi açıklar. Ancak, ST segment yüksekliğinin fark edilmesi acil reperfüzyon tedavisi gereğini ortaya koyması açısından önemlidir. ⁴⁴

Tanımlama

İskemi, iskemik belirtiler, elektrokardiogramda (EKG) patolojik Q dalgalarının gelişmesi veya görüntüleme yöntemleri ile infarktın kanıtlanması olarak tanımlanır. Yerleşmiş Mİ ise; dizi EKG'lerde yeni patolojik Q dalgasının gelişmesi, görüntüleme yöntemleriyle Mİ'nün kanıtlanması, iyileşmiş veya iyileşmekte olan Mİ'nün patolojik bulgularının bulunması gibi ölçütlerden herhangi birinin olması olarak tanımlanmıştır.

⁴⁴

Klinik Tanı

Kalp kökenli olduğundan kuşku edilen göğüs ağrısı öyküsü olan her hastaya görüldüğü ilk 5 dakika içinde bir EKG çekilir ve reperfüzyon tedavisine uygunluk açısından hızlıca değerlendirilir. Eğer EKG'de akut ST segment yükselmesi veya yeni gelişen sol dal bloğu varsa, fibrinoliz veya doğrudan perkutan koroner girişim (PKG) acil reperfüzyon tedavisi uygulanır. ⁴⁴

Belirti ve Bulgular

1. Klasik belirtiler ciddi, ezici, hasta tarafından sıkıştırıcı veya baskı hissi biçiminde tanımlanan ve sıklıkla sol kola yansıyan ve kötü sonun yaklaştığı hissi ile birlikte olan sternum altında yerleşik bir göğüs ağrısıdır. Bu rahatsızlık hissi anjina pektoris benzerdir ancak tipik olarak çok daha ciddidir, daha uzun sürelidir (sıklıkla 20 dakikadan daha uzun), nitrogliserin veya dinlenme ile geçmez.

a. Göğüsteki ağrı hissi boyun, çene, sırt, omuz, sağ kol ve epigastrik bölgeye yansiyabilir. Göğüs ağrısı olmaksızın bu bölgelerden herhangi birinde ağrı olması olasıdır. Epigastriyuma yerleşmiş bir göğüs ağrısı genelde hazımsızlık ile karıştırılır. Akut MI, özellikle postoperatif dönemdeki hastalarda, yaşlılarda ve Diabetes mellitus hastalarında göğüs ağrısı olmadan da görülebilir.

b. Eğer göğüs ağrısı sırta yayılıyor ve yırtılma veya bıçak saplanır tarzda tanımlanıyorsa aort diseksiyonundan kuşulanılır.

2. İlişkili belirtiler, terleme, nefes darlığı, yorgunluk, baş dönmesi, çarpıntı, bilinç bulanıklığı, hazımsızlık, bulantı ve kusma olabilir. Gastrointestinal belirtiler özellikle inferior infarktüste sıktır.⁴⁴

Fizik Muayene

Genelde fizik muayene AMİ tanısına ek katkı sağlamaz. Ancak akut miyokard infaktüsünü taklit edebilecek diğer tanıları dışlamak, risk sınıflaması yapmak, gelişen kalp yetmezliğinin tanısını koymak ve AMİ sonucu gelişebilecek mekanik komplikasyonları takip amacıyla fizik muayene yapılması önemlidir.⁴⁴

Ayırıcı tanı

Perikardit: Hastanın göğüs ağrısının sırt üstü yatarken artması ve otururken veya öne doğru eğilince azalması perikarditin tipik bulgusudur. Akut miyokard infaktüsünü dışlamak için dikkatli olunmalıdır. Çünkü perikardit akut miyokard infaktüsünü komplike edebilir. Akut perikarditin elektrokardiografik anormallikleri de AMİ ile karışabilir. Yaygın ST segment yükselmesi akut perikardit için tanısaldır ancak bu bulgu AMİ'de de görülebilir. PR çökmesi, sivri T dalgası ve klinik tabloyla uyumlu olmayan elektrokardiografik anormallik perikardit tanısını destekler.⁴⁴

Miyokardit: Perikarditte olduğu gibi miyokarditin belirti ve bulguları akut miyokard infarktüsündekilere benzer. EKG, AMİ ile miyokardit ayırımında yararlı değildir. Ayrıntılı bir öykü miyokarditte daha sinsî bir başlangıç ve eşlik eden viral sendromu ortaya koyar.⁴⁴

Aort diseksiyonu: Keskin, yırtılma tarzında göğüsten sırtta doğru yayılan göğüs ağrısı aort diseksiyonu için tipiktir.

Pulmoner emboli: Pulmoner ödem bulguları olmaksızın plöretik göğüs ağrısı ile beraber olan nefes darlığı pulmoner emboliyi destekler. Ekokardiografi duvar hareket bozukluğunun olmadığını göstermek açısından yararlıdır ve sağ ventrikül yüklenmesini gösterebilir.⁴⁴

Özefagus hastalıkları: Gastroözefajiyal reflü hastalığı, özefagus hareket bozuklukları ve özefajiyal hiperaljezi, kardiyak iskemik ağrıya çok benzeyen tipte göğüs ağrısına neden olur. Koroner hastalıklar açısından inceleme, özefagus hastalıklarının değerlendirilmesinden önce yapılmalıdır. Özefagus kökenli göğüs ağrısı olduğunu destekleyen ancak tanısal olmayan belirtiler arasında yemek sonrası belirtilerin olması, yakınmaların antiasitlerle geçmesi ve yansıyan ağrının olmaması sayılabilir.⁴⁴

Akut kolesistit: Inferior Mİ benzeri belirtiler ve EKG bulgularına yol açabilir. Sağ üst kadranda duyarlılık, ateş ve artmış lökosit sayısı kolesistit tanısını destekler.⁴⁴

Laboratuvar incelemesi

Kreatin kinaz: ST segment yüksekliği olan bir hastada akut Mİ tanısı için yükselmiş kreatin kinaz (CK) düzeyi nadiren yararlıdır. Çünkü genelde tespit edilebilir CK yüksekliklerine 4-6 saat içinde ulaşılmaktadır, bu nedenle normal düzeyler yeni gelişmiş tam bir tıkanıklık anlamına gelebilir. CK ve CK-MB düzeyleri yaygın ST yüksekliğine yol açan perikardit ve miyokardit varlığında da yükselebilir. CK düzeyleri tanıdan çok akut miyokard enfarktüsünün boyutunu ve zamanını belirlemede yararlıdır. CK düzeyleri 24 saat içinde tepe yapar ama bu tepe CK düzeylerinin başarılı reperfüzyon yapılan hastalarda daha erken olduğu

düşünülmektedir. CK yüksekliğinin yanlış pozitif sonuçları iskelet kası hastalıkları veya travma benzeri birçok durumda görülebilir.⁴⁴

Troponinler: Troponin T ve troponin I, yüksek duyarlılıkları, yatak başı hızlı uygulanabilme ve yorumlanabilme özellikleri ve neredeyse tüm dünyada yaygın kullanımı olması nedeniyle kararsız anjina ve NSTEMİ tanı ve tedavi yönteminde oldukça yararlıdır. Ancak tıkanma ve tespit edilebilir serum düzeylerinin gelişmesi arasında geçen zaman (3-6 saat) akut STEMİ tanısındaki yararlılığını kısıtlamaktadır. Veriler, AMİ'den 72 saat sonra ölçülen tek bir troponin T derişiminin reperfüzyondan bağımsız olarak Mİ genişliğini tahmin edeceğini göstermiştir. İskemik kalp hastalığı olmadan, konjestif kalp yetmezliği, aort diseksiyonu, hipertrofik kardiyomiyopati, pulmoner emboli, akut nörolojik hastalık, kardiyak kontüzyon veya ilaç toksisitesi ile de troponin yükselmesi gözlenebilir.⁴⁴

Miyogloblin: Hasar görmüş miyositler hızla bu proteini dolaşıma salar. Tepe düzeyine 1-4 saatte ulaşarak AMİ erken tanısına olanak sağlar. Ancak miyogloblinin kardiyak özgüllüğü yoktur bu da klinik kullanımını kısıtlar.⁴⁴

Laktat Dehidrojenaz Laktat dehidrojenaz (LDH), kalp dışında böbrekler, eritrositler, beyin, mide ve iskelet kasında yaygındır. 10-12 saat içinde artmaya başlayan serum total LDH düzeyi, 48-72 saatte en yüksek düzeyine ulaşır. Bu artış 5-10 gün içinde normale dönmektedir. Dokuya özgü LDH izoenzimleri, toplam LDH özgüllüğünü artırmaktadır. LDH-1 miyokarda özgü olan LDH izoenzimidir¹⁹. LDH-1 enzimi miyokard infarktüsünde ve lösemi gibi durumlarda yükselir. Düzeyindeki artış genellikle referans değerinin üst sınırının 3-4 katı kadar ve bazı koşullarda 10 kata kadar olabilir.

Normalde LDH2 izoenziminin etkinliği LDH1'den daha yüksektir ancak infarktüs sonrası LDH1 etkinliği LDH2'den daha yüksektir. LDH-1 / LDH-2 oranı ilk 24 saatte 1'den büyükse miyokard nekrozunu gösterir⁴⁵. LDH-1 yüksek özgüllüğe sahip olmasına rağmen kalp dışı nedenlerden dolayı da artabildiğinden yaygın kullanım alanı bulamamıştır.⁴⁶

Aspartat Transaminaz: Yaygın doku dağılımı nedeniyle Aspartat Amino Transferaz (AST) klinik tanıda yararlı bir enzimdir. Miyokardın yanı sıra iskelet

kası ve karaciğer gibi dokularda yüksek derişimlerde bulunabilen bu enzim, AMİ' de LDH ve CK kadar tanısal yarar taşımamaktadır¹⁹.

Aday Kardiyak belirteçler

Aday kardiyak belirteçler arasında³⁷ ;

1. Kalp tipi yağ asit bağlayıcı protein (H-FABP)
2. İskemi modifiye albümin (IMA)
3. B Natriüretik peptidler (BNP)
4. Glikojen fosforilaz izoenzim BB (GPBB)
5. C reaktif protein (CRP)
6. CD 40 Ligand
7. Miyeloperoksidaz (MPO)
8. Gebelik ile ilişkili plazma protein A (PAPP-A)
9. Fosfolipaz A2 yer almaktadır.

Tanısal testler

Elektrokardiyografi: Akut miyokard infarktüsü (AMİ) kesin elektrokardiyografik tanısı için, iki veya daha fazla komşu derivasyonlarda 1 mm veya daha fazla ST yükselmesi ve karşı derivasyonlarda resiprokal ST çökmesi gerekir. V2 ve V3 derivasyonlarında erkekte 2 mm, kadında 1,5 mm ST yükselmesi kesin tanı için gereklidir. AMİ belirtilerinin başlaması ile birlikte yeni gelişmiş sol dal bloğu, proksimal sol ön inen koroner arteri içeren geniş, ön duvar AMİ'ini gösterir ve akut STEMİ gibi yönetilmelidir. Sağ dal bloğu, V1 ile V3 derivasyonlarındaki ST yükselmesinin yorumlanmasını güçleştirir. V1 ile V3 veya V4'de sağ dal bloğu olan hastada normal ikincil T dalgası değişiklikleri QRS ile aynı polariteye sahip T dalgalarıyla yer değiştirdiyse anterior AMİ tanısı koymak olasıdır.⁴⁴

Ekokardiyografi: Ne kadar süredir olduğu bilinmeyen sol dal bloğu değerlendirmesinde duvar hareket bozukluğu olmaması durumunda devam eden belirtilerin AMİ'ye bağlı olmadığını göstermek açısından yararlıdır.⁴⁴

Akut Miyokard İnfarktüsü Patogenezinde Matriks Metalloproteinazların Rolü

Kalp kasının yapısal bütünlüğünün sağlanmasında ekstraselüler matriks (ESM) önemli görev alır. Yapısal mühendislik yaklaşımı ile miyositlerin uzamsal yerleşimi ve miyokardial liflerin açılanması iyi anlaşılmıştır. Miyositler ve miyokardial lifler endokardiyumdan epikardiyuma kadar kesintisiz bir biçimde yerleşirler. Tip 1 ve Tip 3 kollajen gibi matriks proteinleri, bitişik miyositlerin bütünlüğünü sağlayarak ventriküllerin pompa işlevlerine katkıda bulunurlar. Kalp dokusu ESM'si biyoaktif molekülleri depo işlevi içinde barındırdığı gibi mekanik uyarıların da kalp kası hücrelerine iletilmesini sağlar. Böylece kalp kası hücrelerinin büyümesini etkilerler. Bu yüzden ESM'deki yapısal değişiklikler kalp kası hücresinin ve bütün olarak miyokardın işlevini ve yapısını etkiler.¹⁴

Birçok hücre ve hücre dışı etmenler MI sonrası kalp kası yeniden yapılandırılmasına katılır. Özellikle miyosit kaybı, kalan miyositlerin hipertrofisi, boyutu ve sayısı artmış olan miyosit dışı hücrelerin varlığı ventrikül duvarının değişmesine neden olur. MI sonrası kardiyak yara iyileşmesi, inflamatuvar evre ve doku yeniden yapılandırılması evrelerine ayrılır. İlk evre koroner damar tıkanıklığı sonrasında başlar, normal ESM parçalanması, inflamatuvar hücrelerin hasarlı alana sızması, biyoaktif peptidlerin ve sitokinlerin uyarılması gerçekleşir. Ancak bu ESM'nin parçalanmasını belirgin miktarda matriks depolanması izler. MI'dan sonraki 3 saatte kollajen bütünlüğü proteinaz etkinliğinin artmasıyla birlikte zayıflar. Bu erken evrede miyokardiyal ESM parçalanması ve yeniden yapılandırılması yırtılma olasılığını artırmaktadır. MI'den sonraki birkaç gün, ESM'nin daha da sindirilmesi ile sonuçlanan hasarlı alana inflamatuvar hücrelerin akımı sürmektedir.¹⁴

Birçok MMP gen polimorfizmi ile koroner arter hastalığı, darlık, kalp krizi, koroner anevrizma, inme ve büyük damar sertliği gibi kalp damar hastalıkları birlikte bulunmaktadır.¹⁴ Matriks metaoproteinazlar çoğunlukla latent formda bulunur ve kalpte birçok patolojik durumda etkinlikleri ve ekspresyonları artar. İnfarktüs sonrası MMP etkinliğinin durumu ile ilgili sonuçlar çeşitlidir. MMP etkinliğindeki artış MI'dan sonra bir gün içinde ortaya çıkmaktadır.¹¹

Aterosklerotik plağın gelişimi, hasta arterin intimal tabakasında lipitlerin ve ESM'de hücrelerin birikimine yol açan yapısal değişikliklerle ortaya çıkar. Vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) proliferasyonu ve erken göçü aterosklerotik lezyona neden olur. MMP etkinliği ve ekspresyonunun artışı deneysel araştırmalarda arteriyel balonlaşma yaralanmasından sonra VSMC göçü ve neointimal arteriyel lezyonun gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Balonlaşma yaralanmalarından sonra karotid arterlerde MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri artmaktadır. Üstelik in vitro ve in situ çalışmalarda; MMP inhibisyonunun VSMC göçünü azalttığı gösterilmiştir.⁴⁷

Aterosklerotik lezyonların gelişimine katkıda bulunan diğer etkenler, endotelyuma adhezyon moleküllerinin ekspresyonu ile dolaşımdaki inflamatuvar hücrelerin toplanmasıdır. Adhezyon molekülleri endoteliyal tabakaya lökosit göçünü hızlandırır. MMP etkisinin deneysel olarak bu aşamayı kolaylaştırdığı gösterilmiştir.⁴⁷

Matriks metalloproteinaz etkinliği, bir yandan intimal bölgede internal elastik laminaya doğru damar düz kas hücrelerinin göçünü kolaylaştırarak plak oluşumuna ve proliferasyonuna yol açar. Bu da aterosklerozun patogeneze katkıda bulunmaktadır. Diğer yandan MMP etkinliği intimada ekstrasellüler matriks yıkımıyla plak hacmini azaltabilir. MMP'ler fibröz kapsülü parçalayarak aterosklerotik lezyonda etkili olurlar. Fibröz kapsülün yarılmasına engel olan yapılar tip I ve tip II kollajendir. Bununla beraber elastin ve proteoglikanlar da fibröz kapsülde bulunur. Aterosklerotik lezyonda makrofaj kaynaklı köpük hücreleri MMP'lerin bölgesel salınımını artırır ve fibröz kapsülün incelmeye neden olurlar.⁶

İnflamatuvar hücrelerin diapedezi sırasında endoteliyal hücre bazal membranı MMP'lerce yıkılır, bu da lipoprotein içeren plazma proteinlerinin içeriye doğru girişini artırır ve endoteliyal bariyer işlevinin azalmasına katkıda bulunur. Bir defa damar duvarının içine infiltre olan hücreler, okside lipitler ve ESM ile etkileşime girerler. Bu etkileşimlerin sonucu makrofajlardan MMP üretimi artar. Makrofajlar, salınan MMP zimojenlerinin uyarılma mekanizmalarını harekete geçirir ve çevre hücrelerin MMP üretimi için uyarılmasını sağlar. MMP etkinliğindeki bu artış, aterosklerotik lezyon gelişiminde ileri yapısal değişiklikleri kolaylaştırabilir.⁴⁷

İnflamatuvar hücreler, damar matriksini yıkan MMP'ler ve katepsin gibi diğer proteazların önemli kaynağıdır. Aktive makrofajlar sitokinleri salarak damar hücrelerinden MMP gen ekspresyonunun ayarlanmasını düzenlerler. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artışı ile oluşan oksidatif stres, aterosklerotik plakta makrofaj köpük hücrelerini ortaya çıkarır ve bu durum damar duvarında depolanan latent MMP zimojenlerinin uyarılmasını sağlar. Tüm bu etkiler matriksin proteolitik yıkımını kolaylaştırır. Makrofaj köpük hücrelerinde üretilen MMP'ler ile fibröz kapsül kollajeninin bölgesel yıkımı, tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan aterosklerotik lezyon modelinde in vivo yırtık ile ilişkili bulunmuştur.⁴⁷

Elde edilen bulgular, MMP sunumunu ve etkinliğini düzenleyen olayların; oksidatif stres, inflamasyon, yaralanma, hemodinamik ve vasküler yeniden yapılanma mekanizmalarına katıldığını göstermektedir. Örneğin nitrik oksit (NO) ve süperoksitten doğal olarak oluşan peroksinitritin latent MMP'leri uyardığı ve TIMP-1'in yıkımına neden olduğu bildirilmiştir.⁴⁷

İnsanlarda damar endoteli, düz kas hücreleri ve makrofajlar tarafından eksprese edilen MMP-8'in etkinliğinin ateromatöz plağın omuz bölgesinde artması bu bölgeyi yırtılmaya duyarlı hale getirmektedir. MMP-3 ateromatöz plaklarda eksprese edilirken normal arterlerde eksprese edilmemektedir.⁶

Plak yırtılmasında MMP üretimi prostoglandin E2 (PGE2) sentaz ve siklooksijenaz ile ilişkilidir. Makrofaj tarafından MMP'lerin üretimi PGE2/cAMP-bağımlı yol aracılığı ile meydana gelir⁶. MMP geni yok edilmiş sıçanlarla yapılan çalışmalarda, MMP-2 ve MMP-9'un MI sonrası kardiyak yırtılmalarda önemli olduğu belirtilmiştir.¹² Ayrıca son çalışmalarda MMP-14 düzeyinin iskemi-reperfüzyon sonrası arttığı bulunmuştur. MMP-3 ve MMP-9'un ise aterosklerotik plak üzerinde, plak büyümesini sınırlayarak ve plak kararlılığını artırarak koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Fakat MMP-12 aterosklerotik lezyonun genişlemesini sağlayıp ve plak kararlılığını azalttığı ortaya konulmuştur.¹²

İnsan monosit ve makrofajlarından bol miktarda MMP-9 salınır. Makrofajların, kollajen, fibronektin ve tenaskin-C gibi matris içeriklerine yapışması, MMP-9 salınımını uyarır. Makrofajlardan MMP-9 sunumu, IL-1 α ve TNF- α gibi soluble mediatörler veya okside LDL-kolesterol ile uyarılır. ROS veya redoks duyarlı transkripsiyon faktör NF- κ B'nin etkinleşmesi ile oluşan köpük hücrelerden MMP-9 salınma artışının, N-asetil-L-sistein ile azaldığı bildirilmiştir.⁴⁸

MMP-2'nin uyarılması başta MMP-9 olmak üzere birçok MMP'nin düzeylerini belirgin olarak artırır. IL-1, IL-4 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinler VSMC'den düzenli bir şekilde başta MMP-1, 3 ve 9 olmak üzere MMP'lerin bir çoğunun üretimini uyarırlar. Sitokinler bu etkilerinde PDGF ve FGF-2 gibi büyüme faktörleri ile sinerjik etkilidir. VSMC'nin üzerine MMP'lerin etkisi, temel membranın migrasyonuna ve proliferasyonuna neden olur.⁴⁸

Endotelial hücrelerde de esas olarak MMP-2 eksprese edilir ve ROS tarafından uyarılması artırılır. VSMC'ye benzer olarak endotelial hücrelerde TNF- α ve IL-1 α 'ya yanıt olarak MMP-1,-3,-8 ve -9 etkinleşmesi görülür. Dikkat çekici biçimde aterosklerotik plak bölgelerinde ve endotelial hücrelerin hattında MMP-9 transkripsiyonu ve etkinliğinde artış saptanmıştır. Karotid endarterektomi örneklerinde, çoğu semptomatik plakta MMP-9'da 2 kat artış bulunmuştur.⁴⁸

Kai ve ark. yaptıkları çalışmada; kararsız anjina ve miyokard infarktüsü ile başvuran hastalarda dolaşan MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin artmış olduğunu bulmuşlardır⁴⁹. Hojo Y ve ark. da MI hastalarında MMP-1 ve MMP-2 düzeylerinin arttığını göstermişlerdir.⁵⁰

Aterosklerotik plağın hasarlı omuz bölgesinde endotelial hücreler, T-lenfositler, VSMC ve makrofajlarda MMP-1,-3 ve -9 proteinlerinin arttığı gösterilmiştir. Üstelik aterosklerotik plakta normal dokuda saptanmayan bölgesel MMP etkinliği gösterilmiştir.⁴⁸

Kalp dokusunda MMP-9, kardiyak hasardan sonra çevre dokuların yıkımından sorumludur. Ventriküler yırtılmaya duyarlı transgenik hayvanların, MMP-9'un gen delesyonu ile korunduğu gösterilmiştir.⁵¹

Galis ve ark. karotid arter modelinde MMP eksikliği olan MMP-9 geni nakavt edilmiş farelerde bir yandan intimal hiperplazi ve lümen kaybında azalma saptarken diğer yandan da kollajen birikimine yol açtığını ortaya çıkarmışlardır. Araştırmacılar MMP-9 inhibisyonu ile kollajen içeriğinin artması ve lümen kaybının azalması sonucu arterin mekanik stabilitesinin arttığını ileri sürmüşlerdir. ⁴⁷

Sonuç olarak geleneksel risk faktörleri AMİ olgularının yalnızca bir bölümünü açıklayabilmektedir. Ancak son zamanlarda, belirlenmiş geleneksel olmayan risk etkenlerinin de geleneksel risk etkenleri kadar önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Geleneksel olmayan bu risk etkenleri arasında MMP'lerden bazıları yer almaya başlamıştır. Bugün dikkatler daha çok miyokard infarktüsünde genetik duyarlılık ve bazı genetik belirteçlerin tanımlanması üzerinedir ve bulunan bulguların miyokard infarktüsünün erken tanısına yardımcı olacağı belirtilmektedir. Hem ateroskleroz gelişim sürecinde hem de plak yırtılmasında rolü olduğu düşünülen MMP'ler arasında özellikle MMP-3 ve MMP-9'un normal arterlerde bulunmayıp aterosklerotik plaklarda bulunması nedeni ile bu çalışmada MMP-3 ve MMP-9 genlerine ait polimorfizmlerin Akut Myokard İnfarktüsünün erken tanısında belirteç olabilir mi sorusuna ışık tutmayı amaçladık.

Yaptığımız literatür taramasında Türk toplumunda MMP gen polimorfizmi ile AMİ arasındaki ilişkiyi ortaya koyan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle ayrıca bu çalışmada, Türkiyede yapılan ilk çalışma olması nedeni ile, toplumumuzda MMP-3 ve MMP-9 gen polimorfizmlerinin görülme sıklığının belirlenerek literatürdeki yerini alması da hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araç ve Gereçler

Kimyasal Madde ve Çözücüler

Bidistile su

Mutlak etil alkol (Reidel-Haen)

2-propandiol (Merck)

Alet ve Gereçler

+4 °C Soğutucu (Bosch, Almanya)

-20 °C Derin dondurucu (Uğur Derin Dondurucu, Türkiye)

Santrifüj (Sigma k-15-1, Almanya)

Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)

1,5 ml'lik kapaklı ependorf tüp (Isolab, Almanya)

3 ml'lik %7,5 EDTA'lı tüp (BD, Vacutainer, İngiltere)

10 ml'lik içeriksiz biyokimya tüpü (BD, Vacutainer, İngiltere)

Otomatik pipet (Eppendorf, Almanya)

Distile su cihazı (Milli pore, Fransa)

Cobas 501 otoanalizör (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Gerçek zamanlı PZR cihazı (LightCycler480 II, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Dynex Dsx automated Elisa System (Dynex technologies inc. Virginia , USA)

Kullanılan Kitler

Total Kolesterol: (Kat. No. 2055643, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

HDL Kolesterol: (Kat. No. 2055937, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Trigliserit: (Kat. No. 2144620, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

High Pure PCR Template Kit (Kat. No. 1 796 828, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

MMP-3 Mutasyon Kiti: (Reference No: G201103095, Genmar laboratories İzmir, Türkiye)

MMP-9 Mutasyon Kiti: (Reference No: G2011030956, Genmar laboratories İzmir, Türkiye)

İnsan MMP-3 Eliza Kiti: (Kat No.ELH-MMP3-001 RayBiotech,inc)

İnsan MMP-9 Eliza Kiti: (Kat No.ELH-MMP9-001 RayBiotech,inc)

Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

DNA izolasyonunda High Pure PCR Template Kit kullanılmıştır. Kit içeriği tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. DNA İzolasyonunda Kullanılan High Pure PCR Template Kit İçeriği

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
Bağlama tamponu	20 ml	6 M guanidin HCl, 10 mM Tris-HCl, %20 Triton X-100 (v/v), pH:4,4
Proteinaz K	90 mg	Liyofilize preparat
İnhibitör uzaklaştırma tampon	53 ml	5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl pH:6,6
Yıkama tamponu	20 ml	20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH:7,5
Elüsyon tamponu	40 ml	10 mM Tris, pH:8,5

Kit içeriğinin verilen uygulama talimatında verildiği gibi, bağlama tamponu ve elüsyon tamponu herhangi bir işlem yapılmaksızın kullanıldı, diğer içerikler ise kit içeriğinde verilen uygulama talimatına göre aşağıda verilen şekilde hazırlandı.

Proteinaz K: Liyofilize halde oda sıcaklığında saklanan proteinaz K, 4,5 ml steril bidistile su ile sulandırıldıktan sonra 500 µL'lik parçalara ayrılarak -20°C'de korundu.

İnhibitör Uzaklaştırıcı Tampon: 33 ml tampona 20 ml mutlak etil alkol eklendi.

Yıkama Tamponu: 20 ml yıkama tamponunun üzerine 80 ml mutlak etil alkol eklendi.

Bunların dışında, DNA izolasyon kit içeriğinde yer almayan ancak uygulamada kullanılan 2-propandiol herhangi bir ön hazırlığa gerek duyulmaksızın, doğrudan stok çözültiden alınarak kullanıldı.

Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kardiyoloji polikliniklerine göğüs ağrısı ile başvuran ve miyokard infarktüsü tanısı alan, yaşları 34-85 arasında değişen 68 erkek, 22 kadından oluşan 90 hasta (hasta grubu) ve herhangi sistemik bir hastalığı bulunmayan yaşları 20-68 arasında değişen, 39 erkek ve 51 kadından oluşan 90 birey (kontrol grubu) olmak üzere toplam 180 kişi dahil edildi.

Helsinki bildirisinin özelliklerine göre yapılan bu çalışmaya Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 07/04/2011 tarih ve 2011/80 karar sayılı onay alındıktan sonra başlandı. Çalışmaya katılan tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onamları alındı.

Çalışmaya dahil edilen bireylere ait yaş, cinsiyet, boy, kilo, sigara kullanımı, alkol tüketimi, ilaç kullanımı ve aile öyküsü verileri kaydedildi. Hastalar aterosklerotik risk faktörleri açısından sorgulandı. Bu değerlendirmeler Kardiyoloji Ana Bilim

Dalları öğretim üyeleri tarafından yapıldı.Çalışmaya katılan bireylerin periferik venöz kan örnekleri, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere ve serumları ise ayrılmak üzere içeriksiz biyokimya tüplerine alındı.

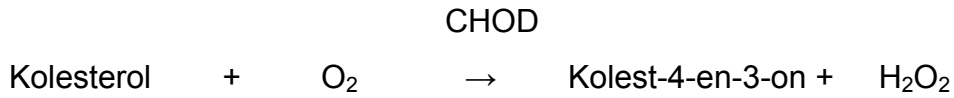
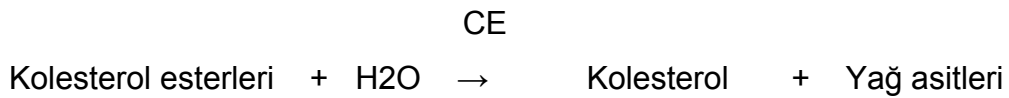
EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri, DNA izolasyonu yapılmak üzere çalışma gününe kadar +4°C'de saklandı. MMP-3, MMP-9 düzeyleri ve Lipit profili için ise içeriksiz biyokimya tüplerine alınan periferik venöz kan örnekleri, 10 dakika bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve daha sonra çalışılmak üzere - 20 °C'de saklandı.

Yöntemler:

Lipit Profili Ölçümleri

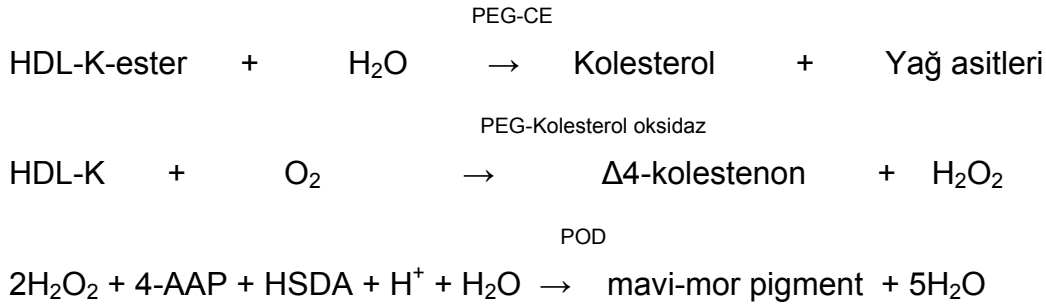
Total Kolesterol Ölçümü: Total kolesterol (TK) düzeyleri enzimatik kolorimetrik yöntemle (CHOD/PAP) çalışıldı. Yöntem, kolesterol esterlerinin kolesterol esteraz (CE) enzimiyle açığa çıkan serbest kolesterolün, kolesterol oksidaz varlığında hidrojen peroksida (H₂O₂) oksidasyonu ve oluşan H₂O₂'nin ise peroksidaz (POD) ile fenol ve 4-aminoantiprin (4-AAP) varlığında, kinonimine dönüşümü ve oluşan kinoniminin 520 nm'de ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır.

Total kolesterolün ölçümünde yer alan tepkime denklemleri



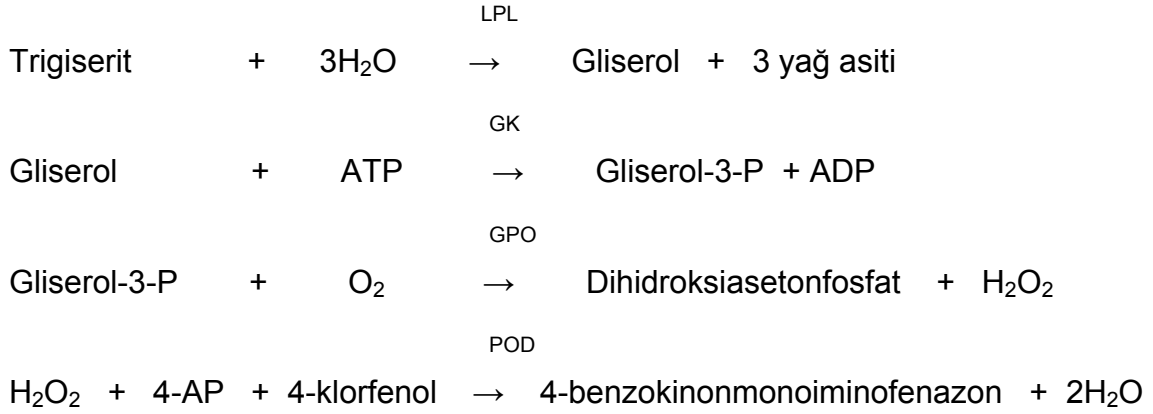
HDL Kolesterol Ölçümü: HDL-Kolesterol (HDL-K) ölçümünde homojen enzimatik kolorimetrik yöntem kullanıldı. Yöntemde magnezyum sülfat ve dekstran sülfat varlığında, polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmiş enzimlere dirençli, suda çözünen LDL, VLDL ve şilomikron kompleksleri oluşturulur. HDL-K kolesterol içeriği PEG ile modifiye edilmiş (%40 oranında) kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından enzimatik kataliz ile belirlenir. Kolesterol esterleri kolesterol esteraz tarafından serbest kolesterol ve yağ asitlerine yıkılır. Oksijen varlığında kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından $\Delta 4$ -kolestenon ve H_2O_2 'ye okside olur. Hidrojen peroksit, POD tarafından 4-AAP ve sodyum-N (2-hidroksi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoksianilin (HSDA) varlığında mavi-mor pigment oluşturur. Oluşan mavi-mor pigmentin 582 nm dalga boyundaki absorpsiyonu spektrofotometrik olarak belirlenir.

HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemleri



Trigliserit Ölçümü: Trigliserit (TG) düzeyleri enzimatik kolorimetrik (gliserolfosfat oksidaz-peroksidaz) yöntem ile ölçüldü. Yöntem, trigliseritlerin lipoprotein lipaz (LPL) tarafından serbest yağ asitleri ve gliserole hidrolizini, gliserolün gliserokinaz (GK) ile gliserol-3-fosfata katalizini, gliserol-3-fosfatın da gliserol fosfat oksidaz (GPO) tarafından dihidroksiaseton fosfata (DHAP) ve H_2O_2 'e oksidasyonunu ve oluşan H_2O_2 'in POD katalizi eşliğinde fenol ve 4-aminofenazon ile tepkimesi sonucu 4-benzokinonmonoiminofenazon oluşumuna dayanmaktadır. Oluşan kinon bileşiğinin 520 nm'de verdiği absorpsiyon trigliserit ile doğru orantılıdır.

Trigiserit ölçümünde yer alan tepkime denklemleri



LDL ve VLDL Ölçümü

LDL ve VLDL düzeyleri oransal olarak Friedwald eşitliğine göre hesaplandı.⁵²

Friedwald Eşitliği;

$$VLDL = \text{Triglicerid} / 5$$

$$LDL = \text{Total kolesterol} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Matriks Metalloproteinaz-3 ve Matriks Metalloproteinaz-9 Serum Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) düzeylerinin belirlenmesinde yarışmalı ELISA yöntemi kullanıldı.

Çalışma ilkesi: Serum örnekleri MMP-9 antikorları ile kaplı kuyucuklara eklendi. Bu antikorlara bağlanan serumdaki MMP-9 ve MMP-3 enziminin üzerine biotinlenmiş anti-insan MMP-9 antikorları eklendi. Oluşan bu komplekse HRP-konjuge streptavidin eklendi. Kompleks tetrametilbenzidin (TMB) substratı ile oluşan rengin şiddeti MMP-9 düzeyini yansıtır.

Sonuçların hesaplanması: Serum örneklerinin, standartların ve sıfır standartın optik yoğunluğu Dynex Dsx automated Elisa System cihazında 450 nm'de okundu.

Serum MMP-3 düzeyleri ölçümünde RayBio human MMP-3 Elisa Kiti kullanılmıştır. Kit içeriği Tablo 3'de verilmiştir.

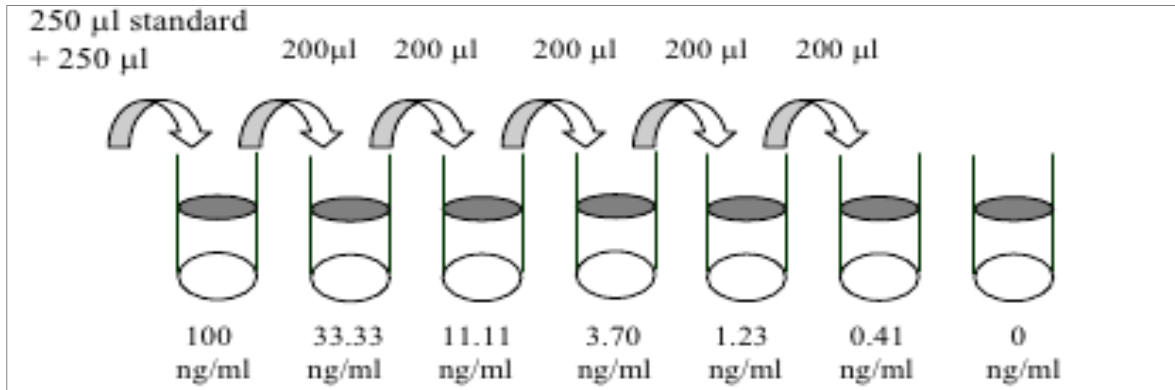
Tablo 3. MMP-3 Eliza Kit İçeriği

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
MMP-3 mikropleyti	1adet	Insan MMP-3 antikoruna kaplı 96 kuyucuk
Standartlar	2 şişe	Rekombinant insan MMP-3'ü
Ayıraç seyreltici(5x)	15 ml	5 kat yoğunlaştırılmış ve tamponlanmış
Yıkama tamponu(20x)	25 ml	20 kat yoğunlaştırılmış çözelti
MMP-3 antikoruna saptayıcı	2 şişe	Biyotinlenmiş insan MMP-3 antikoruna
HRP-Streptavidin	8 ml	20,000 kat yoğunlaştırılmış HRP bağlı Streptavidin
TMB one-step substrat ayırıcı	12 ml	3,3, 5,5-tetrametilbenzidin
Sonlandırma çözeltisi	8 ml	2M sülfürik asit

Tüm ayıraçlar ve örnekler kullanmadan önce oda ısısına getirildi.

Ayıraç seyreltici : Kullanımdan önce ayıraç seyreltici saf su ile 5 kat seyreltildi.

Standartların hazırlanması: Standartın bulunduğu şişe kısa süre çevrildikten sonra 400 µl 1x'ya seyreltilmiş ayıraç seyreltici eklendi ve hafifçe karıştırıldı. Böylece 200 ng/ml standart hazırlandı. Bu hazırlanan standart çözeltiden 250 µl alınarak, yine 250 µl 1x 'ya seyreltilmiş ayıraç seyreltici ile karıştırıldı ve böylece 100 ng/ml stok standart çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan 6 tüpe önce 400'er µl 1x ayıraç seyreltici konuldu. Hazırlanmış olan 100 ng/ml'lik stok standart çözeltiden 200 µl alındı önceden 400 µl 1x ayıraç seyreltici konulmuş tüpe eklendi ve 33,33 ng/ml'lik standart hazırlandı. Yine aynı şekilde ardışık seyreltmeler yapıldı. Yalnızca 400 µl 1x ayıraç seyreltici konulmuş tüp 0 standart olarak kabul edildi.(Şekil 8.)



Şekil 8. Serum MMP-3 düzeylerinin saptanmasında kullanılan standartların hazırlanması

Yıkama tamponu: 20x yıkama tamponundan 20 ml alındı ve saf su ile 400 ml'ye tamamlanarak 1x yıkama tamponu hazırlandı.

Saptayıcı antikör :1x ayıraç seyreltici den 100 ml alındı saptayıcı antikörle karıştırılarak çözelti hazırlandı. Daha sonra bu çözelti 1x ayıraç seyreltici ile 160 kat seyreltildi.

HRP-streptavidin: Hrp-streptavidin çözeltisi 1x ayıraç seyreltici ile 70,000 kat seyreltildi.

Çalışma protokolü:

1. Tüm çözeltiler, serum örnekleri ve standartlar hazırlandı.
2. Her bir standart ve örnekten 100 µl alınıp uygun kuyucuklara eklendi. Plate üzeri kapalı olarak 2,5 saat oda ısısında bırakıldı.
3. Kuyucuklardaki çözeltiler boşaltılıp hazırlanmış 1x yıkama tamponu ile 4 defa yıkandı.
4. Her kuyucuğa hazırlanmış biotinlenmiş antikordan 100 µl eklendi ve oda ısısında 1 saat bekletildi.
5. Kuyucuklardaki çözeltiler boşaltılıp hazırlanmış 1x yıkama tamponu ile 4 defa yıkandı.
6. Hazırlanmış streptavidin çözeltisinden 100 µl eklendi ve oda ısısında 45 dakika bekletildi.

7. Kuyucuklardaki çözeltiler boşaltılıp hazırlanmış 1x yıkama tamponu ile 4 defa yıkandı.

8. Her kuyucuğa 100 µl substrat çözeltisi TMB eklendi ve 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletildi.

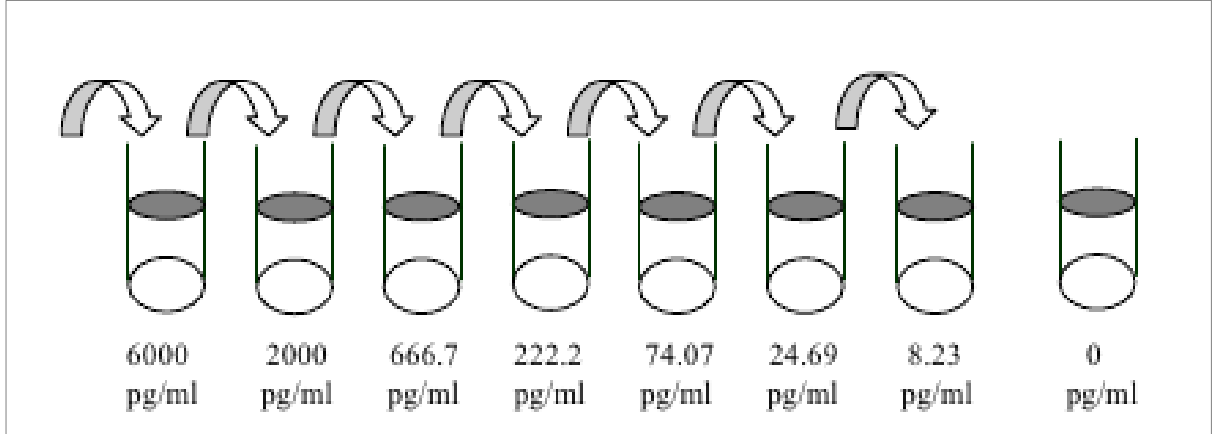
9. Her kuyucuğa 50 µl sonlandırıcı çözelti eklenip 450 nm'de hemen okuma yapıldı. Serum MMP-9 düzeyleri ölçümünde ise RayBio human Elisa Kiti kullanılmıştır. Kit içeriği Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. MMP-9 Eliza Kit İçeriği

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
MMP-9 mikropleyti	1adet	İnsan MMP-9 antikorlu kaplı 96 kuyucuk
Standartlar	2 şişe	Rekombinant insan MMP-9'ü
Ayıraç seyreltici(5x)	15 ml	5 kat yoğunlaştırılmış ve tamponlanmış
Yıkama tamponu(20x)	25 ml	20 kat yoğunlaştırılmış çözelti
MMP-9 antikorlu saptayıcı	2 şişe	Biyotinlenmiş insan MMP-9 antikorlu
HRP-Streptavidin	8 ml	20,000 kat yoğunlaştırılmış HRP bağlı Streptavidin
TMB one-step substrat ayırıcı	12 ml	3,3, 5,5-tetrametilbenzidin
Sonlandırma çözeltisi	8 ml	2M sülfürik asit

Ayıraç seyreltici: Kullanımdan önce saf su ile 5 kat seyreltildi.

Standart hazırlanması: Standartın bulunduğu şişe kısa süre çevrildikten sonra 400 µl 1x'ya seyreltilmiş ayıraç seyreltici eklendi ve hafifçe karıştırıldı. Böylece 50ng/ml ng/ml standart hazırlandı. MMP-9'dan 80 µl alınıp 586,7 µl 1x ayıraç seyreltici ile bir tüpe konularak 6000 pg/ml stok standart çözelti hazırlandı. Hazırlanan 7 tüpe önce 400'er µl 1x ayıraç seyreltici konuldu. Hazırlanmış olan 6000 pg/ml'lik stok standart çözeltiden 200 µl alındı önceden 400 µl 1x ayıraç seyreltici konulmuş tüpe eklendi ve 2000 pg/ml'lik standart hazırlandı. Yine aynı şekilde ardışık seyreltmeler yapıldı. Yalnızca 400 µl 1x ayıraç seyreltici konulmuş tüp "0" standart olarak kabul edildi.(Şekil 9)



Şekil 9. Serum MMP-9 düzeylerinin saptanmasında kullanılan standartların hazırlanması

Yıkama tamponu: 20x yıkama tamponundan 20 ml alındı ve saf su ile 400 ml'ye tamamlanarak 1x yıkama tamponu hazırlandı.

Saptayıcı antikor: 1x ayıraç seyreltici den 100 ml alındı saptayıcı antikorla karıştırılarak çözelti hazırlandı. Daha sonra bu çözelti 1x ayıraç seyreltici ile 100 kat seyreltildi.

HRP-streptavidin: HRP-streptavidin çözeltisi 1x ayıraç seyreltici ile 20,000 kat seyreltildi.

Çalışma protokolü:

1. Tüm çözeltiler, serum örnekleri ve standartlar hazırlandı.
2. Her bir standart ve örnekten 100 µl alınıp uygun kuyucuklara eklendi. Plate üzeri kapalı olarak 2,5 saat oda ısısında bırakıldı.
3. Kuyucuklardaki çözeltiler boşaltılıp hazırlanmış 1x yıkama tamponu ile 4 defa yıkandı.
4. Her kuyucuğa hazırlanmış biotinlenmiş antikordan 100 µl eklendi ve oda ısısında 1 saat bekletildi.
5. Kuyucuklardaki çözeltiler boşaltılıp hazırlanmış 1x yıkama tamponu ile 4 defa yıkandı.

6. Hazırlanmış streptavidin çözeltisinden 100 µl eklendi ve oda ısısında 45 dakika bekletildi.
7. Kuyucuklardaki çözeltiler boşaltılıp hazırlanmış 1x yıkama tamponu ile 4 defa yıkandı.
8. Her kuyucuğa 100 µl substrat çözeltisi TMB eklendi ve 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletildi.
9. Her kuyucuğa 50 µl sonlandırıcı çözelti eklenip 450 nm'de hemen okuma yapıldı.

Matriks Metalloproteinaz-3 (MMP-3) ve Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) Mutasyon Analizlerinin Belirlenmesi

DNA İzolasyonu: Çalışma gruplarını oluşturan bireylere ait kan örneklerinden, aşağıdaki protokole uygun olarak DNA izolasyonları yapıldı ve çalışma anına kadar +4 °C'de saklandı.

İlke: Hücreler, tüm nükleazları hızla inhibe eden kaotropik bir tuz (guanidin HCl) varlığında proteinaz K ile kısa süreli inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber cam yapıya seçici olarak bağlanır. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırılır. Bu işlemin gerçekleşmesinde Çizelge 3.1'de içeriği verilen inhibitör temizleyici tampon ve yıkama tamponu kullanılmaktadır. Son olarak düşük tuz elüsyonuyla nükleik asitlerin fiber cam yapıdan ayrılmaları sağlanır.

Çalışma protokolü:

1. 1,5 ml'lik kapaklı steril bir tüpe, 200 µl tam kan alındı ve üzerine sırasıyla 200 µl bağlayıcı tampon ve 40 µl proteinaz K eklendi. Proteinaz K eklenmesini takiben tüplerin kapakları kapatılarak hemen karıştırıldı.
2. Tüpler 10 dakika 72°C'de inkübe edildi.
3. İnkübasyonun ardından 100 µl izopropanol eklendi, iyice karıştırıldı ve karışım filtre tüpüne aktarıldı.
4. Bir dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi.

5. Toplama tüpü değiştirildi ve tüpe 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi. 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi ve toplama tüpü tekrar değiştirildi.
6. Ardından tüpe 500 µl yıkama tamponu eklendi ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi.
7. Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrar edildi ve toplama tüpü değiştirildi.
8. Tüpe herhangi bir çözelti eklenmeden 10 saniye 8000 rpm'de tekrar santrifüj edildi.
9. Son olarak 1.5 ml'lik kapaklı DNA saklama tüplerine filtre tüpleri yerleştirilerek içerisine 72°C'de bekletilen elüsyon tamponundan 200 µl eklenerek 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Bu defa DNA elüsyon tamponunun yardımı ile 1.5 ml'lik kapaklı DNA saklama tüplerine geçtiği için filtre tüpleri uzaklaştırıldı ve DNA eldesi tamamlandı.

Mutasyon Analizi için MMP-3 5A/6A Primer ve Prob Tasarımı:

MMP-3 mutasyon analizi için kullanılacak olan amplifikasyon primerleri ve flurofor-işaretli proplar sentezlettirilmiş ve ters-faz HPLC ile saflaştırılmıştır (GENMAR). Amplifikasyonda kodlama dizisinin 5' ucunda yerleşik varyantlar için olmak üzere iki set primer kullanılmıştır. MMP-3 5A/6A genotiplenmesi için primer ve prob dizileri tablo 5'de verilmiştir. Primerler 5A/6A varyantın yer aldığı 7815 bç'lik ampikon eldesi için kullanılmıştır. 5A/6A mutasyonun belirlenmesi için çapa prob ve belirleme probu kullanılmıştır.

Çapa Probu 5'ucu LCRed 640 ile işaretlenmiş, (Taq polimeraz tarafından olası uzamanın engellenmesi için) 3' ucu fosforile edilmiş 29-mer oligonükleotid dizisidir.

Belirleme probu Çapa probundan bir baz uzaklıktaki bölgeye komplementer 3' ucu floresanlanmış 19-mer oligonükleotiddir.

Tablo 5. MMP-3 5A/6A Genotipleme için Kullanılan Primer ve Prob Dizileri

Primer ve Problar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5'GAGCTGCCACAGCTTCTACA
Reverse Primer	5'CTCAACCTCTCAAAGTGCTAGGAT
Belirleme Probu	5'-AAGACATGGTTTTTTCCCC-FL
Çapa Prob	5'-L640-CATCAAAGGAATGGAGAACCATAGAATAC-PH

MMP-3 5A/6A Mutasyonlarına Ait PZR Koşulları

MMP-3 5A/6A mutasyon analizi için kullanılan materyallerin miktarları Tablo 6'da , PZR koşulları Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 6 . MMP-3 Polimorfizm Analizinde Kullanılan Reaktiflerin Miktarları

Reaktif	Miktar (µL)
Forward primer	0,2
Reverse primer	1,0
Çapa probu	1,0
Belirleme probu	1,0
MgCl ₂ 25mM	1,6
Master hibridizasyon probu 10x	2,0
Arı su	8,2
Örnek DNA yada MMP-3 kontrolü	5,0
Toplam Tepkime Hacmi	20

Tablo 7. MMP-3 Polimorfizm Analizi İçin PZR Koşulları

PZR aşamaları	Hedef ısı (°C)	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°/sn)	Floresan okuma	
Denatürasyon	95	600	4,4	Yok	
Amplifikasyon (45 Döngü)	Denatürasyon	95	5	4,4	Yok
	Yapışma	55	10	2,2	Tek
	Uzama	72	15	4,4	Yok
Melting Curve	Dinlenme 1	95	30	4,4	Yok
	Dinlenme 2	40	60	1,5	Yok
	Okuma	78	0	-	Sürekli
Soğuma	40	30	1,5	Yok	

MMP-9 Mutasyon Analizi İçin Primer ve Prob Tasarımı: MMP-9 mutasyon analizi için kullanılacak olan amplifikasyon primerleri ve flurofor-işaretli proplar sentezlettirilmiş ve ters-faz HPLC ile saflaştırılmıştır (GENMAR). Amplifikasyonda kodlama dizisinin 5' ucunda yerleşik varyantlar için olmak üzere iki set primer kullanılmıştır. MMP-9 C1562T genotiplenmesi için primer ve prob dizileri Tablo 8'de verilmiştir. Primerler C1562T varyantın yer aldığı 7654 bç'lik ampikon eldesi için kullanılmıştır. C1562T mutasyonun belirlenmesi için çapa prob ve belirleme probu kullanılmıştır.

Çapa Probu 5'ucu LCRed 640 ile işaretlenmiş, (Taq polimeraz tarafından olası uzamanın engellenmesi için) 3' ucu fosforile edilmiş 23-mer oligonükleotid dizisidir. Belirleme probu Çapa probundan bir baz uzaklıktaki bölgeye komplementer 3' ucu floresanlanmış 25-mer oligonükleotiddir.

Tablo 8. MMP-9 C1562T Genotipleme için Kullanılan Primer ve Prob Dizileri

Primer ve Problar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5'AAACCAGCCTGGTCAACGT
Reverse Primer	5'TGATCTCGGCTCACTGCAA
Belirleme Probu	5'-CGCACGCCTATAATACCAGCTACTC-FL
Çapa Prob	5'-L640-GAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCT-PH

MMP-9 C1562T Mutasyon Analizine Ait PZR Koşulları

MMP-9 C1562 mutasyon analizi için kullanılan materyallerin miktarları tablo 9'da , PZR koşulları tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 9. MMP-9 C1562T Polimorfizm Analizinde Kullanılan Reaktiflerin Miktarları

Reaktif	Miktar (µL)
Forward primer	1,0
Reverse primer	1,0
Çapa probu	1,0
Belirleme probu	1,0
MgCl ₂ 25mM	1,6
Master hibridizasyon probu 10x	2,0
Arı su	7,4
Örnek DNA yada MMP-3 5A/6A kontrolü	5,0
Toplam Tepkime Hacmi	20

Tablo 10. MMP-9 C1562T Polimorfizm Analizi İçin PZR Koşulları

PCR aşamaları		Hedef ısı (°C)	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma
Denatürasyon		95	600	4.4	Yok
Amplifikasyon (45 Döngü)	Denatürasyon	95	5	4.4	Yok
	Yapışma	55	10	2.2	Tek
	Uzama	72	15	4.4	Yok
Melting Curve	Dinlenme 1	95	30	4.4	Yok
	Dinlenme 2	40	60	1.5	Yok
	Okuma	78	0	-	Sürekli
Soğuma		40	30	1.5	Yok

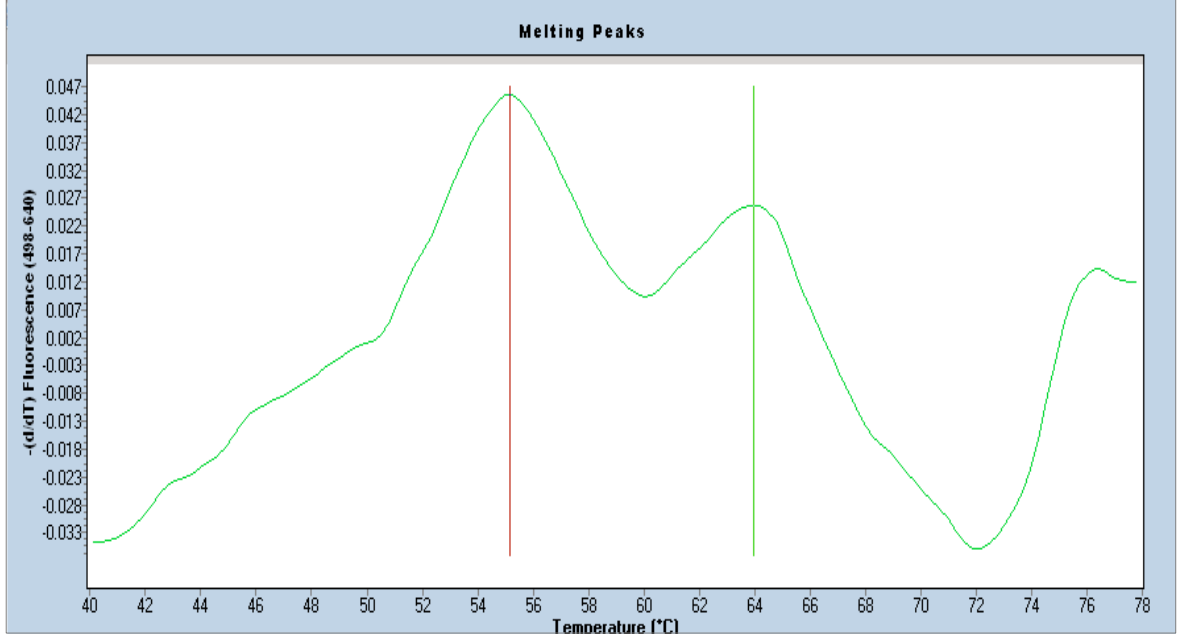
MMP-3 ve MMP-9 Mutasyon Analizlerine Ait Melting Curve Analizleri (Genotip Belirlenmesi)

Genotip belirleme, hibridizasyon problemlerinin erime ısıları farklarından yararlanılarak yapılır. Problemlerden birisi (çapa prob) mutasyonlu bölgeye bağlanırken, diğer prob ise çapa probdan en fazla iki baz uzaklıkta aynı dizinin devamına bağlanır. Mutasyonlu dizi ve doğal dizi arasındaki baz farkı, bağlanan problemlerin artan ısıyla birlikte farklı zamanlarda ayrılmalarına neden olur. Melting Curve analizi bu farktan yararlanılarak doğal ve mutant tipleri birbirinden ayırır.

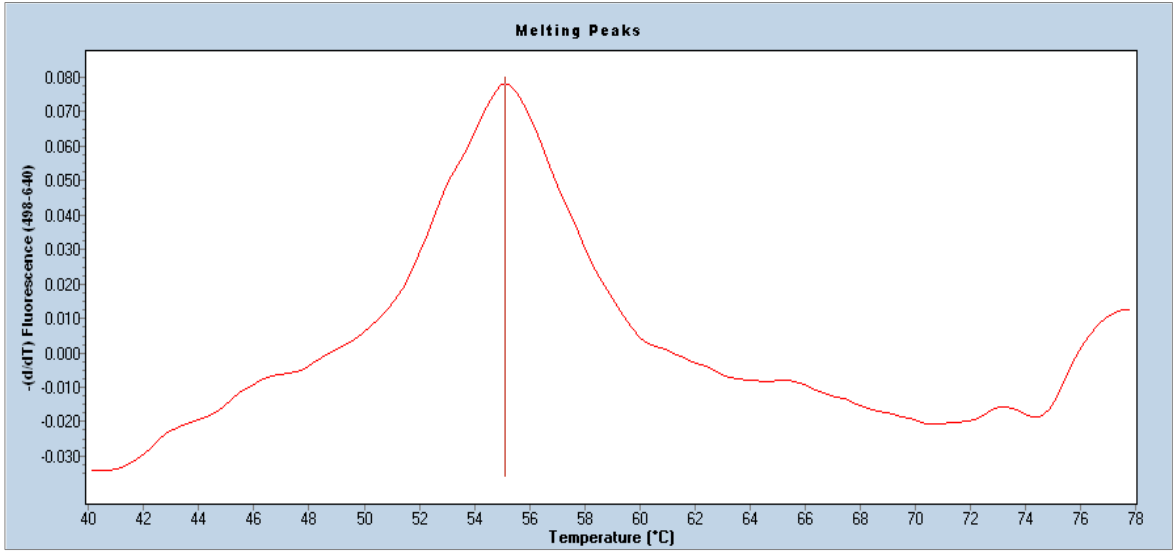
Ayrılma işleminde yani Melting Curve analizinde ısı belirli bir alt seviyeden (genellikle 40°C) belirli bir üst seviyeye (genellikle 75-85°C) kadar saniyede yaklaşık 0,1°C artar. Problemler bağlı buldukları diziden ayrıldıklarında iki prob arasındaki FRET kesilir ve sinyal üretimi olmaz.

Çalışmamızda genotip analizi yapılan MMP-9 mutasyonuna ait Melting Curve analiz görüntüleri ve varyantlarının erime ısıları şekil 10 (MMP-9 C-1562T CT), şekil 11(MMP-9 C-1562T TT) ve şekil 12 (MMP-9 C-1562T CC) de verilmiş olup erime

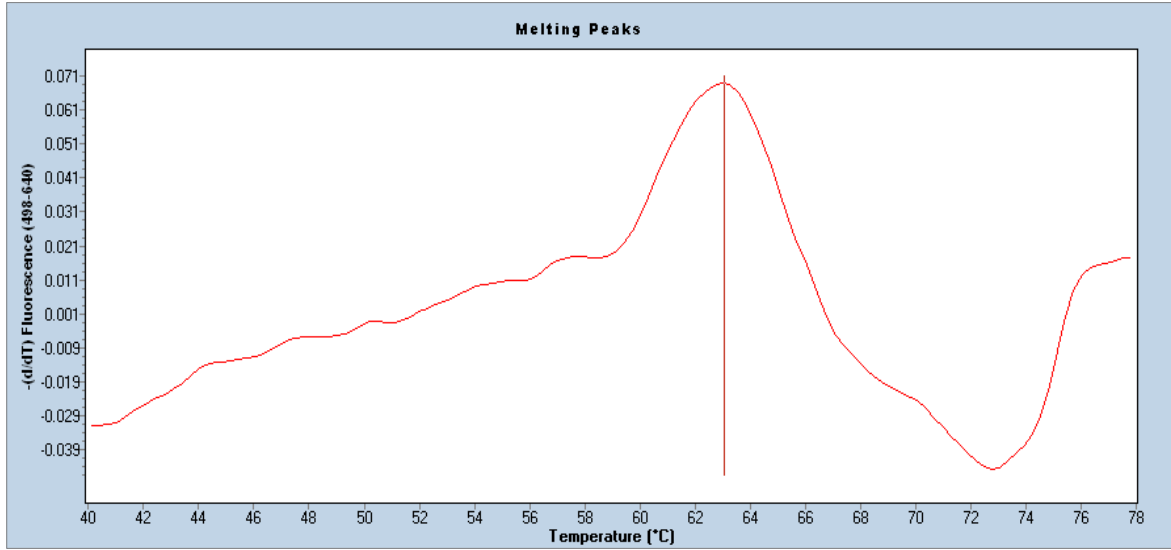
ısıları (T_M), CC (doğal tip) genotipi için 63°C ve TT (mutant tip) genotipi için ise 55°C'dir.



Şekil 10. MMP-9 C-1562T CT genotipine ait erime ısı analiz görüntüsü

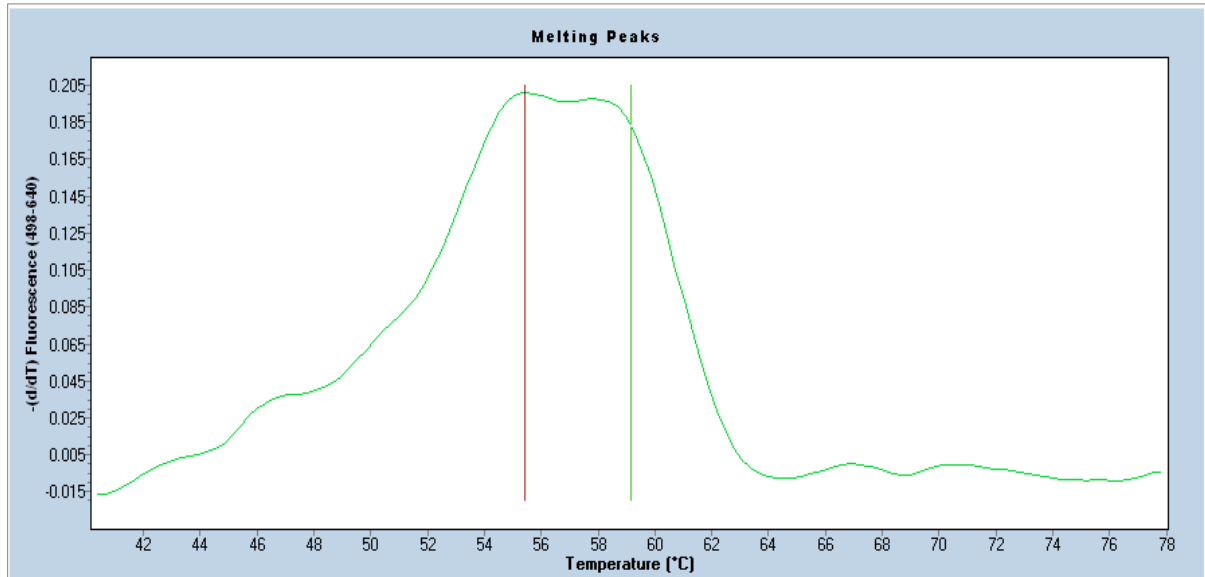


Şekil 11. MMP-9 C-1562T TT genotipine ait erime ısı analiz görüntüsü

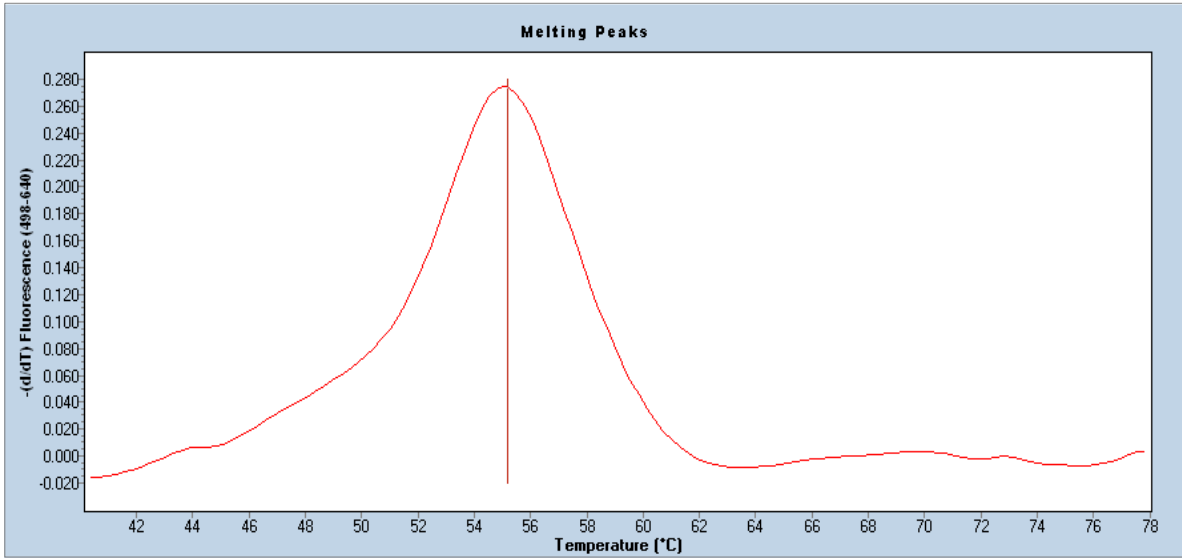


Şekil 12. MMP-9 C-1562T CC genotipine ait erime ısı analiz görüntüsü

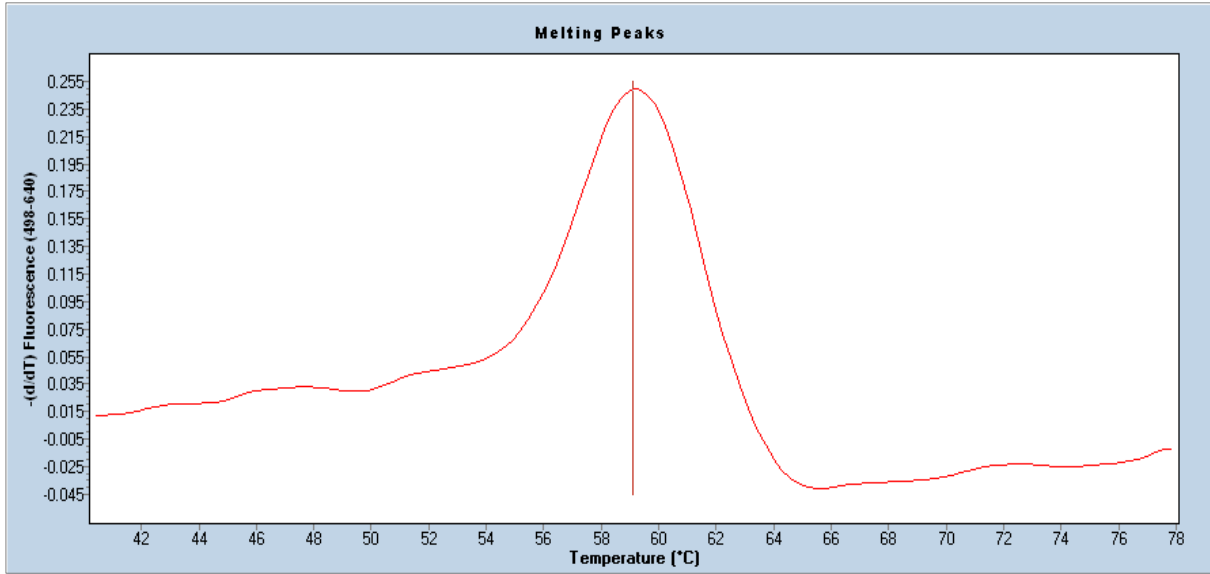
MMP-3 mutasyon analizine ait Melting Curve analiz görüntüleri ve varyantlarının erime ısıları şekil 13 (MMP-3 5A/6A), şekil 14 (MMP-3 6A/6A) ve şekil 15 (MMP-3 5A/5A'de verilmiş olup erime ısıları (T_M), 5A (doğal tip) genotipi için 62 °C ve 6A (mutant tip) genotipi için ise 53,5°C'dır.



Şekil 13. MMP-3 5A/6A genotipine ait erime ısı analiz görüntüsü



Şekil 14. MMP-3 6A/6A genotipine ait erime ısı analiz görüntüsü



Şekil 15. MMP-3 5A/5A genotipine ait erime ısı analiz görüntüsü

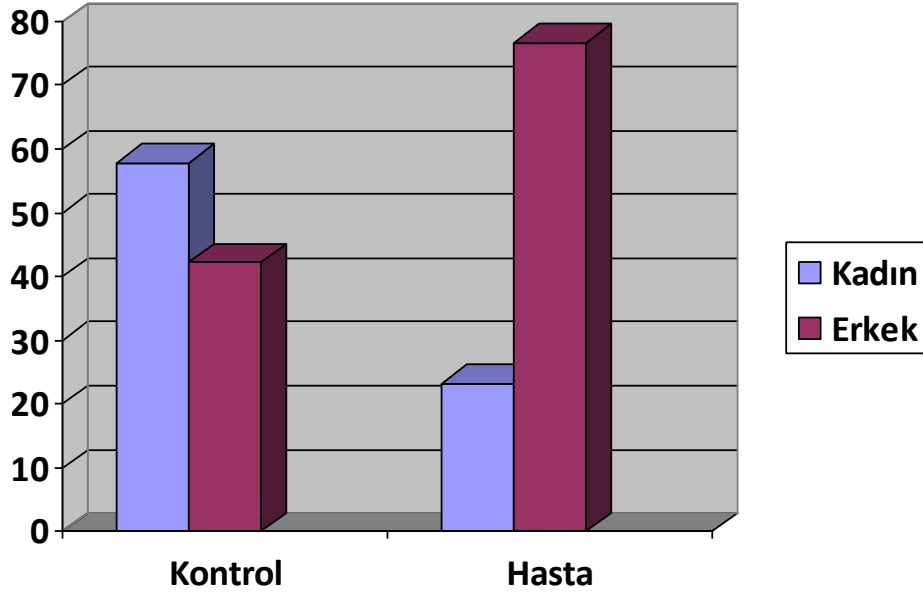
İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analizler için SPSS 11,5 (Statistical Package for Social Sciences version) paket programı kullanıldı. Total kolesterol, HDL-K, LDL-K, VLDL ve trigliseritin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösterenler bağımsız iki grup karşılaştırma testlerinden Independent sample t testi ile normal dağılım göstermeyenler ise Mann-Whitney U test ile karşılaştırıldı. MMP3 ve MMP9 düzeyleri bakımından ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ise normal dağılım göstermediğinden Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Allellerin genotiplere dağılımı ve bu dağılımın beklenen değerlerle uyumunun (Hardy-Weinberg dengesi) incelenmesinde tüm gruplarda tüm genotiplerin dengede olduğu saptandı. Genotiplerin diğer parametrelerle ilişkisini incelemek amacıyla Ki-kare veya Likelihood Ratio testi kullanıldı. İstatistik analizlerde $p < 0.05$ ise sonuçlar anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol ve Hasta Gruplarına Ait Tanımlayıcı Bulgular

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kardiyoloji Polikliniğine göğüs ağrısı ile başvuran ve AMİ tanısı alarak kardiyoloji servisine yatan hastaların %76.7'si erkek, %23.3'ü kadın olup yaş ortalaması 60.6 ± 12.3 olarak saptandı. Kontrol grubunun %56.7'si kadın, %43.3'ü erkek olup yaş ortalaması 44.3 ± 15.7 olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubuna ait cinsiyet dağılımları Şekil 16'da verilmiştir.



Şekil 16. Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet dağılımı

Hasta grubunun yaşları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$). Beklendiği üzere bireylerde yaşlanma ile birlikte akut miyokard infarktüsü olma riski artmaktadır. Cinsiyete göre AMİ geçirme riski değerlendirildiğinde; erkeklerde kadınlara göre risk 4.496 kat fazla olarak saptandı ($p = 0.001$) OR = 4.496 (%95 GA = 2.364 – 8.553).

Geleneksel Risk Etkenleri ile AMİ İlişkisine Ait Tanımlayıcı Bulgular

Hasta grubuna ait geleneksel risk etkenlerinden diabet, yüksek tansiyon, sigara kullanımı gibi demografik ve tanımlayıcı veriler Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. Kontrol Ve Hasta Gruplarının Demografik ve Tanımlayıcı Verileri

Demografik Veriler		Hasta (%)
HT	Var	28.9%
DM	Var	11.1%
HT,DM	Var	23.3%
Hastalık	Yok	36.7%
Sigara	Var	35.6%
	Yok	64.4%

MMP-3 5A/6A ve MMP-9 C-1562T polimorfizmlerinin bu bölgede yapılan ilk çalışma olması nedeni ile sağlıklı bireylerde bu polimorfizmlerin dağılımını belirlemek amacıyla kontrol grubu, sigara, yüksek tansiyon, diabet gibi geleneksel risk etmenleri ve herhangi bir sistemik hastalık açısından dışlanmıştır. Hasta grubunda geleneksel risk etkenlerinden olan Hipertansiyon, Diabetes mellitus hastalıklarından bir ya da ikisini taşıyanların toplam oranı % 63.3 iken bu risk etmenlerini taşımayanların oranı %36.7 olarak bulundu.

Kontrol ve Hasta Gruplarında Serum Glukoz, CRP ve Lipid Profil Düzeylerine Ait Bulgular

Kontrol ve hasta gruplarında serum glukoz, CRP ve lipid profillerine ait değerler Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12 . Kontrol ve Hasta Gruplarında Serum Glukoz, CRP ve Lipid Profil Düzeyleri

	Kontrol (Ort ± SD)	Hasta (Ort ± SD)	P
Glukoz	100.57± 26.10	167.37 ± 87.55	0.001
CRP	5.89 ± 15.54	25.09 ± 43.54	0.001
T.Kolesterol	199.22 ± 5.10	171.13 ± 50.20	0.003
HDL	52.79 ± 14.49	38.78 ± 12.98	0.001
LDL	120.11 ± 38.57	98.39 ± 39.69	0.006
VLDL	25.06 ± 16.79	36.15 ± 21.35	0.022

P: Gruplar arası anlamlılık derecesi

Hasta grubunda, kontrol grubuna oranla serum glukoz ve CRP düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.001). HDL kolesterol düzeyleri kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu.(p=0.001) Total kolesterol düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olarak belirlendi (p=0.003). Benzer olarak LDL kolesterol düzeyleri yine hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulundu (p=0.006).

Kontrol ve Hasta Gruplarında Serum MMP-3 ve MMP-9 Düzeylerine Ait Bulgular

Kontrol ve hasta gruplarının serum MMP-3 ve MMP-9 düzeylerine ait bulgular Tablo 13'te verilmiştir.

Tablo 13. Kontrol ve Hasta Gruplarının Serum MMP-3 ve MMP-9 Düzeyleri

Parametre	Kontrol (Median,Min,Maks)	Hasta (Median,Min,Maks)	p	
MMP-3	5A/5A	1.887, 0.504, 17.29	0.862, 0.123, 36.61	0.001
	6A/6A	1,649, 0,623, 4.494	0.681, 0.072, 7.231	0.059
	5A/6A	1.987, 0.671, 31.21	0.802, 0.026, 18.29	0.001
MMP-9	CC	1458.8, 0.664, 3881.4	2314.2, 1323.4, 2920.8	0.001
	TT	1353.15, 230.87, 3987.8	2104.8, 70.72, 4215.8	0.121
	CT	1494.4, 1.027, 3033.2	2227.65,1402.4,3274.1	0.001

P: Gruplar arası anlamlılık derecesi

Serum MMP-3 düzeyleri MMP-3 5A/6A, 5A/5A genotipine sahip hastalarda kontrol grubuna oranla anlamlı bir biçimde düşük bulundu ($p=0.001$). MMP-3, 6A/6A genotipine sahip hastalarda ise serum MMP-3 düzeyleri kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Hastalarda MMP-3 5A/5A, 5A/6A, 6A/6A genotipleri göz önüne alındığında genotipler arasında MMP-3 düzeyleri açısından kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

MMP-9 mutasyonunda ise MMP-3'ün tersine CC ve CT genotipine sahip hastalarda MMP-9 düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p=0.001$).

MMP-9 CC, CT, TT genotipleri göz önüne alındığında genotipler arasında MMP-9 düzeyleri açısından kontrol ve hasta grupları arasında bir fark saptanmadı.

Kontrol ve Hasta Gruplarında MMP-3 ve MMP-9 Gen Genotip Dağılımına Ait Bulgular

Kontrol ve hasta gruplarına ait MMP-3 5A/6A ve MMP-9 C-1562 T gen polimorfizmlerinin genotip dağılımlarına ait bulgular Tablo 14'de verilmiştir.

Tablo 14. Kontrol ve Hasta Gruplarına ait MMP-3 ve MMP-9 Gen Polimorfizmlerinin Genotip Dağılımları

		Genotip Sıklığı		p
		n (%)		
		Kontrol	Hasta	
MMP-3	5A/5A	39 (43.3%)	28 (31.1%)	0.087
	6A/6A	8 (8.9%)	21 (23.3%)	0.007
	5A/6A	43 (47.8%)	41 (45.6%)	0.765
MMP-9	CC	43 (47.8%)	41 (45.6%)	0.765
	TT	8 (8.9%)	13 (14.4%)	0.244
	CT	39 (43.3%)	36 (40.0%)	0.650

P: Gruplar arası anlamlılık derecesi

MMP-9 genotip dağılımı açısından hasta ($p=0.278$) ve kontrol ($p=0.841$) grupları Hardy-Weinberg dengesindedir. MMP-3 genotip dağılımı açısından da hasta ($p=0.429$) ve kontrol ($p=0.424$) grupları Hardy-Weinberg dengesindedir.

MMP-3 mutasyonu bakımından hasta ve kontrol grupları arasında bir farklılık olduğu saptandı ($p=0,021$). MMP-3 mutasyonu için hasta grubunda 5A/5A genotip

dağılımı oranı %31.1, kontrol grubunda % 43.3 olarak saptandı. 5A/5A genotip dağılımı hasta ve kontrol gruplarında benzer olarak saptandı (p=0.087). Benzer biçimde 5A/6A genotip oranları, hasta grubunda %45.6 iken kontrol grubunda %47 olarak belirlendi. Aralarında anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p=0.765). Bunlardan farklı olarak 6A/6A genotip dağılım oranında ise hasta grubunda (%23.3), kontrol grubuna (%8.9) oranla anlamlı bir farklılık saptandı (p=0.007). Akut miyokard infarktüsünde, 6A/6A genotipi taşıyanların 5A/5A taşıyanlara göre 3.656 kat daha fazla olduğu tespit edildi. OR = 3.656 (%95 GA = 1.417 – 9.436), p=0.007. Akut miyokard infarktüsünde, 5A/6A genotipi taşıyanların 5A/5A taşıyanlara göre 1.328 kat daha fazla olduğu tespit edildi. OR = 1.328 (%95 GA = 0.695 – 2.537), p=0.390.

MMP-9 mutasyonu bakımından hasta ve kontrol grupları arasında bir farklılık gözlenmedi (p=0,507). MMP-9 mutasyonu için ise hasta grubunda CC genotip oranı %45.6, kontrol grubunda % 47.8 olarak belirlendi (p=0.765). TT genotip oranları hasta grubunda %14.4, kontrol grubunda % 8.9 olarak belirlendi (p=0.244). CT genotip oranları hasta grubunda %40, kontrol grubunda %43.3 olarak belirlendi (p=0.650). Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.507).

Kontrol ve Hasta Gruplarında MMP-3 ve MMP-9 Allel Dağılımına Ait Bulgular

Kontrol ve hasta grubunda MMP-3 5A, 6A allelleri, MMP-9 C ve T allellerinin dağılımları tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. MMP-3 Ve MMP-9 Gen Polimorfizmlerinin Allel Sıklıklarının Dağılımları

ALLEL SIKLIĞI		Kontrol	Hasta	P değeri
		Sayı (%)	Sayı (%)	
MMP-3	5A	121 (67.2%)	97 (53.9%)	0.013
	6A	59 (32.8%)	83 (46.1%)	
MMP-9	C	125 (69.4%)	118 (65.6%)	0.500
	T	55 (30.6%)	62 (34.4%)	

MMP-9 C alleli kontrol grubunun %69.4'ünde belirlenirken, hasta grubunun %65.6'sında belirlendi. MMP-9 T alleli ise kontrol grubunun %30.6'sında belirlenirken, hasta grubunun %34.4'ünde belirlendi. MMP-9 C ve T allellerinin dağılımı açısından kontrol grubu ile hasta grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0.500$).

MMP-3 5A alleli kontrol grubunun %67.2'sinde belirlenirken, hasta grubunun %53.9'unda belirlendi. MMP-3 6A alleli ise kontrol grubunun %32.8'inde belirlenirken, hasta grubunun %46.1'inde belirlenmiştir. Sonuç olarak MMP-3 açısından da 5A ve 6A allellerinin dağılımı incelendiğinde kontrol grubu ile hasta grubu arasında anlamlı bir fark saptandı ($p=0.013$).

Akut miyokard infarktüsünde, 6A alleli taşıyanların 5A alleli taşıyanlara göre 1.755 kat daha fazla olduğu tespit edildi. OR = 1.755 (%95 GA = 1.144 – 2.691), $p=0.010$.

TARTIŞMA

Akut miyokard infarktüsü dünyada ölüm nedenlerinin en başta gelen nedenidir. Miyokard infarktüsü birincil bir olay olmayıp, her zaman iskemi sonucunda gelişir. Miyokard iskemisi ise miyokardın oksijen gereksiniminin artması ya da sunumunun azalması ile ortaya çıkmaktadır. İskemi hangi şiddette olursa olsun miyositlerde geri dönüşümsüz hasar yapacak kadar sürerse, miyokard infarktüsü gelişir. AMİ için en önemli risk faktörleri ; hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diabetes mellitus, şişmanlık ve koroner arter hastalığı aile öyküsüdür.⁴¹

Koroner arterlerin ateroskleroza, AMİ'nin baskın mekanizmasıdır. Aterosklerotik plağın büyümesi, damar intima tabakasında lipid, hücre dışı matriks elemanları ve hücrelerin birikmesiyle gerçekleşmektedir. Ateromatöz plağın yıpranması ya da yırtılması AMİ'ye ilerleyen olaylar zincirinin başlangıcı olan tromboza yol açmaktadır. AMİ fizyopatolojisi Matriks Metalloproteinaz (MMP) gibi çeşitli proteinlerin dahil olduğu karmaşık bir süreçtir. Yapılan araştırmalarda, MMP etkinliğinin ateromatöz plak oluşumunu kolaylaştırabileceği, arter duvarını zayıflatabileceği ve plağın yırtılmasına neden olarak AMİ'ye neden olabileceği ileri sürülmektedir.^{48,1}

Aterosklerotik plaklarda MMP-3 ve MMP-9 en yaygın bulunan MMP enzimleridir.¹³ MMP-3 ateromatöz plaklarda eksprese edilirken normal arterlerde eksprese edilmemektedir.⁶

Genel olarak AMİ sıklığı hipertansiyon, diabetes mellitus ve hiperkolesterolemi gibi geleneksel risk etmenlerinin bulunması ile birlikte artmaktadır. Bu risk etmenlerinin her biri genetik kontrol altındayken AMİ için aile öyküsünün bulunması bu hastalığa yatkınlık açısından bağımsız bir etken olarak tanımlanmaktadır. Bu durum da AMİ için başka duyarlı genlerin varlığını düşündürmektedir. Dahası bazı hastaların geçirilmiş miyokard infarktüsü olmasına rağmen geleneksel risk etmenlerinin olmaması, olaya tanımlanmamış genetik içeriğin eşlik ettiğini düşündürmektedir. Bu hastalığın önlenmesi halk sağlığı açısından önemli bir amaçtır. AMİ'nin önlenmesi için yaklaşımlardan bir tanesi de hastalığa duyarlılığı artıran genleri tanımlamaktır. Ayrıca genetik polimorfizmlerdeki irksal farklılıklardan dolayı bu ırklardaki AMİ ile ilişkili polimorfizmler için bir veri tabanı oluşturulması önem kazanmaktadır.³

Akut miyokard infarktüsü geçiren hastaların önemli bir kısmında geleneksel risk etkenlerinin olmayışı nedeniyle araştırmacılar genetik çalışmalara yönelmiştir. Son yıllardaki yayınlarda koroner arter hastalığı ve AMİ ile ilişkili olabilecek MMP genleri tanımlanmaya başlamıştır. Biz de çalışmamızda öncelikle hasta ve kontrol gruplarına ait risk faktörlerini değerlendirdik ve Mersin bölgesinde bu polimorfizmler ile AMİ arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçladık.

Yapılan çalışmaların çoğunda cinsiyet, sigara, yüksek tansiyon, hiperkolesterolemi ve şeker hastalığı gibi geleneksel risk faktörlerinin AMİ ile birlikteliklerini belirgin yüksek sıklıkta bulunmuştur.^{53,54,55} Geleneksel risk faktörlerinden yüksek tansiyon ve hiperkolesterolemi dahil hiç birinin AMİ için risk oluşturmadıkları belirtilmiştir.^{3,56} Kim ve ark.(2005) AMİ geçiren hastalarla kontrol grubu arasında geleneksel risk etkenlerinden yalnızca yaş ve LDL kolesterol düzeyinin istatistiksel anlam taşıdığını belirtmişlerdir.¹⁵

Bizim çalışmamızda hasta grubunda kan glukoz ($p < 0.001$) ve hsCRP ($p < 0.001$) düzeyi belirgin bir biçimde yüksek olarak saptandı. Yukarıdaki

çalışmalardan farklı olarak kontrol grubunda hasta grubuna göre total kolesterol (p=0.003), HDL (p=0.001) ve LDL kolesterol (p=0.006) düzeyleri anlamlı bir biçimde yüksek bulundu. Total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri hasta grubunda düşük olarak saptandı. Bu düşüklüğün nedeni kullandıkları lipid düşürücü ilaçlara bağlı olmakla birlikte bu ilaçların AMİ riskini azaltamadıkları söylenebilir.

MMP3 5A/6A promoter polimorfizmi ve ateroskleroz arasındaki ilişki ilk olarak 1995 yılında tanımlanmıştır ve 6A/6A genotipi koroner aterosklerozun hızlı ilerlemesiyle ilişkili bulunmuştur.⁵⁷

Yapılan daha bir çok araştırma bu araştırmayı destekler niteliktedir. Hastalarda MMP-3 6A/6A genotipinin görülme sıklığı arttıkça %50 darlık bulunan koroner arter sayısı artmakla birlikte en az bir koroner arterinde %50 darlık olan MMP-3 5A/5A genotipli hastalarda ise miyokard infarktüs riski artmış olarak saptanmıştır.⁵⁸ Geleneksel kardiyovasküler risk etkeni olmayan bayanlarda MMP-3 6A allelinin bulunması kalp damar hastalığı açısından bağımsız risk etmeni olarak tanımlanmaktadır.⁵⁹ Yapılan başka bir çalışmada MMP-3 5A alleli ile kararlı anjina arasında ilişki bulunmuştur.⁶⁰

Terashima ve ark.(1999) yaptığı çalışmada MMP-3 promoter bölgesinde 5A/6A polimorfizmi ile AMİ arasında istatistiksel açıdan belirgin ilişkili olduğu ve diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak yeni patolojik risk faktörü olması gerektiğini belirtmişler.⁵³ Nanni ve ark.(2007) İtalyan toplumunda MMP-3 5A/6A ve MMP-9 C/T polimorfizmini taşıma oranının hasta ve kontrol grubu arasında bir farklılık göstermediğini bu yüzden de erken koroner arter hastalığı açısından bu polimorfizmlerin ana belirteç olamayacağını belirtmişlerdir. Yine bu araştırmacılar bu polimorfizmler ile plazma MMP-3 düzeyleri arasında bir ilişki bulamamışlardır.⁶¹ Bu çalışmanın tersine diğer bir çalışmada MMP-3 6A/6A genotipi belirgin darlığı olan koroner arter sayısının çokluğu ile ilgili bulunmuşken MMP-3 5A/6A ve 5A/5A genotipi AMİ ile ilişkili bulunmuştur. Yine bu çalışmada bütün polimorfizmler arasında en fazla AMİ ile ilişkili olan 5A/6A polimorfizmi olarak saptanmıştır.⁵⁸

Wang ve ark.(2011) yayınlanan çalışmaları derleyerek yaptıkları meta analizinde MMP-3 5A/6A ve MMP-9 -1562 C/T polimorfizmlerinin AMİ'ye duyarlılık için risk etmenleri olduğu ancak etnik farklılığa göre bu ilişkinin değişebileceği belirtilmektedir.⁶²

Ghaderian ve ark.(2010) MMP-3 5A/5A genotipini ve 5A allel dağılımını AMİ hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek oranda bulmuşlar ve MMP-3 5A allelinin AMİ gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olabileceğini ancak aynı durumun MMP-9 mutasyonu için söz konusu olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada plazma MMP-3 düzeyi 5A alleli taşıyanlarda 6A taşıyanlara göre belirgin derecede farklı bulunmuştur.⁶³

Bu çalışmaya benzer olarak Japon toplumundaki AMİ hastalarında kontrol grubuna göre MMP-3 5A/6A + 5A/5A genotipinin görülme sıklığının belirgin biçimde yüksek olduğu ve 5A/6A polimorfizminin AMİ için yeni patogenetik risk faktörü olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir.⁵³

Diğer MMP-3 polimorfizmleri (-1986 T/C,-1612 5A/6A, -1346 A/C, -709 A/C, -376 G/C ve +802 A/G genotipi) ile KAH arasındaki ilişkiyi araştıran ve 1240 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada bu genotipler ile KAH arasında bir ilişki saptanmamıştır yalnızca MMP-3 5A/6A genotipi ile KAH arasındaki ilişkinin belirgin olduğu belirtilmiştir.⁵⁸

Hint toplumunda yapılan bir çalışmada MMP-3 5A/6A genotipi açısından kontrol grubu ile kararlı, karasız anjina ve AMİ grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadığı ancak AMİ grubunda serum MMP-3 düzeylerinin 6A/6A genotipinde belirgin bir biçimde yüksek olduğu belirtilmiştir.⁶⁴ Sayı olarak geniş başka bir toplum çalışmasında MMP-3 5A/6A ile miyokard infarktüsü arasında güçlü ilişki bulunmuş ve miyokard infarktüsünü öngörme açısından değerli olabileceği öne sürülmüştür.³

Humphries ve ark.(2002) MMP-3 6A/6A genotipinin anjiyoplasti sonrası yeniden tıkanma açısından genetik yatkınlık oluşturduğunu belirtmiştir.⁶⁵ Benzer olarak başka bir çalışma da MMP-3 promotör polimorfizmi ile aterosklerozun ilerlemesi arasında bir ilişki olduğu belirtilmiş olup özellikle 6A/6A olanlarda 5A/5A

olanlara göre hem aterosklerozun hızlı ilerlemesi hem de yeni lezyonların oluşması açısından riskin belirgin olduğu bildirilmiştir.⁶⁶

Kim J S ve ark.(2002) stabil anjina da MMP-3 promotör geninde 6A/6A, 5A/6A, 5A/5A genotiplerin görülme sıklığını sırasıyla %76.2, %22.6, %1.2 olarak , MMP-9 promotör geninde CC, CT, TT genotiplerinin görülme sıklığını ise sırasıyla %14.1, %44, %41.9 olarak bulmuşlar. Yine bu çalışmada Stabil anjina ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 6A homozigotların kontrol grubunda yüksekken, 5A/6A heterozigotların stabil anjina grubunda daha yüksek olduğu , MMP-9 polimorfizminin ise gruplar arasında belirgin fark içermediği belirtilmiştir.⁶⁰

MMP-3 ile ilgili olarak yapılan birçok polimorfizm çalışmasında^{3,53,58,62,69} 5A/6A genotipi ile AMİ arasında anlamlı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmalardan ayrı olarak bizim çalışmamızda MMP-3 5A/6A genotipi ile AMİ arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı gibi kontrol grubunda 5A/5A ve 5A/6A genotipleri anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur. Bu yönü ile çalışmamız Shah⁶⁴ (2010) ve Nanni⁶¹ (2007) gibi araştırmacıların MMP-3 5A/6A genotipi ile AMİ arasında anlamlı bir ilişki yoktur savını destekler niteliktedir.

Bazı çalışmalar 6A allelinin KAH ile ilişkisiz olduğunu ileri sürmektedir. Örneğin kore toplumunda 5A alleli ile stabil anjina arasında ilişki tespit edilmişken⁶⁰ yüksek aktiviteli 5A alleleline sahip genç Çinlilerde⁶⁷ ve Japonlarda⁶⁸ yapılan bir çalışmada 5A allelinin plak yırtılmasına neden olabileceği ve bunun da miyokard infarktüsüne neden olabileceği düşünülmektedir.

Japon toplumunda Yamada ve ark.(2002) miyokard infarktüsü ile 6A alleli ilişkili bulunmuştur.³ Benzer olarak başka bir çalışmada yüksek serum MMP-3 düzeyi olan ve 6A alleli içeren hastalarda erkeklerde daha sık olmak üzere miyokard infarktüsünün görülme sıklığını artmış olarak bulunmuştur.⁶⁹ Farklı olarak sigara içmeyen 6A/6A taşıyıcıları arasında KAH riski artarken, bu risk sigara içen 5A/5A genotipli hastalarda belirgin artmış olarak bulunmuştur. Finli erkeklerde yapılan otopsielerde kalsifiye koroner lezyonlarla 5A alleli arasında ilişki bulunmakla birlikte, miyokard infarktüsü ve komplike lezyon görülmesi ile 5A alleli arasında ilişki bulunmamıştır. Ancak bu otopsi dizilerinde MMP-3 5A/6A ve MMP-9 1652C/T

genotipi ile komplike koroner plak görölme riski arasında ilişki saptanmıştır.¹³ MMP - 3 polimorfizmi ile aortik sertleşme ilişkili bulunmuştur. Ayrıca koroner anevrizması olan hastalarda 5A alleli görölme sıklığı artmış olarak bulunmuştur.⁷⁰

White ve ark.(2007) MMP-3 6A allelinin koroner arterin yeniden yapılanmasını artırdığını ve sonuç olarak kararsız koroner sendroma yol açtıklarını bildirmişlerdir.³⁸

Liu ve ark.(2005) Tayvan toplumunda MMP-3 5A polimorfizminin oranının AMİ hastalarında yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 5 A alleli görülenlerde plazma MMP-3 düzeyi yüksek bulunmuştur.⁶⁷

Yamada ve ark.(2002) MMP-3 polimorfizmi 6A allelini kadınlarda AMİ açısından risk etkeni olarak bulmuşlardır.³ Başka bir çalışmada ise MMP-3 5A/6A ve TIMP-4 polimorfizminin bulunması koroner plağın ilerlemesini etkilediği belirtilmiştir.⁷¹ Bunlardan farklı olarak MMP-3 5A alleli ve 5A/5A genotipi koroner ateroskleroz ile ilişkili bulunmuştur. Ancak bu çalışmada MMP-9 polimorfizmi ile KAH arasında ilişki saptanmamıştır.⁷²

Yamada ve white gibi araştırmacıların alleller ile ilgili çalışmalarının sonuçları ile bizim çalışmamızın sonuçları benzeşiyordu. Bizim çalışmamızda MMP-3 5A alleli kontrol grubunun %67.2'inde belirlenirken, hasta grubunun %53.9'unda belirlendi. MMP-3 6A alleli ise kontrol grubunun %32.8'inde belirlenirken, hasta grubunun %46.1'inde belirlendi. Sonuç olarak ise MMP-3 açısından 5A ve 6A allellerinin dağılımı incelendiğinde kontrol grubu ile hasta grubu arasındaki fark anlamlı olarak belirlendi.(p=0.013) Akut miyokard infarktüsünde, 6A alleli taşıyanların 5A alleli taşıyanlara göre 1.755 kat daha fazla olduğu tespit edildi. OR = 1.755 (%95 GA = 1.144 – 2.691), p=0.010.

MMP-3 serum düzeyleri ile ilgili olan çalışmalarda yine birbirinden farklı bulgular bulunmaktadır. Wu ve ark.(2005) yaptıkları çalışmada Koroner arter hastalarında tüm MMP serum düzeylerinin arttığı ancak bir tek MMP-3 düzeyinin gelecekteki kardiyovasküler olaylar için bağımsız prognostik belirteç olma özelliği

olduğunu bildirmişlerdir. Gen yazılımının azalması ile ilintili homozigot 6A alleli taşıyıcılığının, arter duvarında düşük MMP-3 düzeyine neden olacağını ve bu proteolitik etkinliğin düşük olmasının aterosklerotik bölgelerde ekstraselüler matriksin birikmesini sağlayacağını bildirmişlerdir.⁷³ Ye ve ark.(1995), Humphries ve ark.(2002) anjiyografik olarak saptanmış aterosklerotik lezyonların MMP-3 6A/6A genotipi taşıyanlarda ve ilişkili olarak düşük MMP-3 düzeyi olanlarda hızlı bir ilerleyiş gösterdiğini saptayarak bu kuramı desteklediler.^{57,65} Bunun tersine Terashima ve ark.(1999) MMP-3 5A allelinin yüksek arter içi MMP-3 düzeyleri ile ilişkili olup plak kararsızlığına neden olduğunu belirtmişlerdir.⁵³

Yine bir çalışmada AMİ hastalarının serum MMP-3 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve MMP-3 5A/6A genotipi ile serum MMP-3 düzeylerinin arasında güçlü bir ilişki bulunduğu bunun da AMİ'nin nedeni olabileceği bildirilmiştir.⁶⁹

Liu (2005), Wu(2005) ve Shah(2010) MMP- 3 düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.^{67,73,64} Liu ve ark.(2005) bu yüksekliğin MMP-3 5A alleli ile ilişkili olduğunu,⁶⁷ Shah(2010) ise 6A/6A genotipi ile ilişkili olduğunu belirtmiştir.⁶⁴ Bu iki çalışmadan farklı olarak ve Samnegard'ın⁶⁹ (2005) çalışması ile benzer biçimde bizim çalışmamızda MMP-3 5A/5A, 6A/6A, 5A/6A genotiplerinin herbirinde MMP-3 düzeyleri AMİ grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmakla birlikte yalnızca 5A/5A ve 5A/6A genotipine sahip hastalarda MMP-3 düzeyinin düşüklüğü anlamlı bulundu(p=0,001).

MMP-9 ile ilgili Nanni ve ark. (2007) çalışmasından farklı olarak Koh ve ark.(2008) çalışmasında MMP-9 1562C/T polimorfizmi AMİ grubunda kontrol grubuna göre yüksek oranda belirlenmiştir ve AMİ hastalığına yakalanmayı öngörme açısından önemli bir etken olarak sunulmuştur. Ayrıca MMP-9 polimorfizmi bulunanlarda kontrol grubuna göre serum MMP-9 düzeyi yüksek bulunmuştur.^{61,74} Bu iki çalışmadan farklı olarak Lamblin ve ark. (2002) ve Dalepiane ve ark. (2007) MMP-9 1562 C/T polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasında anlamlı bir ilişki olmadığını belirtmişlerdir.^{72,56}

Başka bir çalışmada MMP-2 ve MMP-9 'un yüksek düzeyleri AMİ ile ilişkili bulunurken , MMP-1, MMP-2 ,MMP-3, MMP-9 ve MMP-10 polimorfizmleri ile AMİ arasında bir ilişki bulunmamıştır.⁷⁵

Zhang ve ark.(1999) MMP-9'un promotor bölgesinde işlevsel bir 1562C/T polimorfizmi saptamışlardır. Bu T allelinin etkinliğinin yüksek olup, koroner arter aterosklerozunun şiddeti ile ilişkili olduğu halde myokard infarktüsü ile ilişkisinin bulunmadığı saptanmıştır.⁷⁶ Ayrıca T alleli komplike koroner lezyonlarla ilişkili olup bu alleli taşıyanların yüksek MMP-9 mRNA düzeyi ile birlikte arterlerinin daha sert olduğu belirtilmiştir.⁷⁰ Ancak meta analiz çalışmaları ise T alleli ile KAH arasında ilişki olmadığını ortaya koymuştur.⁷⁷

Bizim çalışmamızda MMP-9 polimorfizmindeki allel dağılımı ile AMİ arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0,5).

Zhang ve ark.(1999) çalışmasından farklı olarak Kim ve ark.(2005) Kore toplumunda yaptıkları çalışmada MMP-9 geninin promotor bölgesinin polimorfizmi ile AMİ arasında güçlü bir ilişki olduğunu ve bilinen risk etmenlerinden bağımsız olduğunu ortaya koymuşlardır.^{76,78} Başka bir araştırmada MMP-9 C 1562T/R279Q polimorfizminin ancak birlikte olduğunda kalp damar hastalıkları mortalitesini artırdığını, MMP-9 plazma düzeyi artışının kalp-damar hastalıkları mortalitesi için yeni bir risk faktörü olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu çalışmada yalnızca MMP-9 C1562T polimorfizminin MMP-9 düzeyini etkilediğini ortaya koymuşlardır.¹⁶ Benzer olarak başka bir çalışmada MMP-9 ve MMP-3 polimorfizmi birlikteliğinde tek MMP gen mutasyonlarına göre ateroskleroz şiddetinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹³

Bizim çalışmamızda ise hasta grubunda MMP-3 ve MMP-9 polimorfizmlerinin birlikteliği ile akut miyokard infarktüsüne yatkınlık açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Horne ve ark.(2007) yaptıkları çalışmada MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9,TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 enzimlerini kodlayan genlerdeki tek gen polimorfizmleri ile AMİ arasındaki ilişkiyi araştırmışlar. Yalnızca birleşik MMP-9 genotipleri ile AMİ

arasında ilişki olduğunu, MMP-2 ve MMP-3'ün ise koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.⁵⁵

Bir başka çalışmada beyazlarda MMP-9 polimorfizmi genotip dağılımı CC(%77.1),CT(%21.4), TT(1.5) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte MMP-9 polimorfizmi ile ne koroner aterosklerozun varlığı ne de aterosklerozun şiddeti arasında bir ilişki bulunmuştur.⁷⁹

MMP-9 C 1562 T polimorfizmi açısından yukarıdaki araştırmacıların bulgularının tersine Nanni ve ark.⁶¹ (2007) koroner arter hastalığı ile, Kim ve ark.(2002) ise akut koroner sendrom ile MMP-9 polimorfizminin ilişkili olmadığını belirtmişlerdir.^{61,60} Bizim çalışmamız da bu çalışmalara benzer olarak MMP-9 mutasyonu için hasta grubunda CC genotip oranı %45.6, kontrol grubunda % 47.8 olarak belirlendi. TT genotip oranları hasta grubunda %14.4 , kontrol grubunda % 8.9 olarak belirlendi. CT genotip oranları hasta grubunda %40, kontrol grubunda %43.3 olarak belirlenmiştir. Ancak gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı(p=0.507).

Damar sertliği kalp damar hastalıklarının bağımsız belirleyicisidir. Elastin de damar duvarının esnekliğinin ana yapıtaşı olup MMP-9 gibi bazı enzimlerce parçalandığından, elastaz etkinliği damar sertliği ile yakından ilişkilidir. Aort damar sertliği bulunan hastalarda MMP- 9 düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin yüksek bulunmuştur. Bu da MMP-9'un damar sertliğinin oluşum sürecine katıldığı savını desteklemektedir.⁸⁰

Ferroni ve ark.(2003), Fiotti ve ark.(2008) çalışmalarında koroner arter hastalığı olan hastalarda MMP-9 düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır.^{81,82} Aynı çalışmada hem hasta hemde kontrol grubunda MMP-9 ile CRP, IL-6 ve fibrinojen arasında doğrudan bir ilişki saptamamışlardır.⁸¹ Bir başka çalışmada MMP-9 ekspresyonunun akut koroner sendroma yol açan plaklarda arttığı, TIMP-1 veya MMP-2 ekspresyonunun ise artmadığı belirtilmiştir.⁸²

Oysa Eckart ve ark.(2004) tarafından yapılan bir çalışmada AMİ'de MMP-9 düzeyleri düşük MMP-1 düzeylerinin yüksek olduğu ve bu düşük MMP-9 düzeyinin miyokard hasarının göstergesi olabileceği belirtilmiştir.⁸³

Ghaderian ve ark.(2010) MMP-9 ile ilgili çalışmalarında plazma MMP-9 düzeylerinin, ilgili gen polimorfizmleri ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Plazma MMP-9 düzeyleri -1562C/T varyantının TT ve CT genotiplerinde CC genotipine göre belirgin yüksek olduğunu eklemiştirler.⁶³

Kai ve ark. akut koroner sendromda serum MMP-9 düzeyindeki seri değişikliklerin koroner aterosklerotik bozukluklarda plak destabilizasyonu ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.⁴⁹ Benzer olarak AMİ hastalarının koroner dolaşımında MMP-9 düzeyleri belirgin yüksek bulunmuştur.^{84,85}

Welsh ve ark.(2008) ise MMP-9 düzeyinin koroner arter hastalığı için yararlı bir belirteç olamayacağını belirtmişlerdir.⁸⁶ Bu çalışmaya zıt olarak başka bir çalışmada AMİ hastalarında koroner dolaşımdan genel dolaşıma salınan MMP-9 düzeyi belirgin derecede yüksek bulunmuştur.⁸⁷ Plazma MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri AMİ sonrası sol ventrikül yeniden yapılandırılmasının büyüklüğü ve sonuç olarak komplikasyonlar ile ilgili olabileceği Kelly ve ark.(2008) tarafından bildirilmiştir.⁸⁸

Alvarez ve ark.(2004) artmış MMP-9 düzeyi ile karotid arteri plak kararsızlığı arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişler. MMP-9 düzeyinin yüksek belirlenmesinin karotid arter darlığı olanlarda yüksek riskli hastalığı gösterebileceği belirtilmiştir.⁸⁹

Bizim çalışmamızda ise Higo⁸⁷ (2005), Kelly⁸⁸ (2008), Yasmin⁸⁰ (2005), Ghaderian ve ark.⁶³ (2010) çalışmasına benzer olarak MMP-9 -C1562T mutasyonunda CC ve CT genotipine sahip hastalarda MMP-9 düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (p=0.001) . Bu bilgilere dayanarak MMP-9 düzeyinin yüksekliği akut miyokard infarktüsü için neden olabileceği düşünüldü.

Bir çok çalışma koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü ile MMP polimorfizmi arasındaki ilişkiyi bulmayı amaçlamıştır ancak sonuçlar çelişkili olup ortak bir görüş ortaya konamamıştır. Bunun nedenleri arasında toplum çalışmalarına katılan hasta sayısının kısıtlı olması, polimorfizmlerin toplumdan topluma değişiklikler göstermesi, çevresel etkenlerin farklı olması sayılabilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda;

- AMİ geçiren hastaların yaşları kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.
- Erkeklerde AMİ geçirme riski kadınlara göre 4.496 kat yüksek bulundu.
- Hastalarda serum glukoz ve CRP düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı.
- HDL kolesterol düzeyleri kontrol grubunda hasta grubuna göre daha yüksek olarak bulundu.
- LDL kolesterol düzeyleri ise hasta grubunda daha düşük belirlendi.
- Serum MMP-3 düzeyleri, 5A/6A genotipine sahip hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük saptandı.
- MMP-9 mutasyonunda CC ve CT genotipine sahip hastalarda MMP-9 düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.
- MMP-3 5A/5A genotip dağılımı kontrol grubunda hasta grubuna göre daha yüksek saptandı.
- AMİ, MMP-3 6A/6A genotipi taşıyanlarda 3.656 kat daha yüksek belirlendi.
- MMP-9 C1562T mutasyonu ile AMİ arasında ilişki saptanmadı.
- MMP-3 6A alleli AMİ hastalarında anlamlı biçimde yüksek, 5A alleli ise kontrol grubunda anlamlı biçimde yüksek tespit edildi.
- MMP-9 allel dağılımları ile AMİ arasında bir ilişki saptanmadı.

Çalışmamız MMP-3 ve MMP-9 polimorfizmi ve AMİ arasındaki ilişkiyi koyması açısından bir ilk çalışmadır ve Türk toplumunda AMİ ile ilişkili olarak MMP-3 6A/6A genotipi ilişkili bulundu. Sağlıklı Türk toplumunda MMP-3 ve MMP-9 polimorfizm dağılımını ortaya koyması bakımından da bir ilk çalışma olup MMP-3 polimorfizmi içinde 5A/6A(%47.8), MMP-9 için ise CC(%47.8) genotipi en sık görülen genotip olarak belirlendi. MMP-3 ve MMP-9 mutasyonu ile ilgili örnek sayıları artırılarak daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Tedgui A And Mallat Z. Cytokines In Atherosclerosis: Pathogenic And Regulatory Pathways. *Phsyiol Rev* 2006;86,515-581
2. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71
3. Yamada Y, Izawa H , Ichihara S Et Al. Prediction Of The Risk Of Myocardial Infarction From Polymorphism in Candidate Genes. *N Engl J Med*, 2002; 347: 24: 1916-1923
4. Spinale FG, Coker ML, Heung LI, Bond BR, Gunasinghe HR, Etoh TA. Matrix Metalloproteinase Induction/Activation System Exist in The Human Left Ventricular Myocardium And is Upregulated in Heart Failure. *Circulation* 2000; 102: 1944-1949
5. Loftus IM, Thompson MM. The Role Of Matrix Metalloproteinases in Vascular Disease. *Vasc Med* 2002;7:117-33
6. Jones CB, Sane CD, Herrington DM. Matrix Metalloproteinases: A Review Of Their Structure And Role in Acute Coronary Syndrome. *Cardiovascular Research* 2003; 59: 812-823
7. Zaltsman AB, Newby AC. Increased Secretion Of Gelatinases A And B From The Aortas Of Cholesterol Fed Rabbits:Relationship to Lesion Severity. *Atherosclerosis* 1997;130:61-70
8. Ross R. Atherosclerosis – An İnflammatory Disease. *The New England Journal Of Medicine* 1999;340:2;115-126
9. Reel B. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri Ve Ateroskleroz: Derleme . *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006;26:527-537
10. Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix Metalloproteinases And Myocardial infarction: Review. *Can J Cardiol* 2007;23:9;727-733

11. Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF. Matrix Metalloproteinase Inhibition After Myocardial Infarction: A New Approach To Prevent Heart Failure? *Circ. Res.* 2001;89;3: 201-10
12. Johnson J L, George S J, Newby A C, Jackson C L. Divergent Effects Of Matrix Metalloproteinases 3, 7, 9, and 12 on Atherosclerotic Plaque Stability In Mouse Brachiocephalic Arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:15575–80
13. Pöllänen PJ, Lehtimäki T, Mikkelsson J. Matrix Metalloproteinase 3 And 9 Gene Promoter Polymorphisms: Joint Action Of Two Loci As A Risk Factor For Coronary Artery Complicated Plaques. *Atherosclerosis* 2005;180: 73-78
14. Ye S. Influence Of Matrix Metalloproteinase Genotype On Cardiovascular Disease Susceptibility And Outcome. *Cardiovascular Research* 2006;69:636-645
15. Kim PJ, Chang K , Koh YS. Functional Polymorphism In The Promoter Region Of Matrix Metalloproteinase-9 Is Strongly Associated With Acute Myocardial Infarction. *Korean Circulation J* 2005;35:192-196
16. Blankenberg S, Rupprecht H J, Poirier O. Plasma Concentrations And Genetic Variation Of Matrix Metalloproteinase 9 And Prognosis Of Patients With Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2003;107:1579-1585
17. Mizuno H, Sato H, Sakata Y. Impact Of Atherosclerosis Related Gene Polymorphisms On Mortality And Recurrent Events After Myocardial Infarction. *Atherosclerosis* 2006; 185: 400-405
18. Alberts B, Johnson A, Lewis J. *Molecular Biology Of The Cell*. 4th Edition. New York: Garland Science;2002
19. Onat T, Emerk K, Sözmén EY. *İnsan Biyokimyası*. Palme Yayıncılık 2006 İkinci Baskı 616-624

20. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Molecular Cell Biology.4.Ed New York:W.H Freeman And Company;1999.P968-93
21. Buduneli N. Diş Etinin Ekstrasellüler Matriksi: Derleme EÜ Diş Hek Fak Derg 2001; 22: 1-12
22. Robert P. Mecham Editor The Extracellular Matrix: An Overview Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011
23. Pelouch V, Dixon IM, Goldman L, Beamish RE, Dhalla NS. Role Of Matrix Metalloproteinase in Hearth Function. Biochem 1993;129:2; 101-20
24. Tüzün Y, Güler MA, Oğuz O, Aksungur VL. Dermatoloji Cilt 1 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri,İstanbul 2008
25. Nagase H, Woessner JF. Minireview: Matrix Metalloproteinases. The Journal Of Biological Chemistry. 1999;274; 31: 21492-21494
26. Nagase H. Activation Mechanisms Of Matrix Metalloproteinases. Biol Chem 1997; 378: 151-160
27. Kuzuya M, Iguchi A. Role Of Matrix Metalloproteinases In Vascular Remodeling. J Atheroscler Thromb 2003 ;10: 275-82
28. Nagase H , Visse R , Murphy G. Structure And Function Of Matrix Metalloproteinases And Timps. Cardiovascular Research 2006; 69: 562 – 573
29. Visse R , Nagase H. Matrix Metalloproteinases And Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases. Structure, Function And Biochemistry. Circ.Res. 2003; 92: 827-839
30. Muphy G, Willenbrock F, Crabbe T. Regulation Of Matrix Metalloproteinases Activity. Ann Ny . Acad Sci 1994;732:31-41
31. Ikeda U, Shimada K. Matrix Metalloproteinases And Coronary Artery Diseases. Clin Cardiol 2003; 26: 55–59

32. Spinale FG. Myocardial Matrix Remodeling And The Matrix Metalloproteinases: Influence On Cardiac Form And Function. *Physiol Rev* 2007; 87:1285–1342
33. Dollery CM, Me JR, Am H. MMP And Cardiovascular Disease *Circ Res* 1995;77:863-8
34. Rosano L, Salani D, Castro V. Endothelin-1 Promotes Proteolytic Activity Of Ovarian Carcinoma. *Clin Sci* 2002;103; 48:306-9
35. Baraunwald Kalp Hastalıkları. Çeviri Editörü Dr Emre Aslanger, Dr.İtir Şirinoğlu. Cilt 1 Nobel Kitapevi (Textbook of cardiovascular Medicine) 2008
36. Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı Üçüncü Baskı 2010 Çeviri Editörü: Doç.Dr. Enver Atalar Güneş Tıp Kitabevleri(Manual Of Cardiovascular Medicine. Lippincott Williams&Wilkins. Brianp,Griffin,Eric J Topol
37. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL. National Academy Of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical Characteristics And Utilization Of Biochemical Markers İn Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2007;115:E356-E375
38. White AJ, Duffy SJ, Walton AS. Matrix Metalloproteinase-3 And Coronary Remodelling: Implications For Unstable Coronary Disease. *Cardiovascular Research* 2007;75: 813 – 820
39. Hansson GK. İnflammation, Artherosclerosis And Coronary Artery Disease. *N Engl Med* 2005;352:1685-95
40. Mckay RG, Pfeffer MA, Pasternak RC. Left Ventricular Remodelling After Myocardial İnfarction:A Corollary To İnfarct Expansion. *Circulation* 1986;74:693-702
41. Boydak B. Akut Miyokard İnfarktüsü Ve Anstabil Angina Pektoris. *Sted* 2001: 10 ;10; 378-381
42. Gök H. Akut Miyokard İnfarktüsü. *Klinik Kardiyoloji İkinci Baskı,İstanbul:273-321; 2002*

43. White HD, Norris RM, Brown MA. Left Ventricular End-Systolic Volume As The Major Determinant Of Survival After Recovery From Myocardial Infarction. *Circulation* 1987;76:44-51
44. Kardiyovasküler Hastalıklar El Kitabı Üçüncü Baskı 2010 Çeviri Editörü:Doç.Dr.Enver Atalar Güneş Tıp Kitabevleri(Manual Of Cardiovascular Medicine. Lippincott Williams & Wilkins. Brianp, Griffin, Eric J Topol
45. Devlin TM. Textbook Of Biochemistry With Clinical Correlation.Fifth Edition.Wiley Liss 2002
46. Tokgözoğlu L, Oram E, Aytemir K, Oral H. Akut Miyokard İnfarktüsü Tanısında Troponin T. *Türk Kardiol Dern Arş* 1994;22:12-15
47. Galis ZS And Khatri JJ. Matrix Metalloproteinases In Vascular Remodeling And Atherogenesis : The Good, The Bad, And The Ugly. *Circulation Research* 2002, 90:251-262
48. Newby AC Dual Role Of Matrix Metalloproteinases (Matrixins) In İntimal Thickening And Atherosclerotic Plaque Rupture. *Physiol Rev* 2005;85;1:1-31
49. Kai H, İkeda H, Yasukawa H, Kai M. Peripheral Blood Levels Of Matrix Metalloproteases-2 And -9 Are Elevated In Patients With Acute Coronary Syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:368 –72
50. Hojo Y, Ikeda U, Ueno S, Arakawa H, Shimada K. Expression Of Matrix Metalloproteinases In Patients With Acute Myocardial Infarction. *Jpn Circ J* 2001; 65: 71 –75
51. Apple FS, Wu AH, Mair J. Committee On Standardization Of Markers Of Cardiac Damage Of The IFCC: Future Biomarkers For Detection Of İschemia And Risk Stratification In Acute Coronary Syndrome. *Clin Chem*; 2005;51;5:810-24
52. Warnick GR, Knop RH, Fitzpatrick V, Branson L. Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the friedewald equation is adequate

- for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clin Chem*,1990;36:15-19
53. Terashima M, Akita H, Kanazawa K. Stromelysin Promoter 5A/6A Polymorphism Is Associated With Acute Myocardial Infarction. *Circulation* 1999;99:2717-2719
54. Seifi M , Fallah S And Firoozrai M. Influence Of Genetic Polymorphism In Matrix Metalloproteinase-3 On Extent Of Coronary Atherosclerosis And Risk Of Coronary Artery Stenosis. *Archives Of Medical Research* 2009; 40:600-604
55. Horne BD, Camp NJ, Carlquist JF. Multiple-Polymorphism Associations Of 7 Matrix Metalloproteinase And Tissue Inhibitor Metalloproteinase Genes With Myocardial Infarction And Angiographic Coronary Artery Disease. *Am Heart J* 2007;154:751-8
56. Dalepiane VLN, Silvello DN, Paludo CA, Roisenberg I, Simon D. Matrix Metalloproteinase Gene Polymorphisms In Patients With Coronary Artery Disease. *Genetics And Molecular Biology*, 2007;30; 3: 505-510
57. Ye S, Watts GF, Mandalia S, Humphries SE, Henney AM. Preliminary Report: Genetic Variation In The Human Stromelysin Promoter Is Associated With Progression Of Coronary Atherosclerosis. *Br Heart J* 1995;73:209–15
58. Beyzade S, Zhang S, Wong Y. Influences Of Matrix Metalloproteinase-3 Gene Variation On Extent Of Coronary Atherosclerosis And Risk Of Myocardial Infarction *J Am Coll Cardiol* 2003;41:2130–7
59. Hirashiki A, Yamada Y, Murase Y. Association Of Gene Polymorphisms With Coronary Artery Disease In Low- Or High-Risk Subjects Defined By Conventional Risk Factors. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1429–37

60. Kim JS, Park HY, Kwon JH . The Roles Of Stromelysin-1 And The Gelatinase B Gene Polymorphism In Stable Angina. *Yonsei Medical Journal* 2002 ;43:4:473-481
61. Nanni S, Melandri G, Hanemaaijer R. Matrix Metalloproteinases In Premature Coronary Atherosclerosis: Influence Of Inhibitors, Inflammation, And Genetic Polymorphisms. *Translational Research* 2007;149:137–144
62. Wang J, Xu D, Wu X . Polymorphisms Of Matrix Metalloproteinases In Myocardial Infarction: A Meta-Analysis .*Heart* 2011;97:1542-546
63. Ghaderian SM, Najar RA, Panah AS. Genetic Polymorphisms And Plasma Levels Of Matrix Metalloproteinases And Their Relationships With Developing Acute Myocardial Infarction. *Coronary Artery Disease* 2010, 21:330–335
64. Shah VK , Mashru MR , Soneji SL. Matrix Metalloproteinase-3 (Mmp-3) -1612 5A/6A Promoter Polymorphism In Coronary Artery Disease In Indian Population. *Indian Journal Of Clinical Biochemistry*, 2010 ; 25;2:133-140
65. Humphries S, Meirhaeghe CBA, Luong L, Bertrand M, Amouyel P. The 5A6A Polymorphism In The Promoter Of The Stromelysin-1 (MMP3) Gene As A Risk Factor For Restenosis .*European Heart Journal* 2002;23:721–725
66. De Maat PM, Jukema JW, Ye S. Effect Of The Stromelysin-1 Promoter On Efficacy Of Pravastatin In Coronary Atherosclerosis And Restenosis. *Am J Cardiol* 1999;83:852–856
67. Liu PY, Li YH, Tsai WC. Stromelysin-1 Promoter 5A/6A Polymorphism Is An Independent Genetic Prognostic Risk Factor And Interacts With Smoking Cessation After Index Premature Myocardial Infarction. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1998–2005

68. Nojiri T, Morita H, Imai Y. Genetic Variations Of Matrix Metalloproteinase-1 And -3 Promoter Regions And Their associations With Susceptibility To Myocardial Infarction In Japanese. *Int J Cardiol* 2003;92:181–6
69. Samnegard A, Silveira A, Lundman P. Serum Matrix Metalloproteinase-3 Concentration Is Influenced By MMP-3 1612 5A/6A Promoter Genotype And Associated With Myocardial Infarction. *Journal Of Internal Medicine* 2005; 258: 411–419
70. Medley TL, Cole TJ, Dart AM. Matrix Metalloproteinase-9 Genotype Influences Large Artery Stiffness Through Effects On Aortic Gene And Protein Expression *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1479-1484
71. Chen QJ, Lu L, Peng WH. Polymorphisms Of MMP-3 And TIMP-4 Genes Affect Angiographic Coronary Plaque Progression In Non-Diabetic And Type 2 Diabetic Patients. *Clinica Chimica Acta* 405 (2009) 97–103
72. Lamblin N, Bauters C, Hermant X. Polymorphisms In The Promoter Regions Of MMP-2, MMP-3, MMP-9 And MMP-12 Genes As Determinants Of Aneurysmal Coronary Artery Disease . *JACC.*2002;40;1:43-48
73. Wu TC, Leu HB, Lin WT. Plasma Matrix Metalloproteinase-3 Level Is An Independent Prognostic Factor In Stable Coronary Artery Disease *European Journal Of Clinical Investigation* 2005;35: 537–545
74. Koh YS, Chang K, Kim PJ. A Close Relationship Between Functional Polymorphism In The Promoter Region Of Matrix Metalloproteinase-9 And Acute Myocardial Infarction. *International Journal Of Cardiology* 2008;127:430-432
75. Hlatky M A, Ashley E, Quertermous T. Matrix Metalloproteinase Circulating Levels, Genetic Polymorphisms, And Susceptibility To

- Acute Myocardial Infarction Among Patients With Coronary Artery Disease. *Am Heart J* 2007;154:1043-51
76. Zhang B, Ye S, Herrmann S M. Functional Polymorphism In The Regulatory Region Of Gelatinase B Gene In Relation To Severity Of Coronary Atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1788–94
77. Abilleira S, Bevan S, Markus HS. The Role Of Genetic Variants Of Matrix Metalloproteinases In Coronary And Carotid Atherosclerosis. *J Med Genet* 2006;43:897–901
78. Kim PJ, Chang K , Koh YS. Functional Polymorphism In The Promoter Region Of Matrix Metalloproteinase-9 Is Strongly Associated With Acute Myocardial Infarction. *Korean Circulation J* 2005;35:192-196
79. Wang J , Warzecha D , Wilcken D. Polymorphism In The Gelatinase B Gene And The Severity Of Coronary Arterial Stenosis. *Clinical Science* 2001; 101:87–92
80. Yasmin, Wallace S, Mceniery C M. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, And Serum Elastase Activity Are Associated With Systolic Hypertension And Arterial Stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:372-378
81. Ferroni P, Basili S, Martini F. Serum Metalloproteinase 9 Levels In Patients With Coronary Artery Disease: A Novel Marker Of Inflammation. *J Investig Med* 2003;51;5:295-300
82. Fiotti N, Altamura N , Orlando C. Metalloproteinases-2, -9 And TIMP-1 Expression In Stable And Unstable Coronary Plaques Undergoing PCI. *International Journal Of Cardiology* 2008;127:350–357
83. Eckart RE, Uyehara CFT, Shry EA. Matrix Metalloproteinases In Patients With Myocardial Infarction And Percutaneous Revascularization. *J Interven Cardiol* 2004;17:27–31

84. Inokubo Y, Hamada H. Plasma Levels Of MMP-9 And TIMP-1 Are Increased In The Coronary Circulation In Patients With Acute Coronary Syndrome. *Am Heart J* 2001;141:211-217
85. Kameda K, Matsunaga T, Abe N. Increased Pericardial Fluid Level Of Matrix Metalloproteinase-9 Activity In Patients With Acute Myocardial Infarction Possible Role In The Development Of Cardiac Rupture. *Circ J* 2006; 70: 673 –678 (83)
86. Welsh P, Whincup PH, Papacosta O. Serum Matrix Metalloproteinase-9 And Coronary Heart Disease: A Prospective Study In Middle-Aged Men. *QJ Med* 2008;101:785-791
87. Higo S, Uematsu M, Yamagishi M. Elevation Of Plasma Matrix Metalloproteinase-9 In The Culprit Coronary Artery In Patients With Acute Myocardial Infarction. *Circ J* 2005; 69:1180-1185
88. Kelly D, Khan S Q, Thompson M. Plasma Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase-1 And Matrix Metalloproteinase-9: Novel Indicators Of Left Ventricular Remodelling And Prognosis After Acute Myocardial Infarction. *Eur Heart J.* 2008;29;17:2116–2124
89. Alvarez B, Ruiz C, Chacón P. Serum Values Of Metalloproteinase-2 And Metalloproteinase-9 As Related To Unstable Plaque And Inflammatory Cells In Patients With Greater Than 70% Carotid Artery Stenosis. *J Vasc Surg* 2004;40:469-75

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- AMİ:** Akut Miyokard İnfarktüsü
MMP: Matriks Metalloproteinaz
TNF- : Tümör Nekrozis Faktör
IL: İnterlökin
PDGF: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü
ESM: Ekstraselüler Matriks
TIMP: Tissue İnhibitor Metalloproteinase
VSMC: Vasküler Düz Kas Hücreleri
TGF: Transforming Büyüme Faktörü
EGF:Epidermal Büyüme Faktörü
PGE2: Prostoglandin E2
H-FABP: Kalp Tipi Yağ Asit Bağlayıcı Protein
IMA İskemi Modifiye Albümin
BNP: Beyin Natriüretik Peptidler
GPBB: Glikojen Fosforilaz İzoenzim BB
CRP: C Reaktif Protein
MPO: Miyeloperoksidaz
PAPP-A: Gebelik ile İlişkili Plazma Protein A
PZR: Polimaraz Zincir Reaksiyonu
ELIZA: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
HRP: Horse Redish Peroxidase
POD: Peroxidase
DHAP: Dihidroksi Aseton Fosfat
PEG: Polietilen Glikol
NO: Nitrik Oksit
EDTA: Etilendiamin Tetraasetikasit
GPO: Gliserol Fosfat Oksidaz
ROS:Reaktif Oksijen Türleri

uPA: Ürokinaz-tip plazminojen aktivatörü

KAH: Koroner Arter Hastalığı

COX: Siklooksijenaz

PKG: Perkutan Koroner Girişim

STEMI: ST Segment Yükseltili Miyokard İnfarktüsü

NSTEMI: ST Segment Yükseltisiz Miyokard İnfarktüsü

NE: Norepinefrin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 Kollajen süperheliksinin yapısı	11
Şekil 2 Esneme ve gevşeme durumunda elastin molekülündeki değişiklikler	14
Şekil 3 Fibronektinin yapısı	15
Şekil 4 İntegrinin yapısı	16
Şekil 5 Laminin yapısı ve bağlanma bölgeleri	17
Şekil 6 Matriks metalloproteinazların yapısı	20
Şekil 7 Matriks metalloproteinazların etkinliğinin düzenlenmesi	28
Şekil 8 Serum MMP-3 düzeylerinin saptanmasında kullanılan standartların hazırlanması	
Şekil 9 Serum MMP-9 düzeylerinin saptanmasında kullanılan standartların hazırlanması	57
Şekil10 MMP-9 C-1562T CT genotipine ait erime ısısı analiz görüntüsü	64
Şekil 11 MMP-9 C-1562T TT genotipine ait erime ısısı analiz görüntüsü	64
Şekil 12 MMP-9 C-1562T CC genotipine ait erime ısısı analiz görüntüsü	65
Şekil 13 MMP-3 5A/6A genotipine ait erime ısısı analiz görüntüsü	65
Şekil 14 MMP-3 6A/6A genotipine ait erime ısısı analiz görüntüsü	66
Şekil 15 MMP-3 5A/5A genotipine ait erime ısısı analiz görüntüsü	66
Şekil 16 Kontrol ve hasta gruplarına ait cinsiyet dağılımı	68

TABLULAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması	23
Tablo 2 DNA İzolasyonunda Kullanılan High Pure PCR Template Kit İçeriği	49
Tablo 3 MMP-3 Eliza Kit içeriği	54
Tablo 4 MMP-9 Eliza Kit içeriği	56
Tablo 5 MMP-3 5A/6A Genotiplemesi İçin Kullanılan Primer ve Prob Dizileri	60
Tablo 6 MMP-3 Polimorfizm Analizinde Kullanılan Reaktiflerin Miktarları	60
Tablo 7 MMP-3 Polimorfizm Analizi İçin PZR Koşulları	61
Tablo 8 MMP-9 C1562T Genotiplemesi İçin Kullanılan Primer ve Prob Dizileri	62
Tablo 9 MMP-9 C1562T Polimorfizm Analizinde Kullanılan Reaktiflerin Miktarları	62
Tablo 10 MMP-9 C1562T Polimorfizm Analizi İçin PZR Koşulları	63
Tablo 11 Kontrol ve Hasta Gruplarının Demografik ve Tanımlayıcı Verileri	69
Tablo 12 Kontrol ve Hasta Gruplarında Serum Glukoz, CRP ve Lipid Profil Düzeyleri	70
Tablo 13 Kontrol ve Hasta Gruplarının Serum MMP-3 ve MMP-9 Düzeyleri	71
Tablo 14 Kontrol ve Hasta Gruplarına ait MMP-3 ve MMP-9 Gen Polimorfizmlerinin Genotip Dağılımları	72
Tablo 15 MMP-3 ve MMP-9 Gen Polimorfizmlerinin Allel Sıklıklarının Dağılımları	74

EK1.SAĞLIKLI/HASTA GÖNÜLLÜ DENEKLER İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

Hekimin Açıklaması

Akut Kalp Krizi ile ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın adı “Matriks Metalloproteinaz-3 ve Matriks Metalloproteinaz-9 polimorfizmleri ile Akut Miyokard İnfarktüsü İlişkisi”dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı diliyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Araştırmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni, Akut Kalp Krizi geçiren hastalarda Matriks Metalloproteinaz-3 ve Matriks Metalloproteinaz-9 polimorfizmlerinin İlişkisini belirlemektir. Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Kardiyoloji ve Biyokimya Anabilim Dalları'nın ortak katılımı ile gerçekleştirilecek bu araştırmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Ahmet Çamsarı veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu araştırmaya alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu araştırmayı yapabilmek için kolunuzdan 10 ml (1-2 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda MMP-3 , MMP-9 polimorfizmleri ve MMP-3 ve 9'un serum düzeyleri ölçülecektir. Kan alınması sırasında iğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Az bir olasılık da olsa iğne batması sonrası kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Bu araştırmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Araştırmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Bu araştırmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine araştırmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Sağlıklı/Hasta Gönüllü Denek Beyanı

Sayın Dr. Fikret Şen tarafından Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalında tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya katılımcı (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam, hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine, bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin özenle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma ile ilgili bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda, herhangi bir saatte, Dr.Fikret Şen'i 3374300/1530 numaralı iç telefonundan veya Mersin Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı adresinden arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geöen bu araştırmada katılımcı

(denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Sağlıklı/hasta gönüllü denek

Adı, soyadı:

Adres:

Telefon numarası:

İmza:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Telefon numarası:

İmza:

Sağlıklı/hasta gönüllü denek ile görüşen hekim

Unvanı, adı, soyadı:

Adresi:

Telefon numarası:

İmza: