

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ESKİŞEHİR BÖLGESİNDE MİYOKARD İNFARKTÜSÜ
GEÇİREN HASTALARDA METİLENTETRAHİDROFOLAT
REDÜKTAZ GENİ POLİMORFİZMLERİNİN (C677T, A1298C)
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Esra DİKOĞLU

**Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2011**

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ESKİŞEHİR BÖLGESİNDE MİYOKARD İNFARKTÜSÜ
GEÇİREN HASTALARDA METİLENTETRAHİDROFOLAT
REDÜKTAZ GENİ POLİMORFİZMLERİNİN (C677T, A1298C)
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Esra DİKOĞLU

**Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. M. Hamza MÜSLÜMANOĞLU**

**ESKİŞEHİR
2011**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Esra DİKOĞLU'na ait 'Eskişehir bölgesinde miyokard infarktüsü geçiren hastalarda Metilentetrahidrofolat Redüktaz geni polimorfizmlerinin (C677T, A1298C) araştırılması' adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Sevilhan ARTAN

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye

Doç.Dr. M. Hamza MÜSLÜMANOĞLU

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye

Doç.Dr.Alparslan BİRDANE

Kardiyoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun.....Tarih ve.....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Necmi ATA

Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof.Dr. Sevilhan ARTAN'a, Doç.Dr. Muhammed Hamza MÜSLÜMANOĞLU'na, Yrd.Doç.Dr. Beyhan DURAK ARAS'a, Yrd. Doç.Dr. Muhsin ÖZDEMİR'e, Yrd.Doç.Dr. Oğuz ÇİLİNGİR'e; ayrıca tezimde bana yardımcı olan Kardiyoloji Anabilim Dalından Doç.Dr. Alparslan BİRDANE'ye ve İstatistik Anabilim Dalından Yrd.Doç.Dr. Cengiz BAL'a yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Dikoğlu, E. Eskişehir bölgesinde miyokard infarktüsü geçiren hastalarda Metilentetrahidrofolat Redüktaz geni polimorfizmlerinin (C677T, A1298C) araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011. Kardiyovasküler hastalıklar, mortalite ve morbiditenin majör nedeni olma yolunda gittikçe artan bir rol üstlenmektedir. Yapılan geniş epidemiyolojik çalışmalar sonucunda hastalığa yol açan majör risk faktörleri belirlenmiştir. Ancak toplumdaki koroner arter hastalığının nedenini açıklamada bu klasik risk faktörleri yeterli olmadığından yeni risk faktörleri tanımlanmaktadır. Son yıllarda koroner arter hastalığı ile ilişkisi tanımlanmış yüksek plazma homosistein düzeyi önemli bir risk faktörüdür. Metilentetrahidrofolat redüktaz enzimi (MTHFR) homosistein artışının en sık genetik nedenidir. Artmış homosistein düzeylerinin koroner kalp hastalıkları ile ilişkisi bilinmektedir fakat homosisteinle ilişkili gen mutasyonlarının koroner arter hastalığı ile ilişkisi henüz tam olarak netleştirilmemiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda MTHFR geni polimorfizmleri ile koroner arter hastalığı arasındaki tanımlanan sonuçlar birbiri ile çelişmektedir. Çalışmamızda, Eskişehir bölgesinde; MTHFR gen polimorfizminin miyokard infarktüsü ile ilişkisini saptamak, MTHFR polimorfizmlerinin frekansını belirlemek, miyokard infarktüsünde bu polimorfizmlerin tanı koymadaki yerini belirlemek amacıyla, bilinen majör risk faktörlerini de gözden geçirerek, hastanemizde ST elevasyonlu miyokard infarktüsü (STEMI) tanısı alan hastalarda MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerini inceledik. Çalışmaya STEMI tanısı alan 100 hasta ve 100 sağlıklı kontrol alındı. Çalışma sonucunda Eskişehir bölgesinde ST elevasyonlu miyokard infarktüsü geçiren olgularda sigara içiciliği, aile öyküsünün varlığı, hipertansiyon, hiperlipidemi ve homosistein düzeyinin yüksekliği önemli risk faktörleri olarak saptandı. MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri açısından değerlendirilen hasta ve kontrol grupları arasında bir fark izlenmedi. Bununla birlikte homosistein düzeyleri ile genotipler birlikte değerlendirildiğinde önemli farklılıklar saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni, ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsü, Metilentetrahidrofolat Redüktaz Enzimi, Homosistein.

ABSTRACT

Dikoğlu, E. Investigation on Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms (C677T, A1298C) on the Myocardial Infarction Patients Around Eskisehir Region. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Medical Genetics, Eskişehir, 2011.

Cardiovascular diseases are becoming increasingly important as being a major cause to mortality and morbidity. Major risk factors leading to the disease have been identified as a result of epidemiologic studies. However, new risk factors are being identified since those classical risk factors are not sufficient to explain the cause of coronary artery disease. Recently, high plasma homocystein level has been identified as an important risk factor in association with coronary artery disease. MTHFR is the most frequent genetic causing to increase in homocystein level. The relationship between increase in homocystein level and coronary hearth diseases is known, however the relationship between homocystein related genetic mutations and coronary artery disease has not been clarified yet. Previous studies show contradictory results between MTHFR gene polymorphisms and coronary artery disease. In our study, we have investigated MTHFR, C677T and A1298C polymorphysims in the patients diagnosed STEMI in Eskisehir Region, at our hospital; in order to identify the relationship between MTHFR gene polymorphisms and myocardial infarction, to identify the frequency of polymorphisms and to define the relationship of the polymorphysms and MI diagnoses, by also reviewing the pre-identified risk factors. The study includes 100 STEMI patients and 100 healthy control patients. As a result of the study; smoking, familial history, hypertension, hyperlipidemia and homocystein level are identified as important risk factors among the patients having STEMI in Eskisehir region. A significant relationship has not been observed between patients and control groups in terms of MTHFR, C677T and A1298C polymorphisms. Moreover, significant differences have been identified when homocystein levels and genotypes are evaluated together.

Key Words: Metilenetetrahydrofolate Reductase Gene, ST-Segment Elevation Myocardial Infarction, Metilenetetrahydrofolate reductase enzyme, Homocystein.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Akut Koroner Sendrom	3
2.1.1. Akut Koroner Sendrom Sıklığı	3
2.1.2. Akut Koroner Sendrom Patofizyolojisi	3
2.2. Ateroskleroz	4
2.2.1. Aterosklerozun Tarihçesi	4
2.2.2. Aterosklerotik Plak Ruptürünü Takip Eden Tromboz	5
2.2.3. Aterosklerozun İlerlemesi	12
2.3. Aterosklerotik Damar Hastalığı İçin Risk Faktörleri	13
2.3.1. Klasik ve Bağımsız Risk Faktörleri	13
2.3.2. Yeni veya Gelişmekte Olan Risk Faktörleri	19
2.3.3. Genetik Risk Faktörleri	25
2.4. Miyokard İnfarktüsü	26
2.4.1. Miyokard İnfarktüs Tanısı	28
2.5. Koroner Kalp Hastalığı ve Miyokard İnfarktüsünün Genetiği	28
2.5.1. Miyokard İnfarktüsünün Genetik Belirteçleri	29
2.5.2. Aday Genler	30
2.5.3. Miyokard İnfarktüsü ve Koroner Arter Hastalığında Genom çalışmaları	39
2.5.4. Geniş Multilokus Çalışmalar	40
2.5.5. Polimorfizm Kavramı	40
2.5.6. Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri	41

	Sayfa
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	42
3.1. Gereçler	42
3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri	42
3.1.2. Kullanılan Gereçler	43
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	44
3.2. Yöntemler	44
3.2.1. DNA İzolasyonu	44
3.2.2. MTHFR geni C677T ve A1298C Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi	46
4. BULGULAR	54
5. TARTIŞMA	60
KAYNAKLAR	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACE	Anjiotensin konverting enzim
ADA	Amerikan Diyabet Birliği
AKS	Akut koroner sendrom
AMI	Akut miyokard infarktüsü
Apo E	Apolipoprotein E
BMI	Body mass index
C	Sitozin
CETP	Kolesteril ester transfer proteini
CK	Kreatin Kinaz
CRP	C- Reaktif protein
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EKG	Elektrokardiyografi
G	Guanin
GA	Güven aralığı
HDL	High densitiy lipoprotein
HT	Hipertansiyon
MI	Miyokard infarktüsü
KAH	Koroner arter hastalığı
kb	Kilobaz
KKH	Koroner kalp hastalığı
KVH	Kardiyovasküler hastalıklar
LDL	Low density lipoprotein
MMP	Matriks metalloproteinaz
MTHFD	Metilen tetrahidrofolat dehidrogenaz
MS	Metionin sentaz
MTRR	Metionin sentaz redüktaz

MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
NO	Nitrik oksit
NSTEMI	ST Elevasyonu Olmayan Miyokard İnfarktüsü
NSAP	Stabil Olmayan Anjina Pektoris
OR	Odds ratio
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi
RE	Restriksiyon Enzimi
STEMI	ST elevasyonlu miyokard infarktüsü
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
T	Timin
TEKHARF	Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
tHcy	Homosistein
TG	Trigliserit
T.Kol	Total kolesterol
TBE	Tris-Borik EDTA
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Trombozis ve plak rüptüründe inflamasyonun merkezi rolü	9
2.2. Farklı anjiografik çalışmalardaki, bozulmuş aterosklerotik plakların lezyon karakteristikleri	12
2.3. Homosistein metabolizması	23
2.4. Homosistein ile uyarılmış endotel disfonksiyonun patofizyolojisi	25
2.5. DNA sentezi ve metilasyon ilişkili basitleştirilmiş folat metabolizması yolağı	35
2.6. İnsan genomunun sistematik gösterimi	39
3.1. MTHFR 677. baz çiftini içeren gen bölgesi amplifikasyon ürünleri	48
3.2. MTHFR 1298. baz çiftini içeren gen bölgesi amplifikasyon ürünleri	48
3.3. Hinf I enzimi ile MTHFR geni kesim sonucu	51
3.4. Mbo II enzimi ile MTHFR geni kesim sonucu	52

TABLULAR

	Sayfa
2. 1. Unstabil ya da hassas plağın yapısı	7
2. 2 Aterosklerotik damar hastalığı için yeni risk faktörlerinden örnekler	20
3.1. MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerinin PCR ürünleri ve RFLP uygulandıktan sonra enzim kesim ürünlerinin genotiplere göre dağılımı	50
4.1. Grupların risk faktörlerinin dağılımı	55
4.2. Hastaların Lipit Profillerinin Dağılımı	56
4.3. 677 C→T ve 1298 A→C polimorfizminin hasta ve kontrol grupları içerisinde dağılımı	56
4.4. Gruplarda MTHFR C677 ve A1298C polimorfizmlerinin birlikte dağılımı	57
4.5. Gruplarda MTHFR C677T ve A1298C alel frekansı dağılımı	58
4.6. Homosistein düzeylerinin gruplarda MTHFR genotipine göre dağılımı	59
5.1. Çalışmamızın literatür ile karşılaştırılması, MTHFR C677T polimorfizmi ve koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki	62

1.GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, 1990 yılında mortalite ve morbidite nedenleri arasında 5. sırada yer alan kardiyovasküler hastalıkların 2020 yılına gelindiğinde tüm dünyada ve ülkemizde işlevsel yetersizlikler arasında ilk sırada yer alacağı tahmin edilmektedir (1).

Türk Erişkinlerinde Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışması verilerine göre 2000 yılı itibariyle ülkemizde 2.000.000 koroner arter hastası vardır. Ülkemizde her yıl yaklaşık 65.000 kişi koroner arter hastalığına bağlı ani ölüm nedeniyle kaybedilmektedir (2).

Aterosklerozun komplikasyonu olarak gelişen akut koroner sendromların 1/3 nü ST elevasyonlu miyokard infarktüsü oluşturmaktadır. Son yıllarda tanı ve tedavide kaydedilen önemli ilerlemelere rağmen ST elevasyonlu miyokard infarktüsü (STEMI) ve komplikasyonları gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde halen ciddi bir halk sağlığı problemi olarak devam etmektedir. MI (miyokard infarktüsü) geçiren hastalarda risk faktörlerinin tanınması, tespiti ve tedavisi daha büyük önem kazanmaktadır. Primer korumanın en başta gelen amacı, risk faktörlerinin gelişmesini önlemektir. Sigara, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi ve yeni geliştirilmekte olan risk faktörleri primer tedavide önemli hedefler olarak belirlense de tanımlanan risk faktörlerine sahip olmayan bireylerde de ateroskleroz ve komplikasyonlarının görülmesi, morbidite ve mortalite oranlarının yüksek olması, öncelikle primer tedavi olmak üzere sekonder tedavi açısından da yeni risk faktörlerinin tanımlanmasına gerek olduğunu göstermektedir. Özellikle modifiye edilebilen risk faktörlerinin izlenmesi ve erken müdahale edilmesi çok büyük önem taşır. Son iki dekatta koroner arter hastalığına yol açan risk faktörlerini tanımlamada çok büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Yapılan geniş epidemiyolojik çalışmalar sonucunda hastalığa yol açan majör risk faktörleri belirlenmiştir. Ancak toplumdaki koroner arter hastalığı prevalansını açıklamada ve bazı hastalarda gelişen prematür koroner arter hastalığı nedenini açıklamada bu klasik risk faktörleri tek başlarına yeterli olamamaktadır. Akut miyokard infarktüsü veya kararsız anjinalı hastaların yaklaşık yarısı klasik kardiyovasküler risk faktörlerini taşımamaktadır (3). Bu veriler, bu konudaki bilgilerimizi tamamlayacak ve risk tanımlamasını daha yeterli bir

şekilde yapmamızı sağlayabilecek yeni risk faktörlerinin araştırılmasını hızlandırmıştır.

Miyokard infarktüsü (MI) geçiren hastaların önemli bir kısmında aile öyküsünün bulunması genetik faktörlerin önemini arttırmıştır. Framingham Kalp Çalışması ebeveyn ya da kardeşte kalp hastalığı öyküsünün koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olduğunu ve pozitif aile öyküsünün diğer tüm risk faktörlerinden bağımsız olduğunu göstermiştir (4, 5). Ayrıca, aile öyküsü pozitif olan kişilerde hastalığın ailedeki kişilerden daha erken yaşta ortaya çıktığı bulunmuştur (6). Utah (ABD)'daki yaklaşık 2,2 milyon kişinin verilerinin analizinde 65 yaşından önce MI geçirme öyküsü olan bireylerin aile üyelerinde riskin belirgin olarak yükseldiği saptanmıştır (7). Görüldüğü gibi risk artışı sadece aile öyküsü ile açıklanamayacağı gibi klasik risk faktörleri ile de açıklanabilir değildir.

Kardiyovasküler hastalıklar için tanımlanan önemli bir risk faktörü de yüksek plazma homosistein düzeyidir. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), homosistein metabolizmasının ana düzenleyici enzimlerinden biridir. MTHFR geninde saptanan sık bir mutasyon olan C677T'nin enzimatik aktiviteyi azalttığı ve homosistein düzeyi yüksekliğine katkıda bulunduğu tanımlanmıştır. MTHFR genindeki A1298C mutasyonunda MTHFR aktivitesini azalttığı (C677T'den daha az oranda) düşünülmektedir ve plazma homosistein düzeyindeki etkileri açık bir şekilde tanımlanmamıştır.

Büyük bir tartışmanın ve birbiri ile çelişen çalışma sonuçlarının olduğu bu konuda, biz de çalışmamızda, Eskişehir bölgesinde; MTHFR geni polimorfizmlerinin frekansını belirlemek, MTHFR gen polimorfizmlerinin miyokard infarktüsü ile ilişkisini saptamak, miyokard infarktüsünde bu polimorfizmlerin tanı koymadaki yerini belirlemek amacıyla, bilinen majör risk faktörlerini de gözden geçirerek, hastanemizde STEMI tanısı alan hastalarda MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerini inceledik.

2.GENEL BİLGİLER

Kardiyovasküler hastalıklar, Amerika'da ve batı dünyasında hem erkek hem de kadınlar için önde gelen ölüm nedenidir ve 2020 yılına kadar lider global katil olacağı tahmin edilmektedir (8). Akut koroner sendrom tüm dünyada ve özellikle gelişmiş ülkelerdeki önde gelen ölüm nedenidir. Ortalama mortalitesi yaklaşık olarak %45 olarak tahmin edilmektedir.

2.1.Akut Koroner Sendrom

Akut koroner sendrom (AKS), iskemik koroner arter hastalığının miyokardiyal hücre hasarı ile veya hasarsız sonuçlanan kritik fazının açığa çıkması ile oluşan klinik tablonun genel adıdır. Altta yatan en yaygın patofizyolojik neden ateroskleroz plak yırtılması ya da erozyonunu takiben gelişen trombüs oluşumudur. Bunu embolizasyon ya da değişken derecelerde obstrüksiyon izler.

2.1.1.Akut Koroner Sendrom Sıklığı

Ülkemizde her yıl yaklaşık 65.000 kişi koroner arter hastalığına bağlı ani ölüm nedeniyle kaybedilmektedir (13). AKS olarak değerlendirilen hastaların, 1/3 oranında STEMI olduğu saptanmıştır (12). STEMI, tanı ve tedavi yöntemlerinde son dönemlerde kaydedilen önemli ilerlemelere rağmen, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ciddi bir sağlık problemi olarak devam etmektedir. Acil servise göğüs ağrısı nedeniyle başvuran hastaların %15-25'i AKS tanısı ile izlenmekte ve taburcu edilmektedir (9-11).

2.1.2.Akut Koroner Sendrom Patofizyolojisi

AKS aterosklerozun komplike olması ile meydana gelir. Altta yatan neden genellikle rüptüre ateroskleroz plakının ya da daha az sıklıkla yüzeysel erozyona uğramış plakın akut trombozudur. Nadir de olsa akut koroner sendromlar non-aterosklerotik bir nedene bağlı olarak da gelişebilirler. Arterit, travma, diseksiyon, spazm, tromboemboli, konjenital anomaliler, hematolojik hastalıklara bağlı in situ tromboz, kokain kullanımı ya da kardiyak kateterizasyonu takiben gelişen bir komplikasyon sonucunda akut koroner sendromlar oluşabilir. Ateroskleroz; koroner kalp

hastalığından, inmeden ve ekstremitte iskemisiden sorumludur.

2.2.Ateroskleroz

2.2.1.Aterosklerozun Tarihçesi

Ateroskleroz antik çağlardan beri insanlığın arkadaşı olmuştur. Mısır'daki mumyalarda, Kuzey Amerika'da, Çin'de ve yaklaşık milattan önce 3000 yıllarında karotid, koroner, femoral arter ve aortada makroskobik ve mikroskobik ateroskleroz gösterilmiştir (14,15). Muhtemelen aterosklerozdaki makroskobik değişiklikleri ilk tanıyan Leonardo da Vinci (1452-1519) idi. Otopside yaşlı bir adamın arteriyel lezyonlarını resimlediği zaman kandan aşırı beslenme ile birlikte damar duvarındaki kalınlaşmanın olduğunu önerdi (16). 1860 civarında, Félix J. Marchand (1846–1928) arterlerin intima tabakasında gözlenen patolojik bulguları vurgulamak amacıyla aterom (Yunanca, bulamaç) ve sclerozise (Yunanca, sert) atfen 'aterosklerozis' terimini kullandı (17). Başından itibaren ateroskleroz patogenezindeki teoriler iki ana sınıfa ayrılıyordu: selüler ve humoral (salgısal). Hücresel sınıfı; arterin kendinden köken alan, içindeki değişiklikler aterosklerotik lezyonu oluşturduğu önerilmektedir. Bu, yaygın olarak; başlangıçta 1856 yılında hücresel patolojinin babası olarak kabul edilen Rudolf Virchow (1821–1902) tarafından ve son zamanlarda da Russell Ross (1929–1999) tarafından savunulan 'hasara yanıt' hipotezi olarak ifade edilir. Salgısal sınıf ise; aksine, aterosklerozun arterin kendi bulunduğu çevre içindeki değişiklikler ile birlikte meydana geldiğini vurgulamaktadır. Bu teorinin erken dönemdeki savunucusu Viyanalı bir patolog olan Karl von Rokitansky (1804–1878), 1852'de ateromatöz oluşumunda fibrinin önemli bir rol oynadığını bildirdi. 100 yıl sonra geleneksel olarak J. B. Duguid tarafından devam eden araştırmalarla koroner ateroskleroz patogenezinde trombozisin (trombojenik hipotez) önemli bir faktör olduğu vurgulanmıştır (18-21).

Bugün, hücresel ve salgısal sınıflamanın özelliklerinin aterogenezde doğru olduğu açıktır. Her ikisinin de, dışarıdan ve içeriden etkilerin, arter duvarının içindeki süreçlerin aterosklerotik lezyon ilerlemesinde önemli bir etkiye sahip olduğu kabul edilmektedir.

Ateroskleroz ile ilişkili klinik bulguların bazıları aşırı ya da paradoksal

vazokonstriksiyon ve aterosklerotik plakların ilerleyici luminal daralmasının sonucu olmasına rağmen, altta yatan bozulmuş plak üzerine trombüsün eklenmesiyle bu hastalığın akut ve ciddi klinik belirtileri de gözlenmektedir. Bu nedenle; koroner tromboz, unstabil anjina hastaları, akut miyokard infarktüsü ve ani ölümlerin büyük çoğunluğundan sorumludur (22-26).

2.2.2. Aterosklerotik Plak Ruptürünü Takip Eden Tromboz

Anjiyografi, cerrahi eksplorasyon, anjiyoskopi, biyokimyasal belirteçler ve otopsi değerlendirmelerini içeren çalışmaların büyük bir kısmı ani koroner oklüzyon sonucu oluşan koroner trombozun akut miyokard infarktüsü, unstabil anjina ve bazı olguların ani kardiyak ölüme yol açtığını göstermiştir (27-38). Lümen içindeki trombüs uzantısı ile oluşan koroner trombüsün %70-80'inin altında yatan fibröz kapağın ruptürü ya da fissürüdür (34, 38-40). Ruptüre olmuş fibröz kep ve tromboz içeren plak ile oluşan koroner stenoz koroner anjiyografide genellikle kompleks lezyonlar olarak nitelendirilir. Bu lezyonlar düzensiz sınırlara ve parlak görüntü ya da dolma defektlerine sahiptir (29, 36).

A) Plak Ruptürü: Plak Boyutu ve Darlığın Şiddeti ile İlişkisi

Seri anjiyogramların retrospektif analizleri ve prospektif seri anjiyografik gözlemleri, AKS'lu hastaların yaklaşık %60-70'inde, koroner anjiyogramların akut olaydan haftalar ya da aylar önce suçlu lezyon alanında %70> (sıklıkla 50%>)'sinin çapında daralma olduğunu önermişlerdir (22, 35, 36, 41-47). Anjiyografik verilere paralel olarak, stabil koroner arter hastalığı olan olgulara yapılan stres testlerinde, stres miyokard perfüzyon sintigrafisinin gösterdiği iskemi alanının akut miyokard infarktüsünün gelişeceği alanları tahmin etmediğini göstermiştir (48). Bu klinik ve anjiyografik paradoks birkaç faktöre bağlanabilir (49):

1. Daha az stenotik plakların daha ağır stenotik plaklardan fazla olması
2. Ağır stenotik plakların koroner oklüzyon belirtilerini engellemek için kollateral gelişimini tetiklemeleri
3. Anjiyografi stenozun ciddiyetinin derecesini olduğundan daha az stenotik görebilmesi
4. Daha az stenotik olan plaklar plak ruptürü gelişimine daha kolay maruz kalabilmesi

Son çalışmalar plak boyutuna ek olarak negatif yeniden düzenlenmeye karşı pozitif yeniden düzenlenmenin lümen boyutundaki bir plağın net etkisinin saptanmasında çok önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir.

Kararsız ve hassas plakların dış yeniden yapılanması büyük plak boyutuna rağmen lüminal daralmayı en aza indirger. İntravasküler ultrason kullanılarak yapılan çalışmalar, dış arteriyel genişleme ile pozitif yeniden düzenlenmenin unstabil anjinaldaki sorumlu lezyonlarda daha sık olduğunu; iç ya da negatif yeniden düzenlenmenin de stabil anjina da daha sık olduğunu göstermiştir (50-52).

Sonuç olarak, son histomorfometrik veriler; dış yeniden düzenlenme yapılmayan plaklara kıyasla; dış yeniden düzenlenmeye uğrayan plakların ortalama daha büyük lipid çekirdek ve daha çok inflamatuvar hücreler içerdiğini göstermiştir (53). Bu histolojik yapıların rüptüre plaklarda ve rüptür riski bulunan plaklarda (hassas plak) daha yaygın olduğu bilinmektedir.

B) Plak Rüptürü: Plak Yapısı ile İlişkisi

Rüptüre plakların detaylı histolojik değerlendirmesi, plak rüptüründen önce oluşanları ve aynı zamanda hassas plağın saptanacağına inanılan çeşitli farklı özellikler olduğunu göstermiştir (Tablo 2.1.) (24). Bu hipotez hassas plak kavramının temelidir. Rüptüre plağın büyük olma eğilimi; dış ya da pozitif yeniden yapılanmayı gösterir, sıklıkla plak hacminin $\geq 40\%$ 'ını büyük lipid çekirdek oluşturur; fibröz başlık ve adventisyada inflamatuvar hücre infiltrasyonunu gösterir; ince kapaklar kollajen, glikozaminoglikanlar ve düz kas hücrelerini içerirler; artmış adventisyal ve plak yeniden damarlanmasına sahiptirler (22, 24, 50, 54–63).

Tablo 2.1. Unstabil ya da hassas plağın yapısı (24)

- Serbest kolesterol kristalleri, kolesterol esterleri, doku faktörü ile yüklü okside lipitlerden oluşan geniş lipit çekirdek (plak yoğunluğunun $\%40 \leq$)
- Düz kas hücresi ve kollajenden yoksun ince fibröz kapak
- Pozitif remodeling
- Fibröz kapağın ve adventisyannın inflamatuvar hücre infiltrasyonu (monosit-makrofajlardan yoğun, bazı aktif T hücreleri ve mast hücreleri)
- Yeniden damarlanma artışı

a) Lipit Çekirdek

Ekstrasellüler lipit çekirdek, arteriyel duvardan sızan yağlardan derive olan kolesterol esterleri, kolesterol kristalleri ve kolesterolden ve aynı zamanda çoğunlukla makrofajın ölü köpük hücrelerinden derive olan yağlardan oluşur. Niemann-Pick geninin kısmi miktarda eksikliği ile iptal olan endoplazmik retikulum aracılı gen programının aktivasyonu sonucunda makrofajın apoptotik ölümünde serbest kolesterolün büyük miktarda birikimi gösterilmiştir. Makrofaj-köpük hücrelerinin bu gelişmiş apoptozu aselüler lipit çekirdeğinin genişlemesine katkıda bulunabilir (54, 58).

Ayrıca kırmızı hücre membranlarının da plak içine kanama olduğunda lipit çekirdeğinin genişlemesine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (59). Bu tür kanama aterosklerotik plaklarda bol bulunan yeni damarların rüptürü ile oluşabilir. Plak rüptürü olan olguların yaklaşık $\%60$ 'ında büyük bir lipit çekirdek içeren plak, mekanik bir dezavantaj oluşturarak plak omuz bölgelerinde fibröz kapak rüptürü ile sonuçlanır (60, 55, 61–63). Transkripsiyonel profillemeye, rüptüre plaklarda yeni bir genin, perilipin'in seçici ekspresyonunu göstermiştir. Perilipin lipit hidrolizini inhibe eder ve çekirdekdeki lipit birikimine katkıda bulunabilir. Bu şekilde plak hasasiyetine yol açabilir (64). Buna ek olarak, lipit çekirdek protrombotik okside yağlar içerir ve apoptotik makrofajlardan kaynaklanan prokoagülan doku faktörü ile emdirilmiştir. Doku faktörü kan dolaşımına maruz kaldığında lipit çekirdeği oldukça trombojenik yapar (65-69).

b) Plak İnflamasyonu

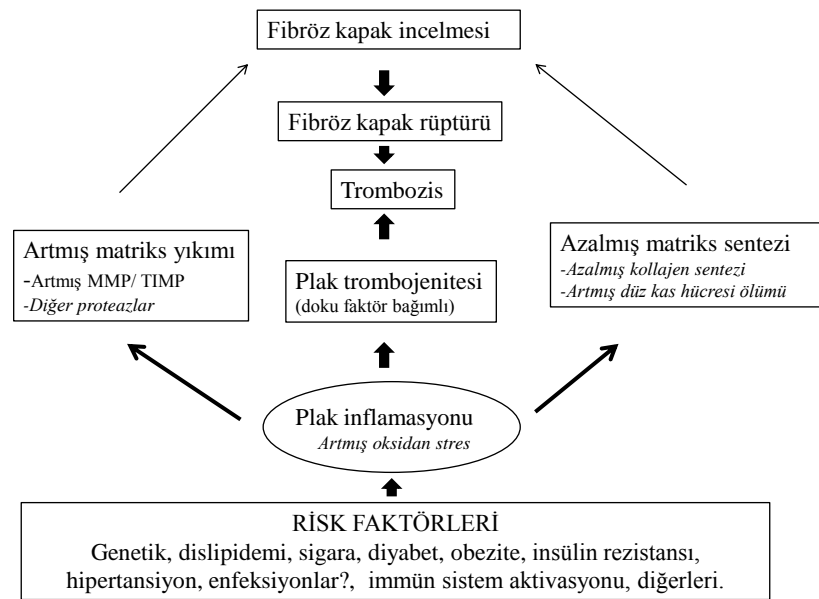
Bir dizi histopatolojik çalışma rüptüre plakların zedelenmemiş plaklara kıyasla daha fazla inflamatuvar hücre içerdiğini göstermiştir. Bu hücreler çoğunlukla monosit-makrofajlardır. Aynı zamanda aktif T hücreleri ve degranüle mast hücrelerini içerir. İnflamasyon sıklıkla fibröz kapak rüptürüne komşu olan alanlarda, lipit çekirdek çevresinde, yeniden damarlanma alanlarının çevresindeki adventisyaya içinde bulunur (57, 64–74).

İnflamatuvar hücreler muhtemelen, vasküler hücre adezyon molekülleri (VCAM-1) gibi adezyon molekülleri ve monosit kemoatraktan protein (MCP-1) gibi kemokinler tarafından aterosklerotik plakların içine alınır (75). Vasküler hücre adezyon molekülleri (VCAM) 1 gibi adezyon molekülleri tarafından aterosklerotik plakların içine alınır ve kemokinler monosit kemoatraktan protein (MCP) 1 gibi. Daha sonra damar duvarlarında aktive hale gelirler. Aterosklerotik lezyonun içine inflamatuvar hücrelerin girişindeki bir başka potansiyel yol ateroskleroziste kazanılmış olan adventisyal yeniden damarlanma yoluyla olabilir (76-81). Bu içe alıma, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna ve aterosklerozda inflamatuvar cevaba katkıda bulunan faktörler; okside yağlar, makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) gibi sitokinler, artmış anjiotensin II aktivitesi, artmış kan basıncı, diyabet, obezite, insülin rezistansı, sigara içiciliği, arter duvarından uzak kronik enfeksiyonlar, damar duvarındaki olası enfeksiyöz organizmalar (Klamidya pneumoniae, sitomegalovirus, vb.), interferon gamma, CD40 ligandları gibi proinflamatuvar mediyatörlerin salınımıyla immün sistemin aktivasyonu ve okside LDL, ısı şok proteinleri, beta mikroglobulin gibi antijenlere cevap verenler şeklinde sıralanabilirler (49, 75). Ek olarak IL-10 ve trasforme edici büyüme faktörü beta gibi doğal antiinflamatuvar moleküllerin eksikliği de plak inflamasyonunu ilerletebilirler (82-84).

C) Plak İnflamasyonu ve Plak Rüptürü Arasındaki Patofizyolojik Bağlantı

Fibröz kapağın yapısal bileşenlerini kollajen, elastin gibi matriks molekülleri ve düz kas hücrelerinden köken alan proteoglikanları oluşturur. Kapak; kan dolaşımı ile temas eden plağın derinlerdeki bileşenlerini korur, fakat rüptür civarındaki

yerlerde incilir. Fibröz kapağın incilmesi genellikle hassaslığın bir işareti ve rüptürün başlangıcı olarak kabul edilir. Zedelenmemiş plaklara göre rüptüre plaklardaki fibröz kapaklar daha az ekstraselüler matriks (kollajen ve proteoglikanlar) ve daha az düz kas hücreleri içerirler (85). Fibröz kapak incelmeye sentez ve yıkım arasındaki dengesizlik yol açar, özellikle fibriller kollajenler gibi matriks içeriklerinin azalmasını çok sayıda araştırmacı hipotezlemiştir (Şekil 2.1.) (22, 24).



Şekil 2.1. Trombozis ve plak rüptüründe inflamasyonun merkezi rolü (24)

Artmış matriks parçalanmasından inflamatuvar hücreler (makrofajlar, köpük hücreleri) ve daha az oranda düz kas hücreleri ve endotelial hücreler tarafından aterosklerotik plaklarda eksprese edilen bir dizi matriks-hasarlayıcı metalloproteinazlar (MMP) sorumlu tutulmuştur (86-95). Bu enzimlerin ailesi ekstraselüler matriksin bütün komponentlerini degrade edebilir ve in vivo ve in vitro ortamda katalitik olarak aktif olduğu gösterilmiştir (87, 96-98). MMP'lerin aktiviteleri gen transkripsiyonu düzeyinde sıkı bir şekilde düzenlenir ve metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP)'nin birlikte salgılanması ve aynı zamanda MMP'lerin salgılanması ekstraselüler aktivasyonu gerektiren bir inaktif zimojen şeklinde düzenlenir (97). Dolayısıyla artmış gen transkripsiyonu, kazanılmış

aktivasyon ve TIMP aktivitelerinin azalması tek başına ya da birlikte, artmış matriks degradasyonu için bir ortam oluşturabilir. Tüm bileşenler aterosklerotik plaktaki MMP yolağının aktivasyonu için gereklidir. MMP'lerin latent formları, plazmin (makrofajlardaki plazminojenden plazminojen aktivatörü [uPA] tarafından üretilir), tripsin ve degranüle mast hücrelerinden derivate olan kimaz tarafından aktif hale getirilebilir. Artmış MMP üretimi; okside yağlar, reaktif oksijen türleri, klamidyal ısı şok proteinleri (HSP), CD-40 ligasyonu, inflamatuvar sitokinler, makrofajlardan derivate olan tenaskin-C ve hemodinamik stres ile tetiklenebilir (73, 92, 93, 98–104). MMP'lere ek olarak katepsin ailesinden sisteinin ve aspartat proteazlarının artmış ekspresyonu ve sitatin-c inhibitörünün azalmış ekspresyonu, aterosklerozda artmış matriks bozulmasına katkıda bulunabilir (105, 106). Aktive edilmiş T hücre kökenli sitokin, interferon gama in vitro düz kas hücrelerinde kollajen gen ekspresyonunu inhibe eder. Bu, plaktaki aktive edilmiş T hücrelerin interferon gama üreterek matriks sentezini inhibe edebileceğini düşündürmektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından aterosklerotik lezyonlarda apoptoz ile artmış düz kas hücre ölümü ve ölüm sinyal yolağında birçok kilit oyuncuların bulunduğu tespit edilmiştir (112-118).

D) Plak Ruptürü Sonrası Oluşan Trombozda Plak İnflamasyonunun Rolü

Plak ruptürünü takiben plaktaki trombojenik komponentlerin kan dolaşımına katılmasıyla trombozis tetiklenir. Trombojenik komponentler kollajen ve lipit çekirdekten oluşur. Okside yağların direk trombosit aktifleştirme etkisi nedeniyle lipit çekirdek en trombojenik parça olma eğilimindedir (66). Lipit çekirdekdeki doku faktörünün başlıca kaynağı apoptotik makrofaj gibi görünmektedir. Böylece, inflamatuvar hücreler doku faktörü kaynağı olarak plak trombojenitesine katkıda bulunurlar. Yağ alımı, okside yağlara maruz kalma, CD40 ligand gibi sitokinler ve diğer proinflamatuvar sitokinler makrofajların doku faktörü üretmesi için uyarıda bulunurlar (24).

E) Plak Ruptürü: Dış Tetiklerin Potansiyel Rolü

Hassas bir plağın ani ruptürü açık bir tetik olmadan kendiliğinden oluşabilir. Buna karşılık, ruptür; aşırı fiziksel aktivite (özellikle düzenli egzersiz yapmayan

olgular), ciddi duygusal travma, cinsel aktivite, uyuşturucu ilaçlara (kokain, esrar, amfetamin) maruziyet, soğukta kalma, akut enfeksiyon gibi belirli bir olayın ardından gelişebilir (119-127). Plak rüptürü sıklıkla akut koroner sendromun klinik bulguları ile birlikte tromboza yol açarken aynı zamanda klinik bulgular olmadan da ortaya çıkabilir (sessiz plak rüptürü). AKS vakalarının yaklaşık %40-80'inde akut sorumlu alandan uzak bölgelerde çoklu plak rüptürleri olduğu gösterilmiştir (128). Yağdan zengin plaklar muhtemelen lipit çekirdekdeki yüksek orandaki doku faktörü nedeniyle fibröz plaklardan daha fazla trombojenik olabilir (69). Son çalışmalar; sigara içenlerin sigara içmeyenlere göre, plaklarında daha fazla doku faktörü ve inflamatuvar hücreler (makrofajlar) bulunduğunu göstermiştir. Bu da sigara içenlerin yüksek oranda trombotik riske katkıda bulunduğunu gösterir (129). Ayrıca, koroner kollateraller de akut koroner oklüzyonun klinik sonuçlarını etkileyebilir. Bazı araştırmacılar, plak rüptürü çevresindeki alanın organizasyonu ve düzeltilmesini ve trombozun plağın hızlı ilerlemesine sebep olabileceğini ve stenozun daha kötüye gidebileceğini, bunun da aterosklerozun gelişiminde bir mekanizma olabileceğini ortaya atmışlardır (130).

F) Plak Rüptürü Olmadan Tromboz: Plak Erozyonu ve Kalsifiye Nodülü

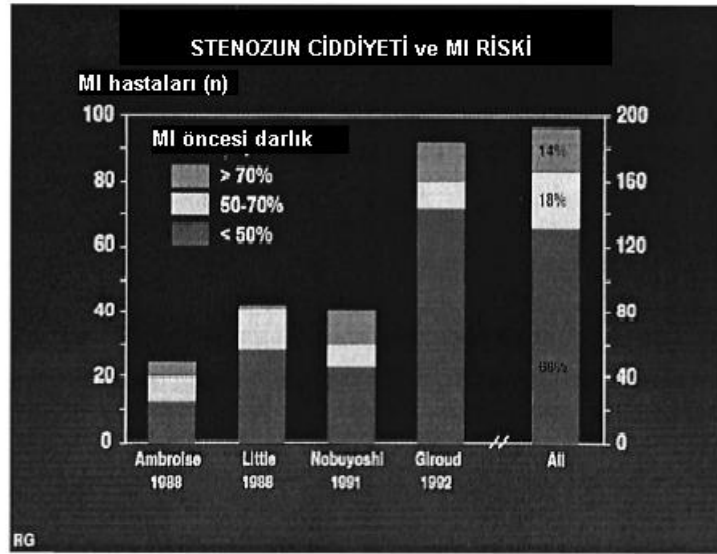
Olguların %20-40'ında fibröz kapakta rüptür olmadan aterosklerotik plak üzerinde uzanan koroner trombus gözlenmektedir (22, 24, 33). Bazı trombuslar yüzeysel endotelial erozyon olan plakların üzerinde bulunmaktadır. Bu erozyonlar özellikle kadınlarda, sigara içicilerde, genç yaş ani ölümlerde daha sık görülür. Bu gibi trombusların altındaki plaklar büyük lipit çekirdek içermezler. Aynı zamanda plak rüptüründe inflamasyon yaygınlığı daha azdır. Bu senaryoda trombozun kesin mekanizması bilinmemektedir. Bu gibi durumlarda tromboz gelişen olgulardaki kazanılmış trombojenik durum (gelişmiş trombosit agregasyonu, dolaşımda artmış doku faktörü düzeyleri, baskılanmış fibrinolitik durum) öncelikle düşünülebilir (22, 24). Ayrıca, antitrombotik moleküllerin, trombomodülinin ve protein-c reseptörünün ciddi eksiklikleri de tromboza katkıda bulunabilir. Aterosklerotik plaktaki kalsifiye nodülün erozyonu da trombozda nadir görülen bir temel mekanizma olarak bildirilmiştir.

Ateroskleroz lipit birikimi, matriks birikimi, yeniden damarlanma,

inflamasyon, damar duvarı yeniden şekillenmesi ve anormal vazomotor düzenlenme ile karakterize kronik bir hastalıktır. İnflamatuvar gen aktivasyonu aterosklerozun oluşumu ve ilerlemesini destekleyen ortak patofizyoloji olarak görünmektedir. Aterosklerotik vasküler hastalığın doğal seyri yakın zamanda gelişecek akut iskemik sendromlardan sorumlu olan plak rüptürü ve trombüs oluşumuna neden olan superfisyal endotelial erozyon ile karakterizedir.

2.2.3. Aterosklerozun İlerlemesi

Ateroskleroz oluşumu ve lezyonun ilerlemesi eş zamanda bekleniyor olabilir. Koroner arter darlığının şiddeti ve hastalıklı damar sayısı gelecekteki kardiyak olaylar için bilinen belirteçlerdir. Ancak, anjiyografik çalışmalar, koroner arter hastalığının ilerlemesinin ne eş zamanda ne de öngörülebilir olduğunu göstermiştir (Şekil 2.2.) (131, 132).



Şekil 2.2. Farklı anjiyografik çalışmalardaki, bozulmuş aterosklerotik plakların lezyon karakteristikleri (132).

Genellikle kabul edilen, akut iskemik olaylardan (unstabil anjina, MI), hastalara yapılan ilk anjiyogram sırasında gözlenen orta derecede darlık yapan koroner arter lezyonlarının sorumlu olduğudur. Erken aterosklerotik lezyonlar daha büyük ya da yıkılma eğilimine ilerlemesi, klinik olarak önemlidir, anjiyografide lezyonlar

değişkendir ve anlaşılammıştır. Ancak, koroner arter hastalığı açısından risk altında olan bireylerde, bu ilerleme daha hızlı görülebilir. Yapılan otopsiler sırasında aterosklerotik lezyonlar veya genel plak yükü ile yaş, erkek cinsiyet, hiperkolesterolemi, diyabet, hipertansiyon ve sigara içiciliği ilişkisi iyi bir şekilde tanımlanmıştır (133).

2.3.Aterosklerotik Damar Hastalığı İçin Risk Faktörleri

2.3.1.Klasik ve Bağımsız Risk Faktörleri

A) Erkek Cinsiyet

Sanayileşmiş ülkelerde, ortalama yaşam süresi erkeklerde kadınlara göre ortalama 8 yıl daha kısadır. Erkeklerde, 55 yaşından önce, koroner kalp hastalığı (KKH) 3 kat, inme 2 kat, periferik vasküler hastalıklar 2-3 kat daha fazladır. KKH için 40 yaşında yaşam boyu risk erkeklerde ikide bir ve kadınlarda üçte birdir (134). KKH' ndaki bu cinsiyet eşitsizliğin sebebi cinsiyete özgü genetik, hormonal, yaşam tarzı ya da yaşlanma faktörleri olabilir. Koroner arter hastalığındaki bu erkek üstünlüğü için en popüler açıklama, erişkin erkeklerdeki testesteron düzeyinin proaterojenik olması ve/veya erkeklerde östrojenin kardiyoprotektif etkisinin eksikliğidir. Erkek dezavantajının altında yatan östrojen eksikliği ve androjenlerin varlığı ana ilke olarak kabul edilmiştir. Seks hormonları MI, inme, kladikasyo intermitenti içeren semptomatik kardiyovasküler hastalıklar ve subklinik koroner, serebral ve periferik arter duvarı lezyonlarıyla oluşan ateroskleroz ve vasküler disfonksiyonu oluşturarak kardiyovasküler morbidite ve mortalitede önemli rol oynayabilir. Sonuçta seks hormonları kalp yetmezliği ve aritmi gibi KKH'nın uzun dönemdeki klinik sekellerinin oluşmasını etkileyebilir. Klinik sonuç olarak ortak görüş erkeklerde daha fazla risk olduğudur ve dolayısıyla KKH önlemek için risk faktörlerinin taramasına ve tedaviye erkeklerde (>45 yaş), kadınlarda (>55 yaş) daha erken başlanmalıdır.

B) Yaş

Düşükle kaybedilen fetuslarda, kaza nedeniyle ölen erişkinlerde ve gençlerde

yapılan otopsi verilerinde aterosklerozun erken dönemde başladığı ve yaşam boyunca ilerlediği gösterilmiştir (135, 136). Hem erkeklerde, hem de kadınlarda KKH ve inme yaşla birlikte daha sık görülmektedir. Sonuç olarak, aterosklerozun patogenezinin yaşlanma gibi çeşitli olaylar eşlik etmektedir (oksidasyon, hücre ölümü, endokrin fonksiyon kaybı gibi). Avrupa Kardiyoloji Derneği 2003 Hipertansiyon Kılavuzu'nda ise risk faktörü olarak erkeklerde 55 yaş ve üstü, kadınlarda 65 yaş ve üstü alınmaktadır.

C) Aterosklerotik Damar Hastalığının Varlığı

Semptomatik KKH'nın varlığı (geçirilmiş MI, anjina pectoris, KKH'nın anjiyografik gösterilmesi, önceki revaskülarizasyon prosedürü) MI, kardiyak ölüm ve inme için en önemli risk faktörlerinden biridir. Bu hastalarda, KKH olmayan benzer kolesterol düzeyi ya da kan basıncı olan hastalarla kıyaslandığında, dislipidemi ve hipertansiyon birkaç kat artmış risk anlamına gelir. Kan basıncı ve LDL kolesterol seviyelerinin tedavileri ikincil korunmanın temelidir. Ayrıca, koroner olmayan damarlarda (periferik, serebral, renal arterler, aorta) belirgin ateroskleroz da MI açısından yüksek risk faktörüdür (137).

D) Aile Öyküsü

Birinci derece akrabalarında prematür KKH olan bireyler, MI açısından 2 ile 12 kat arasında artmış riske sahiptirler. En yüksek ilişki, muhtemelen paylaşılan genler, sosyokültürel çevre ve aynı ortama maruziyet nedeniyle prematür KKH bulunan kardeşlerde bulunmaktadır (138). Bazı ailelerde, prematür KKH'nın meydana çıkması Mendelyen kalıtımla paralel tek risk faktörü ile olur. Buna, ailesel hiperkolesterolemide total ve LDL kolesterolün ciddi düzeyde yüksekliği örnektir. Olguların çoğunluğunda ise, bununla birlikte KKH görülme sıklığı risk faktörlerinin (kan basıncı, lipitler, Lipoprotein(a)) sadece kısmi ailesel birikimle açıklanabildiği poligenik kaynaklı hastalıklardır (138). Sonuç olarak, tahmini kardiyovasküler risk değerlendirilmesi prematür KKH olan bireylerin tüm birinci derece akrabalarında yapılmalıdır. Olguların birinci derece akrabaları içinde MI ya da kardiyak ölüm görülen 55 yaşından daha genç erkek ve 65 yaşından daha genç kadın varsa, KKH için aile öyküsü pozitif kabul edilecektir. Ayrıca, prematür KKH olan hastaların

aileleri, hastalığın kalıtsal ve kalıtsal olmayan risk faktörleri açısından sistematik olarak değerlendirilmeli ve erken dönemde koruyucu önlemleri başlatılabilmelidir (137, 139).

E) Sigara

Sigara, koroner, serebral ve periferik arter hastalıkları için merkezi bir risk faktörüdür ve tüm koroner ölümlerin %30'unda payı vardır. Sigara içme süresi ve sigara miktarı, miyokard infarktüsü ve inme riski ile ilişkilidir. Birkaç kontrollü çalışma, sigara içiminin önlenmesiyle kardiyak olay riskinin azaldığını gösterilmiştir (137). Bu riskin düşüşü ilk aylar içinde başlar ve 7 yıl sigara içmeyen eski sigara içici ile hiç sigara içmeyen riski eşittir. Bu nedenle sigara bırakmak, hem toplumsal hem de klinik stratejilerde birinci hedeftir (137, 139, 140). Sigara içiminin ateroskleroz progresyonundaki etkisi tek bir noktadan değildir. Lipitler üzerine etkisi LDL'de artış, HDL'de azalma şeklinde gözlenir. Sigara dumanındaki serbest radikallerin lipit peroksidasyonu ile daha pro-aterojenik parçacıklar oluşur (okside LDL gibi). Aynı etki pasif içiciler içinde geçerlidir. Sigara içimi ile sempatik sistem aktivasyonu ve neticesinde artmış kalp hızı, artmış tansiyon arterial ile periferik ve koroner vazokonstriksiyon gözlenir. Sigaranın protrombotik etkileri, endotelden doku plazminojen aktivatör salınımını engelleyip, serum fibrinojen düzeylerini artırmak ile olur. Bunların haricinde platelet aktivasyonu (muhtemelen artmış sempatik aktivasyon neticesinde), doku faktör ekspresyonunun artışı, polistemiye ikincil vizikozite artışı (ilerlemiş akciğer hasarına bağlı) bilinmektedir (139). Sigaranın, damar duvarı üzerindeki hasarı neticesinde, bozulmuş prostasiklin üretimi, artmış trombosit-damar cidarı etkileşimi ile ilişkilidir. Sigara; oksidatif stres, LDL-oksidasyonu azalmış NO sentezi nedeni ile endotel disfonksiyonu yapmaktadır. Bu da bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyon ve azalmış koroner akım rezervi ile ilişkilidir. Sigara içicilerinde artmış CRP, fibrinojen ve adezyon moleküllerinin tespiti, sigaraya artmış inflamatuvar cevabın ateroskleroz progresyonundan sorumlu olabileceğini işaret etmektedir. Sigara dumanındaki karbon monoksidin, oksijenden daha kuvvetli bir hemoglobin bağlama kapasitesi mevcuttur. Sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmalarda, karbon monoksidin kan basıncı, plazma katekolamin düzeyleri, trombosit agregasyonu ve CRP düzeyleri

üzerine etkisi bulunamamıştır. Buna karşın koroner kalp hastalarında bazı olumsuz etkileri saptanmıştır. Ventriküler sistolik disfonksiyon, ventriküler aritmi ve daha düşük iş yükünde iskemi oluşumu bilinenler arasındadır. Diğer önemli madde olan nikotinin, ateroskleroz gelişimi üzerindeki etkileri net değildir. Nikotin, sigara içimi sonrası geçici kardiyak output artışı, arter basıncı ve kalp hızı artışı yapmaktadır. İlaveten sigara içimine bağlı endotel disfonksiyonundan sorumlu tutulmaktadır. Sigara dumanındaki serbest oksijen radikalleri ateroskleroz gelişiminde en önemli yere sahip ajanlardır. Sigaranın bırakılmasından sağlanan fayda, genç ve yaşlı grupta eşit gibi gözükmemektedir. Sigaranın bırakılmasıyla koroner risk %36 azalmaktadır (137- 140).

F) Hiperlipidemi

Framingham çalışması, PROCAM dahil olmak üzere birçok populasyon çalışmalarında total kolesterol ve LDL kolesterolün serum düzeyleri MI ve kardiyak ölüm riski ile ilişkili bulunmuştur (137). KKH sıklığı düşük ve kolesterol düzeyleri düşük olan populasyonlarda (Çin) bile bu ilişki gösterilmiştir. Total ya da LDL kolesterolün inme ya da periferik arter hastalıkları ile ilişkisi çok daha zayıftır. İn vivo ve in vitro deneyler ile ateroskleroz patogenezinde kolesterolün nedensel bir etkisinin olduğu gösterilmiştir. Prematür aterosklerozun görüldüğü, LDL reseptör geninde defektlerle birlikte bulunan ailesel hiperkolesterolemi hastalarında da güçlü kanıtlar elde edilmiştir (141, 142). Bir kardiyovasküler risk faktörü olarak trigliseridin rolü tartışmalıdır. Tek değişkenli istatistiksel analizler ile bir çok epidemiyolojik çalışmalar, serum trigliserid konsantrasyonu ve kardiyovasküler olay oranları arasında pozitif korelasyon buldu. Hipertrigliseridemi ile sıklıkla diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin (düşük HDL kolesterol, hiperglisemi, hipertansiyon) bulunması bu korelasyonu desteklemek için yapılan analizlerin kısıtlılık noktalarıdır. Sadece trigliseridin yaklaşık 10 mmol/l artışı ve daha yüksek seviyeleri riski arttırır.

G) HDL Kolesterol

Çok sayıda klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, ölümcül ya da ölümcül olmayan KKH riski ve HDL kolesterol arasında bağımsız ve ters bir ilişki

göstermiştir (143, 144). MI geçiren hastaların %40'ından fazlasında HDL kolesterol düşük düzeylerde olduğu bulunmuştur (145). Türkler, Araplar, İsraililer gibi bilinmeyen nedenlerle HDL kolesterol düzeyleri ortalama 10-15 mg/dl daha düşük olan bazı etnik gruplarda kardiyovasküler hastalıklar açısından prevalans dramatik olarak daha yüksek saptanmaktadır (146, 147). Populasyon çalışmalarındaki verilerden, HDL kolesterol düzeyindeki her 1 mg/dl artışın koroner riskini %1 düşürdüğü hesaplanmıştır. Koroner kalp hastalığı için düşük (<40 mg/dl) HDL kolesterol seviyelerinin bir risk faktörü, buna karşılık yüksek (>60 mg/dl) HDL kolesterol seviyelerinin ise koruyucu bir faktör olduğu kılavuzlarda vurgulanmıştır (199).

H) Yüksek Kan Basıncı

Dünya Sağlık Örgütü; hipertansiyonu, sistolik kan basıncının 140 mmHg ve diyastolik kan basıncının 90 mmHg'nin üzerinde saptanması olarak tanımlamıştır. Hipertansiyonun; inme, MI ve kalp yetmezliği riskini arttırdığı bulunmuştur. MI için en yüksek risk, sigara içen, azalmış böbrek fonksiyonu ve proteinürisi olan, ventriküler hipertrofi ve diyabet ya da dislipidemisi olan hipertansif hastalardır. Aşırı kilo, hiperglisemi, düşük HDL kolesterol ve hipertrigliseridemi ile birlikte hipertansiyon metabolik sendromun parçalarıdır.

I) Diyabet

DSÖ ve Amerikan Diyabet Birliği (ADA); Diyabetes Mellitus'u (DM), açlık plazma glukoz düzeyinin 126 mg/dl (7mmol/l) ya da daha yükseği olarak tanımlamışlardır (148). Hem Tip 1 DM, hem de tip 2 DM; koroner, serebral ve periferik aterosklerotik damar hastalığı riskini artırır. Kardiyovasküler risk diyabeti olan erkeklerden daha yüksek oranda kadınlar ile ilişkilendirilmiştir (139, 140). Bu nedenle menapozdan önce diyabeti olan kadınlarda MI ve inme riski artmıştır ve her iki cinsten uygun algoritmeler ile tedavi edilmelidir. Diyabetiklerdeki risk artışı, bağımlı olduğu hiperglisemide ve diyabetik hastalarda bulunabilen bağımsız risk faktörleri (dislipidemi, özellikle hipertrigliseridemi ve düşük HDL kolesterol), arteriyel hipertansiyon, nefropati ve hiperkoagülabilité durumlarında (fibrinojen ve plazminojen aktivatör inhibitör 1 ya da dengesiz fibrinolizis) belirgindir.

Bu nedenle birçok otorite diyabet ile birlikte diğer durumlarında düzeltilmesi ve tedavi hedeflerinin olması gerektiğini önermektedir. Kan basıncı normal değerinde, 140 mmHg (sistolik) ve 90 mmHg (diyastolik) altında olmalı ve LDL kolesterol 100 mg/dl'nin altına düşürülmelidir. Trigliserid 150 mg/dl'nin altında ve HDL kolesterol 35 mg/dl'nin üzerinde olmalıdır. Diyabetik hastalar sigara içmemelidir (139,140).

İ) Diyet ve Alkol

Prospektif çalışmalar, aşırı kilo ve obezite, artmış kan basıncı, glukoz intoleransı ve diyabet, dislipidemi ve trombofili oluşumuna katkıda bulunan KKH için temel bir risk olan beslenme şekillerinin değiştirilmesi gerektiğini göstermiştir. Birçok diyet içeriği aterosklerozun patolojik sürecini olumlu ya da olumsuz yönde düzenlemektedir.

Epidemiyolojik çalışmalar alkol tüketimi ile mortalite arasında 'U' veya 'J' şeklinde bir ilişki olduğunu saptamışlardır. Hiç alkol tüketmeyenler, orta derecede düzenli alkol (günde 10g-30g a karşılık gelen 1-2 kadeh) tüketimi olan bireylere göre daha yüksek kardiyovasküler hastalık riskine sahiptirler (149, 150). Prospektif çalışmalarda erkekler için günde iki kadeh (20-30g), kadınlar için günde bir kadeh (10-15g) alkol tüketiminin KAH riskini %30-40 oranında azalttığını tahmin edilmektedir (151). Fazla alkol tüketimi ise; kaza, intihar, siroz, pankreatit, kardiyomiyopati ve hemorajik inme gibi olayların sıklığını arttırarak mortaliteyi arttırmaktadır. Alkolün koruyucu etkisi; HDL kolesterol, trombosit agregasyonu ve fibrinolizis üzerindeki yararlı etkileri ile açıklanmaktadır. Bununla birlikte, alkol tüketimi kan basıncını ve serum trigliserid düzeylerini arttırmaktadır (149, 150).

J) Fiziksel İnaktivite

Fiziksel inaktivite miyokard infarktüsü için bağımsız bir risk faktörüdür ve aşırı kilo alımı, hipertansiyon, diyabet, düşük HDL kolesterol düzeyi, hipertrigliseridemi ve trombofili oluşumuna yatkınlık sağlar (152).

K) Obezite ve Aşırı Kilo

DSÖ; obezite ve aşırı kilolu olmayı, vücut ağırlığının (kg), gövde

yüksekliğinin (m) karesine bölünmesiyle saptanan vücut kitle indeksine (BMİ) göre sınıflandırır. Bu uluslararası sınıflandırmada, BMİ'nin 18,5 kg/m²'den az olması düşük kilo; 18,5-24,9 kg/m² olması normal; 25,0-29,9 kg/m² olması pre-obez (fazla kilolu); 30,0-39,9 kg/m² olması obez; 40 kg/m² ve üzeri ise morbid obez (aşırı obez) olarak tanımlanır (153).

Kardiyovasküler hastalıklarda ilişkili olan obezite, morbidite ve mortaliteyi arttırır. Fazla kilo ve obezite; glukoz intoleransı, düşük HDL kolesterol ve hipertrigliseridemiye neden olarak da kardiyovasküler hastalık riskini arttırır. Kilo kontrolü; tüm bu nedenlere ek olarak, obezite nedenli kazalar, bazı karsinomlar ve kronik akciğer ve eklem hastalıkları risklerini azaltmak amacıyla da yapılmalıdır (154).

L) Psikososyal Faktörler

Düşük sosyoekonomik durum, sosyal ve çevresel desteğin eksikliği, depresyon ve karamsarlık KKH için bağımsız risk faktörleridir. Ateroskleroz patogenezinde nöroendokrin yollar (sempatik sistem aktivasyonu vb.) yoluyla ve sağlıksız yaşam stili (sigara içimi, fiziksel aktivitenin eksikliği, aterojenik diyet, fazla kilo) ile indirek olarak ilişkilidir. Pratikte, bu faktörleri objektif olarak monitörize etmek oldukça zor olduğu için kardiyovasküler risk değerlendirilme modellerinde yer almazlar (155).

2.3.2.Yeni veya Gelişmekte Olan Risk Faktörleri

Yeni risk faktörlerini araştırmak, ateroskleroz patogenezini anlamak ve antiaterosklerotik ilaç tedavileri için yeni hedefler oluşturmak açısından önemlidir. Binlerce vaka-kontrol çalışmaları istatistik olarak koroner kalp hastalığı, inme ya da periferik vasküler hastalıklar ile ilişkilendirilmiş yüzlerce klinik, biyokimyasal veya genetik belirteçler tanımlamışlardır. Bunlardan bazıları Tablo 2.2'de tanımlanmıştır (258).

Tablo 2.2. Aterosklerotik damar hastalığı için yeni risk faktörlerinden örnekler

Lipit risk faktörleri, VLDL-kalıntıları, küçük yoğun LDL, lipoprotein (a), apolipoprotein AI, B, C-III
Protrombotik faktörler
Fibrinojen, plazminojen aktivatör inhibitör 1, doku plazminojen aktivatör, faktör VII, von Willebrand faktör, D-dimer
İnflamasyon belirteçleri
HsCRP, serum amiloid A, lökosit sayısı
İnsülin rezistansı belirteçleri Bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı, insülin, İnsulin resistans marker
Homosistein
Diğerleri

A) Lipoprotein(a)

Birkaç prospektif klinik çalışmada, lipoprotein(a)'nın yüksek serum düzeyleri, KKH için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (156). 4000'den fazla olgu ile yapılan meta-analizlerin verilerinde, lipoprotein(a) düzeyleri daha yüksek olan bireylerin KKH için %70 daha fazla riske sahip olduğu ortaya çıkmıştır (157). Geleneksel olarak birçok laboratuvar 30 mg/dl değerini sınır değer kabul ederek bunun üzerindeki değerler kardiyovasküler hastalık riskini yükseltir (156). Lipoprotein(a) düzeyinin yüksekliğinin önemi, özellikle eşlik eden risk faktörlerinin varlığı ile birlikte artar.

B) C-Reaktif Protein

Çeşitli populasyon çalışmaları, orta derecede artmış serum C-Reaktif Protein (CRP) düzeyini bağımsız kardiyovasküler risk faktörü olarak tanımlamışlardır. İzlanda toplumunda yapılan geniş gözlemsel çalışmalar ve paralel veriler içeren metaanalizler; yüksek CRP düzeylerinin %45, yüksek kolesterol düzeyi de eşlik

ediyorsa riskin %135'e çıktığını savunmaktadırlar (158). CRP düzeyindeki 1 mg/l'lik artış orta derecede artmış risk oluştururken 3 mg/l üzerindeki artışlar yüksek risk olarak belirtilmektedir (159-161). Ancak, akut ve kronik inflamasyonlarda yükselen CRP düzeyleri kardiyovasküler risk değerlendirilmesine alınmamalıdır. Bu olgularda akut hastalık düzeldikten sonra CRP düzeyleri tekrar değerlendirilmelidir (159, 162).

C) Fibrinojen

Birkaç prospektif çalışmada fibrinojenin artmış plazma düzeyleri bağımsız kardiyovasküler risk faktörü olarak belirtilmiştir (163). Akut hastalığı olan hastalarda kardiyovasküler risk değerlendirilmesinde pek yararı olmayan CRP gibi, fibrinojen de bir akut faz reaktanıdır. Çalışmaların büyük çoğunluğu 3,5 g/l değerini sınır değer olarak kabul etse de ortak uluslar arası belirtilen bir değer yoktur. Fibrinojenin, Framingham skorlamasıyla özellikle erkeklerde kardiyovasküler risk artışı olarak değerlendirildiği bulunmuştur (164).

D) Mikroalbuminüri ve Kreatinin

Mikroalbuminüri, diyabetes mellitus ve hipertansiyonu olan hastalardaki mikro ve makrovasküler hasar için kabul edilmiş bir belirteçtir. Bu nedenle, mikroalbuminüri saptanan bireylerde ACE inhibitörü ya da anjitenin II reseptör antagonisti ilaçlar ile tedavinin yararlı etkisi kanıtlanmıştır ve hipertansif ya da diyabetik hastalarda albuminüri ölçümünün değerlendirilmesi önerilmektedir (165, 166). Mikroalbuminürinin genel popülasyonda önemli bir risk faktörü olduğu yönünde oldukça fazla kanıt birikmektedir (167).

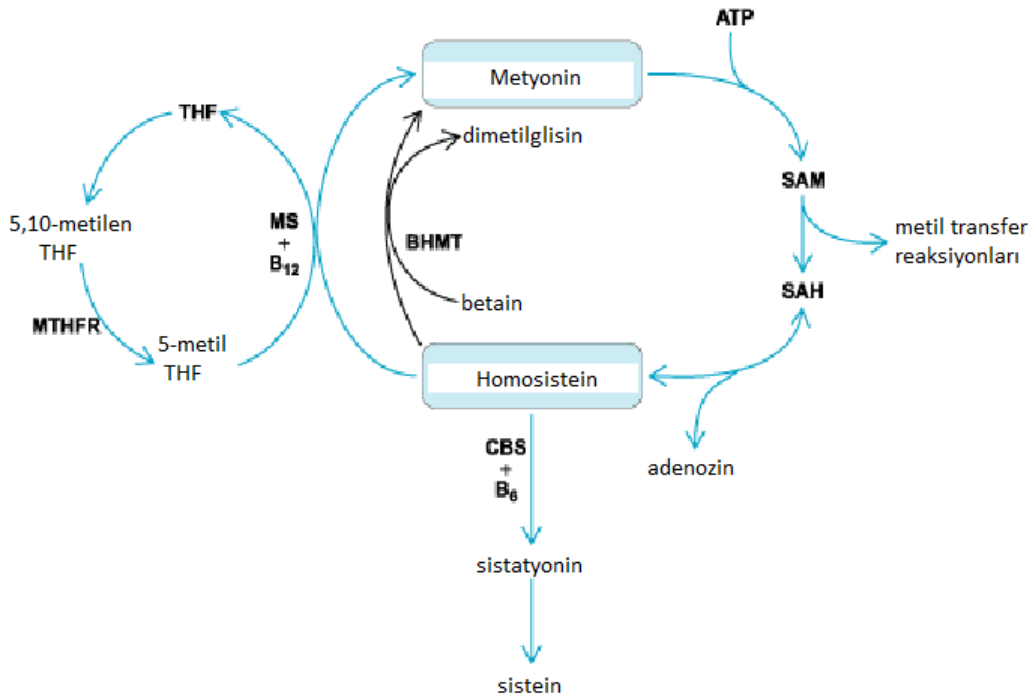
E) Homosistein

Homosistein (tHcy); son zamanlarda ateroskleroz için bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir. Diyetle alınan proteinlerin işlenmesi sırasında metiyoninden üretilen, protein sentezine katılmayan, sülfür içeren bir aminoasittir. Erişkinler için normal plazma tHcy düzeyleri 5-15 $\mu\text{mol/L}$ arasında değişmekte olup; 15-30 $\mu\text{mol/L}$ arasındaki değerler hafif, 30-100 $\mu\text{mol/L}$ arasındaki değerler orta, 100 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerindeki değerler ağır hiperhomosisteinemi olarak değerlendirilmektedir. Plazma tHcy düzeyleri genetik ve çevresel faktörler tarafından belirlenmektedir (168).

Artmış kardiyovasküler (KV) risk ile ilişkili bulunmasından bu yana, homosisteinin serum konsantrasyonunun artışı çok daha önem kazanmıştır. Geleneksel KV risk faktörlerinden farklı olarak tHcy artışı, trombotik hastalıklar (169), konjenital nöral tüp defektleri (170, 171), Parkinson ve Alzheimer hastalığı (172) ile ilişkilendirilmiştir.

a) Homosisteinin Biyolojisi

Metiyonin-homosistein-sistein yolağı Şekil 2.3.'de özetlenmiştir. Homosistein birikimi (hiperhomosisteinemi) metabolize edici yollardaki bloğa bağlı olarak gelişir. Metiyonin-homosistein metabolizmasında üç anahtar vitamin (folat=vitamin B9, piridoksin=vitamin B6, kobalamin=vitamin B12) substrat ya da kofaktör olarak fonksiyon gösterir. Yapılan bir dizi çalışmaya göre, homosistein konsantrasyonları ile B vitaminleri arasında ters bir ilişki gösterilmiştir. Sistasyon beta-sentaz, N5,N10-metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metiyonin sentaz olmak üzere üç anahtar enzim insan patolojisinde karakterize edilmiştir. Hiperhomosisteinemi birincil ve ikincil nedenlerle olabilir. Birincil nedenler klasik olarak homosistinüri ile giden enzim eksikliği olabilir, oldukça nadirdir, sistasyonin beta sentazın eksikliği ile gözlenir. Anahtar enzimleri kodlayan gen polimorfizmleri ya da mutasyonları daha sıktır. İkincil sebepler genellikle fonksiyonel olan gendeki polimorfizmler ile daha sık gözlenir. Sigara içmek, yoğun kahve ya da alkol alımı, renal yetmezlik, vitamin eksiklikleri (B vitamin metabolizmasını bozan ilaç kullanımı, örnek: gemfibrozil) (173), malign hastalıklar ya da hipotroidizm bunlara örneklerdendir. Plazma homosisteininin önemli bir kısmı okside olarak homosistine (%5-10), homosistein-sistein karışık disülfüre (%5-10) ve proteine bağlı homosisteine (%70-90) dönüşür.



Şekil 2.3. Homosistein metabolizması.

(CBS, sistatyonin beta-sentaz; MTHFR, 5, 10-metilen tetrahidrofolat redüktaz; MS, metyonin sentaz; BHMT, betain:homosistein metiltransferaz; SAM, S-adenozilmetyonin, SAH, S-adenozilhomosistein; 5-metil THF, 5-metiltetrahidrofolat; 5,10-metilen THF, 5, 10-metilentetrahidrofolat; B6, vitamin B6; B12, vitamin B12)

(259)

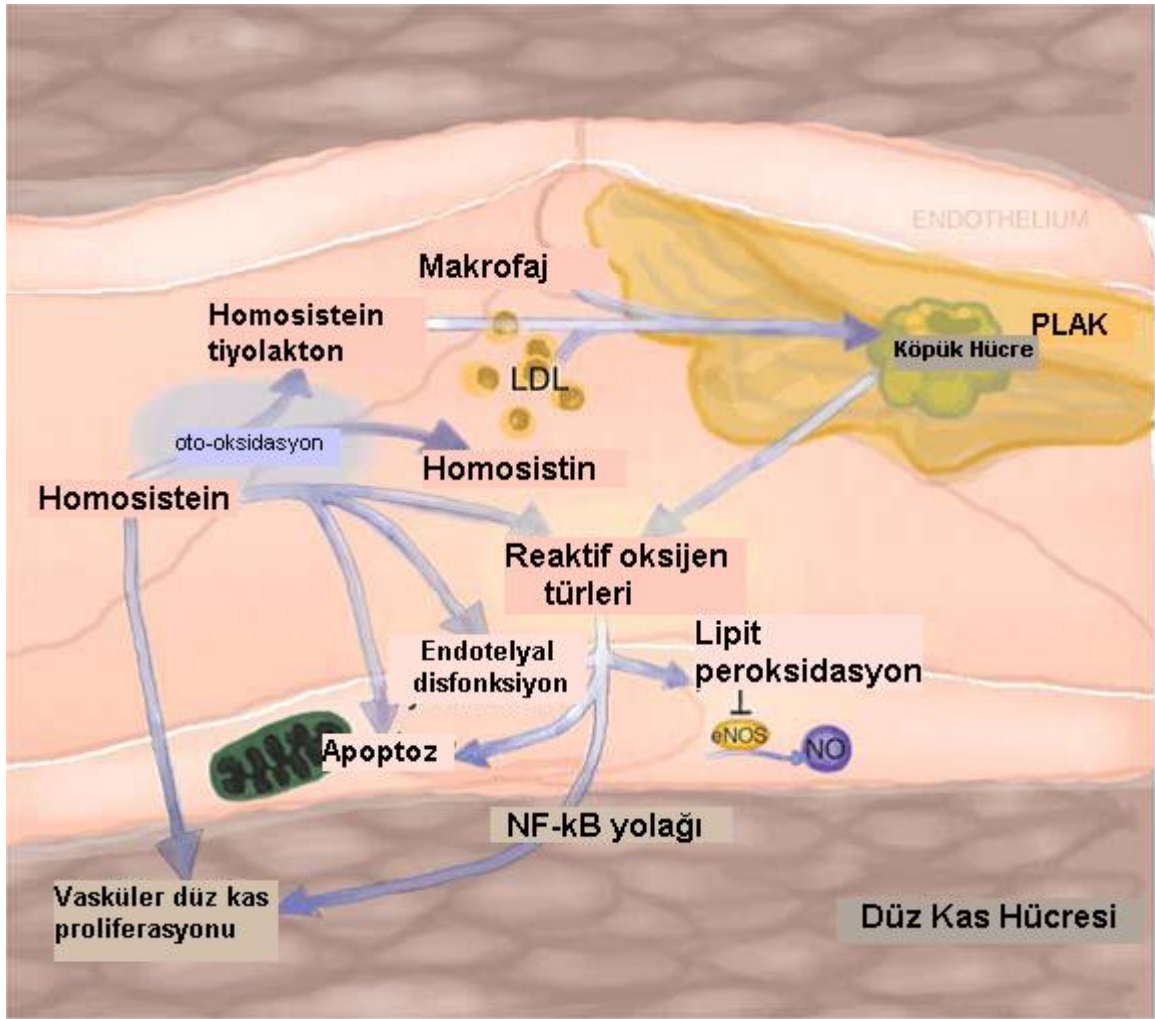
b) Kardiyovasküler Bir Risk Faktörü Olarak Homosistein

Orta düzeydeki plazma homosistein seviyesi yüksekliği koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olarak ilk kez McCully (1969), daha sonra Wilcken (1976) tarafından belirlendi (174). O zamandan beri ikna edici sonuçların varlığı bu teoriyi destekledi. Hepsinde olmasa da çalışmaların çoğunda tHcy konsantrasyonları ve klasik risk faktörleri ile anjiyografik olarak saptanmış KAH, MI ve KV mortalite arasında ilişki gösterilmiştir (175-178). Boushey ve Malinow'un çalışmalarında tHcy'nin ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olduğunu güçlü bir şekilde göstermişlerdir ve semptomatik vasküler hastalığı olan bireylerin %15-50'sinde hiperhomosisteinemi saptamışlardır (179,180). Homosistein düzeyindeki 5 µmol/l'lik

bir artışın KAH riskini yaklaşık erkeklerde %60, kadınlarda %80 oranında arttırdığı tahmin edilmektedir. Buna göre İsviçre Kalp Çalışması'ndaki hastalarda, tHcy düzeyleri (kontrol vakalarında $9,1\pm 3,2\mu\text{mol/l}$, üç damar hastalığı olan vakalarda $12,4\pm 5,4\mu\text{mol/l}$) ile KAH güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (181). Hiperhomosisteinemi normal populasyonun %5-10'unda görülür (244-247). Hiperhomosisteineminin, ailesel KAH eğilimi olan iki kardeşte tanımlamasından (182) bu yana toplumda özel genotiplerin hiperhomosisteinemiye tetikleyebileceği soruları arttırmıştır. Bu hipotezlerle, birçok çalışmada (182-185) fonksiyonel gen polimorfizmleri ile tHcy ve KV hastalıklar arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. MTHFR'nin sık saptanan mutasyonu olan C677T, MTHFR termolabil varyant, beyaz ırkta %40'a kadar saptanabilmektedir. Her iki allelde mutasyon saptanan (TT genotipi) olgularda heterozigot olanlara göre daha yüksek tHcy düzeyleri saptanmıştır (184). Graham ve arkadaşları, KAH olan olguların %14'ünde ailesel hiperhomosisteinemi olduğunu tahmin etmektedirler (186).

c) Homosisteinin Aksiyon Mekanizması

Plazma homosisteini hızla nitrik oksit (NO) (endotelial NO sentaz tarafından üretilir) tarafından temizlenerek S-nitroz-homosistein ile sonuçlanır. Bu bileşiğin NO işlevi (güçlü vazodilatasyon, glukoz metabolizmasının regülasyonu, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu, trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu) vardır (187, 188). Hiperhomosisteinemi ve yüksek düzey tHcy, in vivo endotel disfonksiyonu, trombosit aktivasyonu, trombüs formasyonundan sorumludur (189-192). Homosistein plazmaya eklendiğinde hızla homosistein-tiyolakton formuna, homosistin ve karışık disüflitlere dönüşür ve direk ya da dolaylı olarak reaktif oksijen türlerini artırır (193). Vazokonstriksiyon, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonu, lipit peroksidasyonu, vasküler düz kas proliferasyonu ve protrombotik durum gibi aterotrombojenik etkilere neden olur. İlginç bir şekilde, homosistein mitokondriyal fonksiyonu değiştirir ve mitokondriyal aracılıklı hücrel apoptoze sebep olur (194). Şekil 2.4.'de tHcy'nin aterosklerotik etkisi özetlenmiştir (261).



Şekil 2. 4. Homosistein ile uyarılmış endotel disfonksiyonun patofizyolojisi (261)

Plazmada homosistein hızla homosistein-tiyolakton formuna, homosistin ve karışık disüflitlere otookside olur. Direk ya da homosistein-tiyolaktone dönüşür ve homosistin aracılı mekanizmayla homosistein, LDL nin oksidasyonu ile köpük hücre oluşturur ve reaktif oksijen türlerini artırır (VSMC: vasküler düz kas hücre proliferasyonu, NO: nitrik oksit, eNOS: endotelial NO sentaz; NF- Kb: nükleer faktör kappa-B).

2.3.3.Genetik Risk Faktörleri

Kardiyovasküler hastalıkların ailesel kümelenmesi aterosklerozun genetik yatkınlığının önemini açıkça göstermektedir. Dolayısıyla ateroskleroz patogenezini daha iyi anlamak ve yeni tedavi stratejileri geliştirebilmek için, genler ve genetik değişiklikler yoğun bir şekilde araştırılmalıdır.

Monogenik hastalıklar, prematür KKH ve inmenin oldukça nadir sebeplerindedir. Ateroskleroz, çevresel faktörlerin yanı sıra, çeşitli genlerdeki allelik çeşitliliğin görüldüğü, poligenik ve multifaktöriyel bir hastalıktır. İstatiksel olarak KKH ve inme ile belirgin ilişki saptanan asosiasyon çalışmalarında çok sayıda allel tespit edilmiştir. Ancak, olguların büyük çoğunluğunda ilişki majör neden olarak temsil edilmemektedir ve kardiyovasküler risk üzerinde tek polimorfizmin sadece küçük bir etkisi vardır (196, 196). Bunlardan dolayı, kardiyovasküler riski genetik olarak taramak için kullanılacak genetik belirteçler henüz saptanmamıştır. Gelecekte; kardiyovasküler risk değerlendirilmesinde, biyokimyasal testler ve klinik değerlendirme ile genetik belirteçlerin kullanıldığı multiallelik ve multiparametrik testler kombine edilebilecektir.

Aterosklerotik damar hastalığı için tanımlanan tüm bu risk faktörlerine ek olarak, Türk Kardiyoloji Derneği'nin 2002'de yayınladığı Koroner Kalp Hastalığı Korunma ve Tedavi Kılavuzunda yer alan koroner kalp hastalığı risk faktörleri ise aşağıdaki gibi belirlenmiştir: (197)

1. Yaş (erkeklerde ≥ 45 , kadınlarda ≥ 55 veya erken menopoz)
2. Aile öyküsü (birinci derece akrabalarından erkekte 55, kadında 65 yaşından önce KAH bulunması)
3. Sigara içiyor olmak
4. Hipertansiyon (kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg veya antihipertansif tedavi görüyor olmak)
5. Hiperkolesterolemi (total kolesterol (T-Kol) ≥ 200 mg/dl, LDL-K ≥ 130 mg/dl)
6. Düşük HDL-K değeri (< 40 mg/dl)
7. Diyabetes mellitus (diyabet bir risk faktörü olmanın yanısıra, koroner kalp hastalığı varlığına eşdeğer bir risk taşıdığından risk değerlendirmesinde ayrı bir yeri vardır.)

2.4. Miyokard İnfarktüsü

Miyokard infarktüsü koroner arterin tamamen tıkanması ve şiddetli iskemi sonucu 15-20 dakika sonra gelişir. Tıkalı koroner arterin beslediği alanda şiddetli iskemi ilk olarak subendokardiyal alanda gözlenir ve epikardiyal alana doğru ilerler (198). Ayrıca iskemik nekroza yatkınlık kişisel farklılıklar gösterir. Miyokardın

iskemi öncesi durumu, oksijen sunumu ve ihtiyacı bu farklılığı belirleyen unsurlardır. MI genellikle aterosklerotik plak rüptürü sonucunda açığa çıkan doku faktörünün kan dolaşımındaki faktör VII ile birleşmesi ve trombosit agregasyonunun intrakoroner tromboza yol açması ile oluşmaktadır. Tromboz oluşumundan sorumlu aterosklerotik lezyonun çoğu kez anjiyografik olarak çok ciddi darlık oluşturmeyen bir plak olduğu gösterilmiştir. Ancak tamamen normal koroner arterleri olan bireylerde de ciddi vazospazm veya emboli sonucunda akut miyokard infarktüsü gelişebileceği bilinmektedir. Klinik bulgular miyokard iskemisinin genişliği ve şiddetine göre değişir. Akut koroner sendrom başlığı altında klinik bulgular, elektrokardiyografi ve biyokimyasal belirteçler kullanılarak üç ayrı klinik tanımlama yapılmıştır:

1. ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsü (STEMI)
2. ST Elevasyonu Olmayan Miyokard İnfarktüsü (NSTEMI)
3. Stabil Olmayan Anjina Pektoris (NSAP)

Kollateral perfüzyonun olmadığı durumlarda tam koroner oklüzyonun varlığı, STEMI ya da NSTEMI ile sonuçlanır (199).

Miyokard enfarktüsünün klinik seyri klasik veya atipik olabilmektedir. Çoğu hastada 30 dakika veya daha fazla süren, göğüs orta kısımda, sternum altında, ani başlayan, oldukça şiddetli, göğüste baskı, sıkışma veya ezilme hissi gibi tariflenebilen ağrı mevcuttur. Ağrı kollara, çeneye veya sırtta yayılabilmektedir. Beraberinde bulantı, kusma, terleme ve anksiyete mevcuttur. Tanıda en önemli araçlardan biri elektrokardiyografidir. Elektrokardiyografinin duyarlılığı %60'ı, özgüllüğü %90'ı geçmemektedir (200). Yaklaşık olarak hastaların %10'unda normal elektrokardiyografi saptanabilmektedir. Bu yüzden klinik öykü halen asıl tanı aracı olmaya devam etmektedir. İskemik halde bekleyen ve nekroz gelişmeye başlayan miyokard hücrelerinden salınan enzimler ve bazı proteinler de klinikte tanı amacıyla kullanılmaktadırlar. İlk olarak miyokarddan salındığı saptanan enzimler kreatin kinaz ve kreatin kinaz MB formudur. Bu enzimlerin normal değerlerinin iki katından fazla artmaları, miyokard hasarının kanıtı olarak kabul edilmektedir. Daha sonraları tanımlanan troponin-I ve troponin-T proteinleri, kreatin kinaz enzimlerine göre daha erken dönemde plazmada saptanmaktadırlar ve tanı koymada daha duyarlıdırlar.

Semptomların başlamasından 8 saat sonrasında bakılan troponin T %84 hassasiyet ve %81 özgüllük ile MI tanısı koydurabilmektedir. Akut miyokard enfarktüsü şüphesi varsa olabildiğince hızlı tanı konulmalıdır. Çünkü hem bu hastaların ani ölüm oranları çok yüksektir, hem de kaybedilen zaman aynı zamanda miyokard kaybı demektir. Miyokard enfarktüsü bir insanın hayatını tamamen değiştirecek nitelikte öneme sahip bir olaydır. Aynı zamanda bu hastalıkta bireyin erken emekliliği, iş gücü kaybı, rehabilitasyon ve koroner revaskülarizasyon giderleri gibi önemli toplumsal sosyoekonomik problemler de ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak aterosklerozun geriletilmesi, muhtemel miyokard enfarktüslerini de azaltması açısından önemli bir aşamadır (201).

2.4.1. Miyokard İnfarktüsü Tanısı

Amerikan Kardiyoloji Birliği, Avrupa Kardiyoloji Topluluğu ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayınlanan ve günümüzde tüm dünyada kabul edilen akut, gelişmekte olan veya yakın zamanda meydana gelen miyokard infarktüsü kriterleri:

Miyokard nekrozu biyokimyasal belirteçlerinin 99.persantil üst referans limitinin en az bir değer üstüne tipik yükselişi ve/veya inişine ilave olarak aşağıdakilerden en az 1 tanesinin olması:

1-a- İskemik semptomlar

b- EKG'de patolojik Q dalgası oluşumu

c- İskemiye işaret eden EKG değişikliği (ST segment elevasyonu ya da çökmesi)

d-Yeni gelişen miyokard canlılığının kaybının veya bölgesel duvar hareket kusurunun görüntüsel kanıtlarının varlığı

2- Akut miyokard infarktüsünün patolojik bulgularının varlığı

Miyokard infarktüsü tanısı için kriter 1 veya kriter 2'den herhangi birisinin varlığı yeterlidir (202).

2.5.Koroner Kalp Hastalığı ve Miyokard İnfarktüsünün Genetiği

Klasik 'Mendelyen' genetik hastalıklarda tek bir gen sorumludur. Bu gende oluşan nadir mutasyonlar hastalığa sebep olan protein konsantrasyonunda ya da fonksiyonundaki dramatik değişiklik ile sonuçlanır. Çevresel faktörlerin rolü ya çok

azdır ya da hiç yoktur. Buna karşılık, trombosit agregasyonuna sebep olabilecek trombosit yüzeyinde lokalize olan bir reseptörü kodlayan bir gendeki polimorfizm, MI gibi kompleks hastalıklarda görülebilir. Bu tek polimorfizm MI riskini artırır ama tek başına hastalığı oluşturmak için yetersizdir ve bu polimorfizme sahip bireylerin çoğunluğunda da MI gelişmez. Ancak, genetik olmayan risk faktörleri üst üste olduğu zaman, koroner arterdeki aterosklerotik plak rüptürü gibi, olgularda protrombotik polimorfizm de mevcut ise hastalığın eşiği geçilir ve olgularda oklüsif koroner trombüs ve akut MI gelişebilir.

2.5.1.Miyokard İnfarktüsünün Genetik Belirteçleri

Birçok çalışma; akrabalarında MI nedenli ölümün görüldüğü bireylerde sağlıklı kontrollere göre MI hastalığının daha yüksek oranda gözlemlendiğini belirtmiştir (203, 204). İkiz ve evlatlık çalışmaları, koroner arter hastalığı (KAH) ve vasküler ölüm ile belirgin genetik ilişkinin olduğunu doğrulamışlardır ve monozigotik ikizi KAH nedeniyle ölen bireylerde KAH'ndan ölüm riskinin sekiz kat arttığını saptamışlardır (205).

Böylece KKH'nın genetik bir bileşeninin olabileceği kanıtı gerçekçidir ve KKH aile öyküsü MI için bir risk faktörüdür.

A) Bağlantı Analizleri

Bağlantı analizleri, ailelerde bilinmeyen hastalık nedeni olan allellere yakın bilinen polimorfik DNA belirteçleri ile birlikte segregasyonuna dayanır. Restrüksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), polimorfik mikrosatellit lokusu ve tek nükleotit polimorfizmlerinin (SNP) kullanımı doğru bir şekilde haritalamaya olanak sağlamıştır. Ancak, bağlantı analizleri yanlış pozitiflik oranlarının yüksek olması nedeniyle kompleks hastalıklarda pek başarı sağlayamamıştır (206). Buna karşılık, populasyon ilişkili çalışmalar ile hastalıkla ilişkisiz bireyler hastalığın gözlemlendiği bireylerle karşılaştırılarak hastalık ilişkili olabilecek aday genler araştırılmaktadır. Bu yaklaşım kompleks genetik hastalıkların araştırılmasında en sık kullanılmaktadır. Aynı anda, daha büyük ve daha fazla sayıda aday genin yüksek verim ile araştırılmasına olanak sağlamaktadır (207).

B) İlişkilendirme Çalışmaları

Genetik ilişkilendirme çalışmalarının hayati önem taşıyan kısıtlılıkları vardır. Genetik heterojenite sonucunda farklı genotipler ile aynı fenotip oluşabilir. Allelik heterojenite ile de aynı gendeki farklı alleller aynı hastalığa sebep olabilir. Aterosklerozun ve akut MI'nın genetik belirleyicileri çok farklı olabilir. Genel olarak, kısıtlandırılmış ve iyi tanımlanmış olgularda altta yatan genetik katkının tespit edilmesi daha kolay olacaktır. Moleküler biyoloji çalışmaları ile hastalığın altında yatan gerçek patofizyolojinin çözümlenmesi gerekmektedir. Lusic ve ark. KVH'a sebep olabilecek yüzlerce genin bulunduğunu tahmin etmektedir (208). Aynı zamanda, araştırmacılar, birçok yaygın genotipleme ile hastalıkla ilişkili olabilecek genetik polimorfizmler saptamışlardır (209).

2.5.2.Aday Genler

A) Glikoprotein IIIa

İlk genetik varyantlardan biri glikoprotein (Gp) IIIa reseptöründeki P1A2 allelindeki protrombotik polimorfizmdir. Bu protein, trombositlerin yüzeyinde bulunan ve trombosit agregasyonuna aracılık eden GpIIb/IIIa reseptöründeki anahtar subünitidir. Akut koroner sendrom olan vakalar ve sağlıklı kontrol grubu ile yapılan bir vaka- kontrol çalışmasında, P1A2 allel taşıyıcılarında AKS risk artışı saptanmıştır (odds ratio [OR]: 2.8; 95% confidence interval [CI]:1,3–5,9) (210). Daha sonra yapılan çalışmalar P1A2 alleli ile pematür MI, stent trombozu ve restenoz arasındaki ilişkiyi desteklemişlerdir (211). Cesaret verici bu ilk çalışmalara rağmen daha sonra yapılan geniş çaplı vaka-kontrol çalışmaları MI ve P1A2 alleli arasında bir ilişki gösterememişlerdir (212). Bu durum önemli ve ilişkili noktaları işaret etmektedir. Protrombotik polimorfizmlerin gerçek etkisi yaklaşık %10-20 civarında artmış risk olarak tanımlanmaktadır.

B) Anjiotensin Konverting Enzim

Araştırılan bir diğer gen de anjiotensin konverting enzim (ACE) genidir. Sağlıklı kişilerde ACE düzeyi büyük oranda sabit kalmakla birlikte, aile bireyleri arasında benzerlik, farklı kişiler arasında değişkenlik gösterir. Cambien ve

arkadaşları, kişiler arasındaki farklılığın genetik kaynaklı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. NANCY çalışmasında, aile içindeki fertlerin ACE düzeyleri arasında korelasyon bulunmuştur. Bu bulgular ACE düzeyini belirleyen major bir genin olduğu izlenimini vermektedir. Aynı çalışmada, farklı kişiler arasında ACE ekspresyonunda değişiklikler görülmesi, ACE genindeki polimorfizmin belirlenmesi gereğini ortaya koymuştur (213). ACE geni insan genomunun 17q23 lokusunda bulunan 26 ekson ve 21 Kb ağırlığına sahip gendir. Onaltıncı introndaki 287 baz çiftinin olup olmamasına bağlı olarak "İnsersiyon / Delesyon (I/D)" polimorfizmi oluşmaktadır. ACE I/D polimorfizminin MI ve restenozda önemli bir rol oynadığı şüphelidir. Birçok küçük çaplı vaka- kontrol çalışmaları çelişkili sonuçlar vermiştir. Belfast MONICA çalışmasında da ölüm nedeni kesin veya şüpheli MI olan kişilerin otopsi sonuçları, bu kişilerde DD genotipinin kontrollerden sık olduğu saptanmıştır (214). Japonya'da yapılan bir çalışmada ise ACE geni DD genotipinin KAH gelişmesinde önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (215). İşbir ve arkadaşları ile Akar ve arkadaşlarının yapmış oldukları farklı iki çalışmada, Türk popülasyonunda, koroner arter hastalığı olan hastalarda D allel sıklığının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır (216, 217). Tokgözoğlu ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada, anjiyografik olarak değerlendirilen Türk popülasyonunda ACE DD genotipi ile koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü arasında bir ilişki saptanmamış ancak ACE DD genotipli hastalarda koroner ateroskleroz yaygınlığı önemli şekilde daha fazla bulunmuştur (218).

C) Endotelial Nitrik Oksit

Ateroprotektif bir molekül olan endotelial nitrik oksiti kodlayan, *eNOS* geninde 10 SNP saptanmıştır. Japonya'da yapılan bir vaka- kontrol çalışmasında, Glu298Asp SNP taşıyıcıları ile MI arasında belirgin ilişki olduğu savunulmuştur (OR:1.5; 95% CI:1.2–1.8) (219). Japon ve İngiliz toplumunda yapılan vaka- kontrol çalışmaları da bu SNP 'in homozigot formunu taşıyan bireylerde MI riskinin arttığı saptanmıştır (220, 221). Ancak, diğer çalışmalar MI ile bu SNP'in ilişkisini gösterememişlerdir (222, 223). KAH ile ilişkiyi saptayan bir çalışma bulunmamaktadır.

D) Östrojen Reseptör

Epidemiyolojik çalışmalar erkeklere kıyasla premenopozal kadınların göreceli olarak KVH gelişiminden korunduklarını göstermişlerdir. Bu farklılık östrojenin ateroskleroz, tromboz ve inflamasyon üzerindeki etkilerine atfedilmiştir. Bu ilişki basit değildir çünkü klinik çalışmalar hormon terapisinin MI ve inme riskinde artışla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (224). Östrojen reseptörleri makrofajlarda, vaskler düz kaslarda ve vasküler endotelyal hücrelerde eksprese edilir ve östrojen bağımlı ve östrojen bağımsız mekanizmalarla aktive edilebilir. Çeşitli çalışmalar ESR1 (östrojen reseptör) genindeki polimorfizmlerle erkek ve kadınlardaki KVH ile ilişkiyi araştırmışlar ve değişken sonuçlar saptamışlardır (225, 226).

E) Lipit Metabolizması

Lipitler KAH ilerlemesinde kritik bir role sahiptir. Bu merkezi rolden dolayı lipit metabolizmasında bulunan enzim ve lipoproteinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler sıklıkla araştırılmaktadır.

a) Apolipoprotein E

Apolipoprotein E (apoE) çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin bir bileşenidir ve karaciğer üzerindeki reseptörlere bağlanma yoluyla kandaki kolesterolde önemli rol oynar. ApoE nin 3 izoformu bilinmektedir, *APOE* ϵ 2, ϵ 3 ve ϵ 4 allelleri tarafından kodlanan sırasıyla apoE2, apoE3 ve apoE4. ϵ 4 alleli LDL düzeylerinin yüksekliği ile ilişkilidir ve erkeklerde (OR:1.53; $p=0.04$) ve kadınlarda (OR:1.99; $p=0.05$) KKH riskini artırır (227). Dokuz çalışmanın meta analizlerinde, ϵ 2 alleli KKH riski artışı ile ilişkili olmadığı (OR:0.98; 95%CI:0.85–1.14) ϵ 4 alleli ile ilişkili olduğu (OR:1.26; 95% CI:1.13–1.41) belirtilmiştir (228).

b) Kolesterol Ester Transfer Proteini

Kolesterol ester transfer proteini (CETP); HDL'den LDL'ye kolesterol esterlerin transferini katalize eder. CETP'nin pro ya da antiaterojenik olup olmadığı tartışma konusu olmaya devam etmektedir. B1 homozigot bireylerde B2 homozigot olanlara göre HDL düzeyi 5mg/dL daha yüksektir. B1 taşıyıcıları koroner

ateroskleroz ilerlemesi daha hızlıdır ve B1 homozigot bireylerde pravastatin tedavisi, ateroskleroz ilerlemesini yavaşlatmada daha etkindir (229).

c) Lipit Metabolizmasında Diğer Aday Genler

Chasman ve ark. lipit metabolizması ile ilgili 10 aday gendeki 148 SNP'in incelenmesi sonucunda HMG-CoA redüktaz geni (HMGCR) nde iki SNP'i ($r^2 = 0.90$) belirgin ilişkili saptamışlardır (230).

F) Protrombotik Polimorfizmler

Akut koroner sendromların intrakoroner tromboz nedeniyle oluştuğu göz önüne alındığında koagülasyon kaskadındaki proteinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler ile ilişkinin araştırılması önem kazandı. İnsan Faktör V geni 1.kromozomundadır (1q21-25). İnsan Faktör V geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda çeşitli mutasyonlar belirlenmiştir. Bunlar içerisinde trombofiliyle en sık ilişkilendirilenler Faktör V (G1691A) ve Faktör V (H1299R) mutasyonlarıdır. Her iki mutasyon da aktive edilmiş protein C rezistansı ile ilişkili olarak tromboza eğilimi arttırdığı saptanmıştır (231). Türk populasyonunda FVL (FV G1691A) mutasyonu en sık mutasyonlardan biri olarak bildirilmiştir ve FVL mutasyonunun sıklığı %7-10 arasında verilmiştir (232). Homozigot FVL mutasyon prevalansı % 0,02-0,12 arasında olduğu hesaplanmıştır. Homozigot FVL mutasyonuna sahip hastalarda tromboz görülme riski heterozigotlardan daha fazladır. FVL mutasyonuna sahip heterozigot hastalarda tromboz riski sağlıklı bireylere göre 7, homozigotlarda ise 80 kat daha fazladır (231, 232). Bununla birlikte kardiyovasküler sağlık çalışmasının erişkinler üzerinde yapmış olduğu inceleme sonucunda FVL mutasyonunun tek başına inme, TIA, miyokard infarktüsü veya anjina gibi koroner kalp hastalıkları için bir risk faktörü oluşturmadığını bildirmişlerdir (233). İzole protrombin yüksekliği de tromboz riskini artırmaktadır. Protrombin düzeyi %11,5'dan büyük olduğunda tromboz riski 2,1 kat artmaktadır. Bugüne kadar yapılan araştırmalar PT20210 G-A değişiminin klinik olarak derin ven trombozu, serebral ven trombozu, oral kontraseptiflere bağlı trombüslerde özellikle 40 yaş altı miyokard infarktüslerinde olmak üzere 50 yaş altı grupta mutlaka araştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur (231, 232). Araştırmacıların özellikle koagülasyon (fibrinojen, faktör II, V ve VII),

trombosit fonksiyonları (GpIa ve GpIIIa), fibrinoliz (PAI-1, faktör XIII) ve homosistein metabolizmasında (MTHFR) mevcut olan proteinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin hastalık ile ilişkisini saptamaya yönelik çalışmaları devam etmektedir.

G) Metilentetrahidrofolat Redüktaz

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metyonini remetile ederek homosistein metabolizmasını katalize eden bir enzimdir. 1988 yılında Kang ve ark. (183) homosistein konsantrasyonunu yükseltme ve enzimatik aktivitenin düşmesiyle ilişkili olan MTHFR'nin termolabil varyantını tanımlamıştır. Birkaç yıl sonra, Frosst ve ark. 677 C/T ya da Ala222Val polimorfizmlerini tanımladı (234). Biri İrlanda'dan ve diğeri Hollanda'dan yapılan iki vaka-kontrol çalışmasında bu varyant allellerin homozigot olmasının KAH riskinde belirgin artışa neden olduğu önerilmiştir (235, 236). Ancak, Kuzey Amerika merkezli bir çalışmada KAH ile MTHFR arasında bir ilişki bulunamamıştır (237).

a) MTHFR Enziminin Yapısı ve Görevi

Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR), metilen tetrahidrofolat dehidrogenaz (MTHFD), metionin sentaz (MS), metionin sentaz redüktaz (MTRR) homosistein metabolizmasında rol oynayan enzimlerdir (234). Bu enzim aktivitelerinin eksikliği hiperhomosisteinemi ve homosistinüri ile sonuçlanır. MTHFR, 656 aminoasitten oluşan flavoprotein olup folat metabolizmasında görevli önemli bir enzimdir. Enzim sitoplazmik bir proteindir ve iki alt birimden oluşan homodimer yapıdadır. Memeli enzimi kendisine nonkovalent olarak bağlı FAD (Flavin Adenozin Dinükleotit) koenzimi içerir. Bu koenzim, NADPH'ın metilentetrahidrofolata transferini sağlar (234, 238). MTHFR enzimi, homosisteinin remetilasyon döngüsünde görev yapar. MTHFR enzimi, 5-10 MTHF'ı geri dönüşümsüz olarak 5 MTHF'ye dönüşümü katalize eder. 5 MTHF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. Bunun için 5 MTHF, metil grubunu vererek homosisteinin dönüşümünde rol oynar. 5-10 MTHF ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'ye okside olmaktadır. 5,10 MTHF'in 5 THF'a remetilasyonu sonucunda;

b) MTHFR Geni

İnsan MTHFR geni kromozom 1p36.3'de lokalizedir, MTHFR enzimini kodlar ve bu genin N-terminal ucunun yapısı tamamen açıklanamamıştır (236). İnsan MTHFR geninin cDNA'sı 1994'te izole edilmiş ve cDNA sekansının yaklaşık 2,2 kb büyüklüğünde olduğu ve 11 ekzon içerdiği saptanmıştır (239). MTHFR geninin promoteri diğer genlere oranla daha az sayıda TATA'ya sahiptir. Tek karbon döngüsünde yer alan diğer enzimlerin genleri de bu şekildedir. Bu enzimler arasında metiyonin sentaz, metiyonin sentaz redüktaz, sistasyon b sentaz, timidilat sentaz ve dihidrofolat redüktaz yer almaktadır. Bu tür promoterler zayıftır ve düşük kopya sayılı mRNA transkripsiyonuna sahiptir (242).

c) MTHFR Geni Polimorfizmleri

İnsan ve fare MTHFR geni üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda MTHFR geninde 15 farklı mutasyon belirlenmiştir (239). Yaygın olarak C677T ve A1298C gen varyantları tanımlanmış olup diğer polimorfizmlerin ise 1059, 1317 ve 1793 bç noktalarında olduğu rapor edilmiştir. Bu polimorfizmler C677T ve A1298C varyantlarına göre daha az gözlenmektedir ve bu polimorfizmlerin fonksiyonel ilişkileri henüz yeteri kadar araştırılmamıştır (241).

d) MTHFR Geni C677T Polimorfizmi

C677T polimorfizmi MTHFR proteinin N terminal katalitik bölgesini etkileyen 4. ekzonda meydana gelir (242). Bu polimorfizmde, MTHFR enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan C (Sitozin)'in T (Timin)'e dönüşmesi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonu vardır. Bu mutasyon, alanin aminoasitinin yerine valin aminoasitinin geçmesine neden olur ve MTHFR enzim aktivitesi azalır (237) ve homosistein düzeylerinde artışa neden olur. MTHFR C677T polimorfizmi sıklığı ırka ve coğrafi bölgeye göre büyük değişiklik gösterir. T677T oranı Amerika'daki siyah popülasyonda ve Güney Amerika'da %1 iken Avrupa'daki beyaz toplumda, Kuzey Amerika'da ve Avustralya'da %6-20'dir. Avrupa'da kuzeyden güneye doğru görülme sıklığı artmaya meyillidir (243). Türkiye'de yapılan çalışmalarda homozigot mutasyon oranı %5, heterozigot mutasyon oranı ise %35 olarak bildirilmiştir (244).

Bir başka çalışmada da beyaz ırkın %60'ı MTHFR allelini taşıdığı ve bunun %5-15'inin de homozigot olduğu belirtilmiştir (246). MTHFR'nin 677 mutasyonunda, CC (Alanin/Alanin) homozigot normal, CT (Alanin/Valin) heterozigot ve TT (Valin/Valin) homozigot mutant genotipler görülmektedir (234, 246, 247). MTHFR'nin C677T polimorfizminin; kardiyovasküler hastalıklar, nöral tüp defektleri, inme, Down Sendromu, diabetes mellitus, migren, meme ve endometrial kanser gibi hastalıklarda bir risk faktörü olabileceği açıklanmıştır (234, 247, 248).

Yapılan çeşitli araştırmalarda, MTHFR 677 TT genotipli hastalarda, akut lösemi, kolorektal ve akciğer kanserlerine yakalanma riskinin azaldığı, endometrial kanserlerine ise yakalanma riskinin arttığı ileri sürülmüştür (245, 246). MTHFR 677 mutasyonunda, MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir. MTHFR eksikliğinde, homosisteinden metiyonin oluşumundaki bir bozukluk, organizmayı hem metiyonin (S-adenozilmetiyonin) azalmasına hem de homosistein birikiminden doğan toksik etkilere maruz bırakır. C677T mutasyonunda, MTHFR aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir. Enzim aktivitesi %30 civarındadır. Koroner, periferik ya da serebral vasküler hastalığı olan 190 Hollandalı hastada yapılan araştırmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (234, 245-247). Jee ve ark.'nın bir çalışmasında Japonya'da kardiyovasküler hastalıkların artışı ile 677 CT polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (247).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, homozigot TT genotipi ile esansiyel hipertansiyon (EH) ve koroner arter hastalığı arasında bir ilişki saptanmıştır. Ek olarak KAH olan bireylerde saptanan TT genotipinin plazma homosistein seviyeleri CC ve CT genotipleri ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. MTHFR geni polimorfizminin KAH için olmasa da EH için bağımsız bir risk faktörü olduğunu bulmuşlardır (250).

e) MTHFR Geni A1298C Polimorfizmi

MTHFR geninde belirlenen diğ er bir mutasyon da, enzimi kodlayan gende 1298. nükleotid olan A (Adenin)'in → C (Sitozin)'e değ işimi sonucu Glutamin'in Alanin'e değ işimine neden olan nokta mutasyonudur. Bu mutasyon sonucu MTHFR proteinin C terminal bölgesinde glutamat alanine dönüşmektedir (251). Bu mutasyonda da diğ er mutasyon tipinde olduğu gibi MTHFR aktivitesi azalır. A1298C polimorfizminin plazma homosistein konsantrasyonundaki artışı, C677T polimorfizmi kadar etkilemediğ i ileri sürülse de, bu polimorfizmin önemi henüz tam olarak açıklanamamıştır (252). Enzim aktivitesi %65 civarındadır. Homosisteinin kardiyovasküler hastalıkların gelişimindeki öneminin yanında A1298C mutasyonunun da kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olabileceğ i düşünülmektedir (234, 246, 247).

MTHFR A1298C polimorfizmi için, çeşitli ülkelerde C1298C genotip sıklığı %1-12 arasında değ işir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada C1298C genotip sıklığı %6 olarak tespit edilmiştir (253).

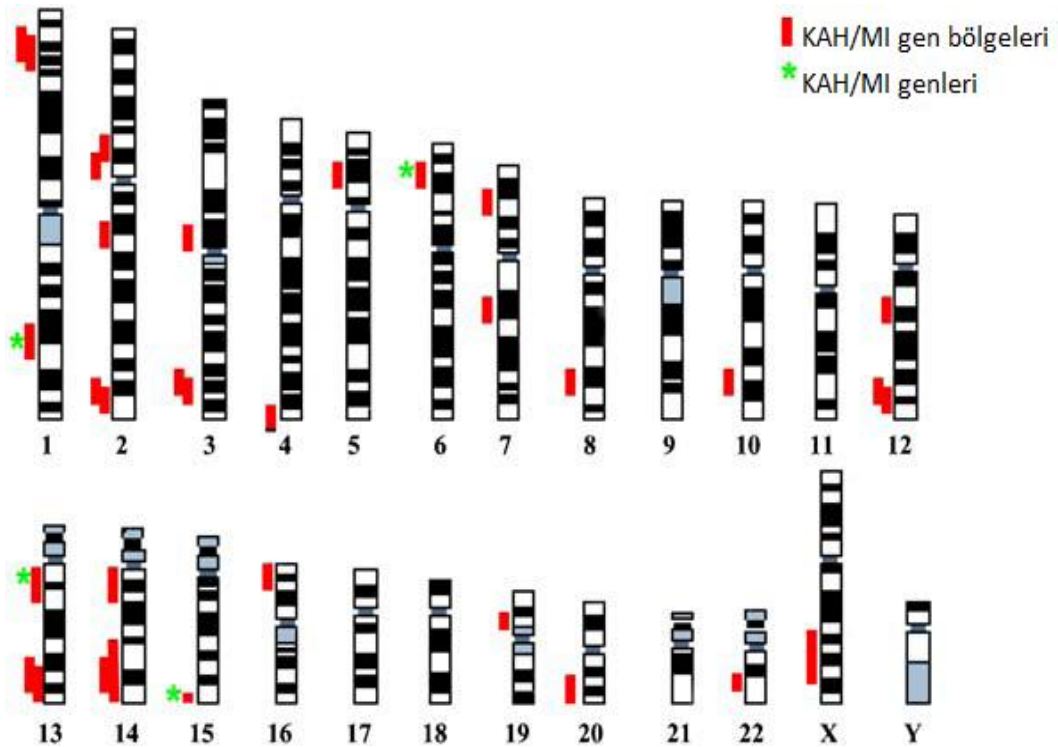
f) MTHFR Geni A1298C ve C677T Plimorfizmlerinin Kombinasyonu

MTHFR A1298C ve C677T mutasyonunun sıklığı popülasyonlara göre önemli farklılık göstermektedir (249). A1298C ve C677T mutasyonlarının birlikte heterozigot olduğu durumda, MTHFR enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır. Bu aktivite, C677T mutasyonunun heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür (246, 247, 249). Van Der Put ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, her iki mutasyon bakımından çift heterozigot olan (A1298C/C677T) bireylerde total plazma homosistein konsantrasyonunun önemli derecede arttığını belirtmişlerdir. A1298C mutasyonu, MTHFR enziminin C-uç regülatör bölgesinde meydana gelmesine karşılık, C677T mutasyonu genin N-uç katalitik bölgesinde meydana gelmekte ve bu nedenle A1298C mutasyonlu bireylerde MTHFR enzim aktivitesindeki azalma C677T mutasyonlu bireylerin enzim aktivitesinden daha az olmaktadır. 677 TT genotipi, termolabil MTHFR enzim özelliğ ine sahiptir (240). 1298 AC mutasyonunda azalan enzim aktivitelere rağmen ısı inkübasyonundan sonra 1298 AC genotipleri arasında artan aktivasyon yüzdesinde önemli bir farklılık görülmediğ i

için, bu polimorfizmin enzimin termostabilitesini etkilemediği bildirilmiştir (249, 254).

2.5.3. Miyokard İnfarktüsü ve Koroner Arter Hastalığında Genom Çalışmaları

Tüm genomu içeren analiz yaklaşımı, herhangi bir genin fenotipe yansıyıp yansımayacağı bilinmediğinden her türlü hipotezden bağımsızdır. Tüm insan genomu boyunca kısa aralıklarla yerleşmiş olan genetik belirteçleri inceleyerek, bir hastalığa sebep olan genin bölgesi yüksek olasılıkla belirlenebilir. Bir çalışmada, kromozom 14 üzerinde bir lokus tanımlanmıştır (255). Şekil 2.6.'da tam bir insan genomunun şematik görünümü bulunmaktadır. Bu şekil üzerinde KAH veya miyokardiyal infarktüs ile bağlantılı ve bu metodla şimdiye kadar tanımlanmış olan gen bölgeleri işaretlenmiştir (256). Hastalığa sebep olan genleri tanımlayabilmek için bu kromozomal bölgeler üzerinde daha ileri çalışmaların yapılması gerekir.



Şekil 2.6. İnsan genomunun sistematik gösterimi.

(Genom çalışmaları ile saptanmış kromozomal KAH/ miyokard infarktüsü gen bölgeleri (kırmızı) ve miyokard infarktüsü genleri (yeşil) ile gösterilmektedir) (255)

2.5.4. Geniş Multilokus Çalışmalar

2002 yılında Yamada ve arkadaşları; MI hastalarında, akraba olmayan 5061 olguda, 71 aday gende, 112 polimorfizmin araştırıldığı geniş bir genetik asosiasyon çalışması yayınladılar (257). Eşik değeri $p < 0.1$ olarak kabul edilerek, erkeklerde 19 aday polimorfizm, kadınlarda 18 aday polimorfizm saptadılar. İlginç bir şekilde, bu polimorfizmlerden sadece dördü her iki cinsiyette ortaktı. Takip eden çalışmada, araştırmacılar 111 aday gende 210 SNP taradılar (258). Genlerden 40 tanesinde daha önce bulunan ilişki tanımlandı. Bu grupta, apoE (APOE), ACE (ACE), faktör 7 (F7), fibrinojen (FGB), glikoprotein Ib (GP1BA), interlökin-1 reseptör antagonist (IL1RN), LDL 1-ilişkili protein (LRP1), MTHFR, selektin P (SELP) ve trombopoetin (THPO)'den oluşan 10 genin, KAH ya da MI ile belirgin ilişkili olduğu saptanmıştır.

Şu anda, KKH için risk faktörü olarak kabul edilebilecek bir genetik belirtecin olmadığı açıktır. Tüm araştırmalarda, KKH ve MI olgularında olası genetik belirteçlerin saptanması ve kesinleştirilmesiyle, uygun tedavi seçeneklerinin geliştirilerek morbidite ve mortaliteyi azaltmak ana hedefdir.

2.5.5. Polimorfizm Kavramı

Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel denir. Allel değişikliği-allelilik varyant terimi bir hastalığın fenotipini etkileyebilmesine rağmen hastalığa neden olmayan farklılıklar olarak kabul edilir. Bir lokustaki allel frekansı 0.01'den fazla gözleniyorsa bu allel dizi değişikliğine polimorfizm adı verilir. Polimorfizm örnekleri çoğunlukla DNA'nın kodlanmayan bölgelerinde yer alır. Bu değişimler hastalığa neden olan bir genin içinde veya çok yakınında da yer alabilir. Bu durumda polimorfizmin kalıtımı hastalığın tanısında yardımcı olabilir. Polimorfizmlerin yaklaşık %90'ını oluşturan ve insan genomunun çeşitliliğinin etkeni olan tek nükleotit polimorfizmleri (SNP) belirli hastalıklara yatkınlığın durumunu değiştirebilir (300).

2.5.6. Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri

Restriksiyon endonükleaz (RE) enzimleri bakterilerde doğal olarak çok miktarda bulunan enzimlerdir. RE enzimlerinin, DNA molekülünde spesifik olarak

tanıdıkları diziler mevcuttur. DNA molekülünde mutasyon ya da polimorfizmden kaynaklanan dizi değişiklikleri, RE tanıma bölgesinin ortadan kalkmasına ya da yeni tanıma bölgesinin oluşmasına neden olmaktadır. Hedef DNA bölgesinin RE enzimi ile kesilmesi ile oluşan ve uzunlukları farklı olan DNA fragmentleri Restriksiyon Fragmentinin Uzunluk Polimorfizmleri (RFLP) olarak adlandırılır. Bu fragmentler, Southern blot ve DNA dizileme gibi farklı yöntemler ile saptanabilir. RFLP'ler birçok hastalıkta kalıtsal bir belirteç olarak kullanılmaktadır.

RFLP'ler delesyon, insersiyon veya SNP'ler sonucunda meydana gelmektedir. SNP'lerin saptanmasında PCR-RFLP yönteminden yararlanılabilir. Bu yöntemde incelenecek polimorfik bölge, bu bölgeye spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltılır. Sonra uygun RE enzimi ile PCR ürünü kesilir ve elde edilen fragmentler agaroz jel elektroforezinde yürütülerek analiz edilir (301).

Çalışmamızda, Eskişehir bölgesinde; STEMI geçiren hasta ve sağlıklı kontrol gruplarından alınan periferik kandan elde edilen DNA örneklerinden, PCR-RFLP yöntemi ile MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerini araştırdık.

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Araştırma Grubu Bireyleri

Çalışmamız, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalına başvuran, klinik, laboratuvar ve EKG olarak ST elevasyonlu MI tanısı konulan olgular ile gerçekleştirilmiştir. Hastaların yaşları 32 ile 87 arasında dağılmaktadır. Çalışmanın kontrol grubu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalının belirlemiş olduğu, kendisinde ve ailesinde koroner ateroskleroz hastalığı olmayan, sağlıklı, yaşları 29 ile 90 arasında değişen gönüllü bireylerden oluşturulmuştur. Hastalar ve kontrol grubu, bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldıktan sonra çalışmaya alınmıştır. Çalışmamızda, 100 STEMI tanılı hasta ve 100 kontrol grubu kanı kullanılmıştır.

Çalışmamız için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 06.07.2010 Tarih ve 2010/118 sayılı onay alınmıştır.

Çalışmaya dâhil edilen grubun klinik özellikleri, EKG sonuçları, biyokimyasal sonuçları (lipit profili, homosistein düzeyi) hasta dosyalarından edinilmiştir. Olgularda koroner arter hastalığı açısından risk oluşturabilecek aile öyküsü, sigara ve alkol kullanımı, diyabet ve hipertansiyon varlığı, vitamin kullanımı sorgulanmıştır.

Her türlü sigara veya benzeri ürün kullanımı, 20 adet ve daha az, 20'den fazla olarak gruplandırılmış ve düzenli sigara içimi olan her hastanın sigara öyküsü pozitif kabul edilmiştir.

Antihipertansif ajan kullanımına bakılmaksızın hastalarda STEMI öncesi yaşamının herhangi bir bölümünde hipertansiyon olduğunu bildiriyorsa hipertansiyon öyküsü pozitif kabul edilmiştir.

Antidiyabetik bir ajan kullanılması diyabet öyküsü açısından pozitif kabul edilmiştir. Ayrıca tüm hastaların dosyalarındaki kayıtlı verilerinde bulunan açlık serum glikoz değerleri değerlendirilmiş ve glikoz değeri 126 mg/dl ve üzerinde ise

diyabet öyküsü pozitif kabul edilmiştir. Diyabet tanısı için kullanılan eşik değer Amerikan Diyabet Derneği'nin kriterlerine göre belirlenmiştir.

Kolesterol yüksekliği nedeni ile herhangi bir ajan kullanan veya kolesterol yüksekliği olduğunu belirten hastalarda dislipidemi öyküsü pozitif kabul edilmiştir. Ayrıca tüm hastaların dosyalarındaki kayıtlı verilerinde bulunan total kolesterol düzeyi 200 mg/dl ve üzeri olan, LDL düzeyi 130 mg/dl ve üzeri olan veya HDL düzeyi 40 mg/dl altında olan hastaların da dislipidemi öyküsü pozitif kabul edilmiştir. Dislipidemi için kullanılan sınır değerler Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Korunma ve Tedavi Kılavuzu (2002)'na göre belirlenmiştir.

Birinci derece akrabalarında, erkeklerde 55 ve kadınlarda 65 yaşından önce koroner arter hastalığı geçiren bireylerin aile öyküsü pozitif kabul edilmiştir.

Olgular obezite açısından değerlendirilmiş ve BMI hesaplanmıştır. BMI'nin 18,5 kg/m² den az olması düşük kilo; 18,5-24,9 kg/m² olması normal; 25,0-29,9 kg/m² olması pre-obez (fazla kilolu); 30,0-39,9 kg/m² olması obez; 40 kg/m² ve üzeri ise morbid obez olarak değerlendirilmiştir.

Tüm hastalardan ve kontrol grubundan genetik analiz için EDTA'lı tüpe, 3 cc venöz kan örneği alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan Gereçler

PCR aleti (thermal cycler) (PE GenAmp PCR System 9700)

Jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (Gene Genius)

Elektroforez aleti (Consort E844)

Elektroforez için güç kaynağı (EKR)

Hassas terazi (Setra)

Pipet takımı (Gilson)

Mikrosantrifüj (Eppendorf)

Pastör pipeti

Su banyosu (Nüve)

Vorteks (Heidolph)

Mezür (100'lük 1000'lik)

Beher (250'lik, 500'lük)

Deep-freeze (Arçelik)

Mikrodalga fırın (Arçelik)
Buzdolabı (Arçelik)
Falkon tüpü (50'lik)
Ependorf Tüpü (1,5 ml'lik)
PCR tüpleri (strip) (Perkin Elmer)
Toplama tüpü (QIAGEN)
Spin kolonu (QIAGEN)
Mini soğutucu
Enjektörlük bidistile su
EDTA'lı tüp

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Agaroz (İnvitrogen)
dNTP seti (QIAGEN)
EDTA (dihidrat)
Etanol (95%)
Etidyum Bromid (Sigma E-1510)
Moleküler Weight Marker (Fermentas)
Taq DNA polimeraz (Biotools, AppliedBiosystems)
Hinf I restriksiyon enzimi (Fermentas)
Mbo II restriksiyon enzimi (Takara)

3.2. Yöntemler

3.2.1. DNA İzolasyonu

Olgulara ait kan örnekleri, pıhtılaşmayı engellemek amacıyla etilendiamintetraasetik asitli (EDTA) tüplere alındı ve DNA izolasyonu yapıncaya kadar +4°C'de saklandı. DNA örnekleri E.Z.N.A. DNA izolasyon kiti ile aşağıda verilen işlem basamakları uygulanarak izole edildi.

E.Z.N.A. DNA izolasyon kitinin içeriği

SOLÜSYON	MİKTAR
HiBind DNA kolon	200 adet
2 ml Santrifüj Tüpleri	600 adet
Buffer BL	60 ml
Wash Buffer (Konsantre)	2 x 60 ml
HB Buffer	110 ml
Elution Buffer	100 ml
Proteaz enzimi	4 x 70 mg

İşlem Basamakları

1. Örneğin isim ve DNA numarası bilgileri steril ependorf tüpe ve takip listesine yazılarak kayıt altına alındı.
2. Her bir kan örneğinden 250 µl alınıp 1,5 ml'lik steril ependorf tüplere konuldu.
3. Üzerine 250 µl Buffer BL ve 25 µl Proteaz enzimi eklenip 15 sn vortekslendi.
4. Tüpler sıcak su banyosuna yerleştirildi ve oluşan lizat solüsyonu 55°C'de 20 dakika inkübe edildi.
5. Sıcak su banyosundan alınan tüplere 260 µl etanol (%100) ilave edilip 15 sn vortekslendi.
6. Tüp içeriği 2 ml'lik santrifüj tüplerine yerleştirilmiş HiBind DNA spin kolona aktarıldı.
7. Tüpler 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
8. Santrifüj tüpleri atıldı ve spin kolon yeni bir santrifüj tüpüne yerleştirildi.
9. Üzerine 500 µl HB Buffer eklendi.
10. Tüpler 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
11. Santrifüj tüplerindeki sıvı döküldü, aynı tüp içine yerleştirilen spin kolon üzerine 650 µl Wash Buffer ilave edildi ve 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.

12. Santrifüj tüpleri atıldı ve spin kolonlar yeni santrifüj tüplerine yerleştirilip 650 µl Wash Buffer ilave edildi.
13. Tüpler 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
14. Tüpler değiştirilmeden bir kez daha 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek artıkların tamamen spin kolondan ayrılması sağlandı.
15. Spin kolonlar 1.5 ml'lik steril tüplere yerleştirildi ve üzerine 100 µl 70°C'de bekleyen Elution Buffer eklendi.
16. Tüpler 70°C'de 5 dakika inkübe edildi.
17. Tüpler 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
18. Tüpler değiştirilmeden 100 µl Elution Buffer eklendi ve 70°C'de 5 dakika inkübe edilip 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
19. Spin kolonlar atıldı ve son volümü 200 µl olan DNA örneği elde edildi.
20. İzolasyon sonrası elde edilen her örnek için DNA miktar ve saflık tayini spektrofotometre kullanılarak ölçüldü.
21. DNA örnekleri etiketlenerek -20°C'de saklandı.

3.2.3. MTHFR geni C677T ve A1298C Polimorfizmlerinin PCR-RFLP Yöntemiyle Belirlenmesi

A) İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR İle Amplifikasyonu

Hinf I enzimi ile kesim için MTHFR 677. baz çiftini içeren gen bölgesi amplifikasyon karışımı;

ddH ₂ O	24,4 µl
10xPCR buffer	5 µl
dNTP mix	0,4 µl
primer F	4 µl
primer R	4 µl
Taq pol	0,2 µl
DNA	7 µl
MgCl ₂	2,5 µl

+ -----
50 µl

Mbo II enzimi ile kesim için MTHFR 1298. baz çiftini içeren gen bölgesi amplifikasyon karışımı;

ddH ₂ O	31,8 µl
10xPCR buffer	5 µl
dNTP mix	1 µl
primer 1	1,5 µl
primer 2	1,5 µl
Taq pol	0,2 µl
DNA	5 µl
MgCl ₂	4 µl
	+ -----
	50 µl

MTHFR geni için kullanılan amplifikasyon şartları

94 °C de 2 dakika → Başlangıç denatürasyonu

94 °C de 30 saniye denatürasyon

61 °C de 20 saniye bağlanma

72 °C de 30 saniye uzama

} 35 döngü

En sonunda 72°C de 5 dakika tutularak ürünün arttırılması sağlanmıştır.

MTHFR Kullanılan primer dizileri

677. baz çiftini içeren bölge için;

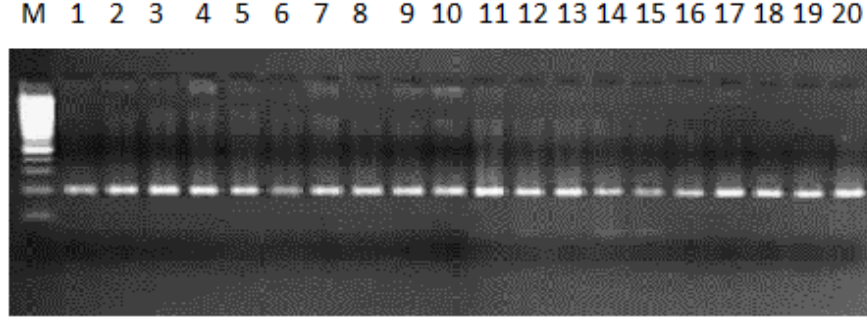
F: 5'- AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG- 3'

R: 5'- TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA- 3'

1298. baz çiftini içeren bölge için;

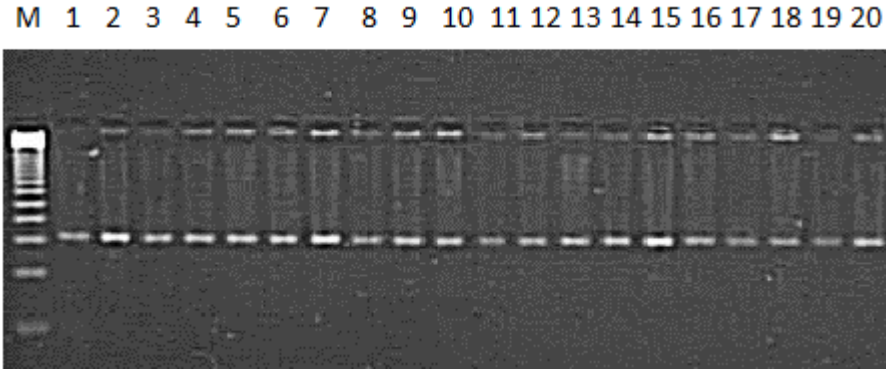
F: 5'- CTT TGG GGA GCT GAA GGA CTA CTA C- 3'

R: 5'- CAC TTT GTG ACC ATT CCG GTT TG- 3'



Şekil 3.1. MTHFR 677. baz çiftini içeren gen bölgesi amplifikasyon ürünleri

(M: marker [100'lük], 1-20 örnekler)



Şekil 3.2. MTHFR 1298. baz çiftini içeren gen bölgesi amplifikasyon ürünleri

(M: marker [50'lik], 1-20 örnekler)

B) Amlifikasyon Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleazlarla Kesimi

a)MTHFR Geni 677. Baz Çiftini İçeren Bölgenin Hinf I Enzimi İle Kesimi

15 µl'lik PCR ürününe 2,5 µl enzim buffer, 0,5 µl enzim ve 7 µl ddH₂O eklenmiş, 37 °C 16 saat inkübe edilerek kesim yapılmıştır.

Hinf I Digest Buffer	→ 2,5 µl	}	37 °C de 16 saat inkübasyon
Hinf I enzim	→ 0,5 µl		
ddH ₂ O	→ 7 µl		
PCR ürünü	→ 15 µl		
+-----			
25 µl			

b) MTHFR Geni 1298. Baz Çiftini İçeren Bölgenin Mbo II Enzimi İle Kesimi

20 µl'lik PCR ürününe 1 µl enzim buffer, 0,5 µl enzim ve 3,5 µl ddH₂O eklenmiş, 37 °C 16 saat inkübe edilerek kesim yapılmıştır.

Mbo II Buffer	→ 1 µl	}	37 °C de 16 saat inkübasyon
Mbo II enzim	→ 0,5 µl		
ddH ₂ O	→ 3,5 µl		
PCR ürünü	→ 20 µl		
+-----			
25 µl			

C) Enzim Kesim Ürünlerinin Agoroz Jel Elektrofözezi İle Ayrılması

PCR örneklerinin Hinf I, Mbo II restriksiyon enzimleri ile kesimlerinden sonra oluşan ürünlerin incelenmesi için %3 lük ultra pure agoroz jeli hazırlanarak örnekler agoroz jel elektrofözezi yöntemine tabi tutulmuştur. %3 lük agoroz jel için hazırlanan agoroz mikrodalga fırın kullanılarak yüksek ısıda 1XTBE solüsyonu içinde çözdürülmüştür. Çözeltinin soğuması beklenerek içerisine konsantrasyonu 0,5 µl/ml olacak şekilde etidyum bromür eklenmiştir.

-Elektrofözeze başlamadan önce tank, taraklar ve jel yatağı temizlenip, tankın benç üzerindeki dengesi ayarlanmış, tarak ve jel küveti tanka yerleştirilip, hazırlanan

jel küvete dökülmüştür. Jel donduktan sonra tank 1×TBE çözeltisi ile doldurulmuştur.

-20 µl PCR ürünü alınıp, üzerine 2,5 µl 6X lik yükleme tamponundan konarak karıştırılmış ve jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir.

-Yükleme işlemi bittikten sonra elektrodlar yerleştirilerek 90 voltta yürütülmüştür.

-Elektroforez tamamlandıktan sonra jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi ile incelenerek görüntüsü alınmıştır.

D) Jelin Görüntüleme Cihazı İle Değerlendirilmesi

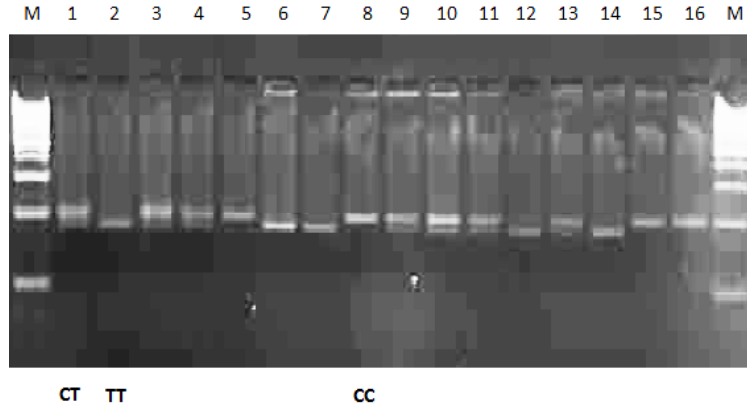
Kesilen DNA örnekleri agaroz jel elektroforeziyle ayrılmış ve jel görüntüleme sistemi yardımı ile Hinf I enzimi ile kesim sonucuna göre CC, CT, TT; Mbo II enzimi ile kesim sonucuna göre AA, AC, CC genotipleri tanımlanmıştır. Sonuçlara göre bireyler homozigot yabancıl tip, heterozigot, homozigot mutant olarak adlandırıldı. (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerinin PCR ürünleri ve RFLP uygulandıktan sonra enzim kesim ürünlerinin genotiplere göre dağılımı

Çalışılan Polimorfizm	Kullanılan Restriksiyon Enzimi	PCR Ürünü	Normal Genotip Enzim Kesim Ürünleri	Heterozigot Genotip Enzim Kesim Ürünleri	Homozigot Genotip Enzim Kesim Ürünleri
MTHFR C677T	Hinf I	198 bç	198 bç (CC)	198 bç 175 bç 23 bç (CT)	175 bç 23 bç (TT)
MTHFR A1298C	Mbo II	163 bç	56 bç 31 bç 30 bç 28 bç 18 bç (AA)	84 bç 56 bç 31 bç 30 bç 28 bç 18 bç (AC)	84 bç 31 bç 30 bç 18 bç (CC)

E) MTHFR Geninin 677. Baz Çiftini İçeren Bölgenin Hinf I Enzimi İle Kesim Sonucu

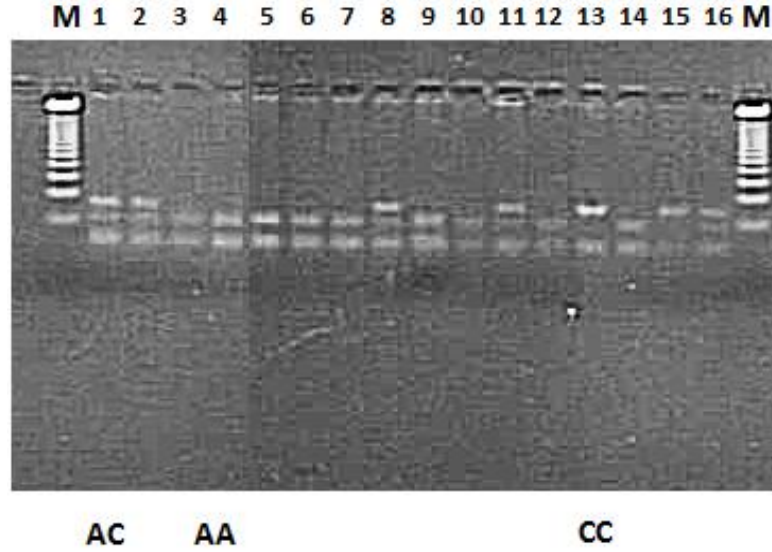
Elektroforez sonrası oluşan 198 bç'lik PCR ürününün Hinf I RE ile kesimi sonucu, kesim bölgesinin olup olmamasına ve kesim sonucu oluşan fragmentlerin büyüklüğüne göre bireyler; CC (198 bç), CT (198 bç, 175 bç, 23 bç) ve TT (175 bç ve 23 bç) olarak adlandırılmıştır. (Şekil 3.3.)



Şekil 3.3. Hinf I enzimi ile MTHFR geni kesim sonucu
(M: marker [100'lük], 1-16 örnekler)

F) MTHFR Geninin 1298. Baz Çiftini İçeren Bölgenin Mbo II Enzimi İle Kesim Sonucu

Elektroforez sonrası oluşan 163 bç'lik PCR ürününün Mbo II RE ile kesimi sonucu, kesim bölgesinin olup olmamasına ve keism sonucu oluşan fragmentlerin büyüklüğüne göre bireyler; AA (18bç, 20bç, 28bç, 31bç, 56bç), AC (18bç, 28bç, 31bç, 31bç, 56bç, 84 bç), CC (18bç, 30bç, 31bç, 84bç) olarak adlandırılmıştır. (Şekil 3.4.)



Şekil 3.4. Mbo II enzimi ile MTHFR geni kesim sonucu
(M: marker [50'lik], 1-16 örnekler)

G) Kullanılan Çözeltiler

a) Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltileri

-%3'lük Ultra Pure Agaroz jel Hazırlanması:

- 9 gram ultra pure agaroz tartılıp bir beher içinde 1XTBE solüsyonu ile 300 ml ye tamamlanmış ve mikrodalga fırında %100'lük güçten %10'luk güce kadar kademeli olarak azaltılarak 5 dakika kaynatılmıştır.

- 20X TBE Stok Solüsyonunun Hazırlanması;

121 gr Tris (1M), 61,7 gr borik asit (1M) ve 7,44 gr EDTA(20mM) tartılarak, 1000 ml distile su içerisinde karıştırıcı yardımı ile çözündürülmüştür.

H) Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences) istatistik programı kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Aralarında önemli fark bulunan değişkenlerin Koroner Arter Hastalığı üzerine olan risk faktörleri lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi. Sonuçların %95 güven aralıkları belirlendi. Çalışma verileri değerlendirilirken belirtici istatistikler kullanıldı (Ortalama, Standart sapma). Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk's testi ile analiz edildi. Ölçümsel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenler Student

t testi ile normal dağılım göstermeyen değişkenler ise Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ önemlilik düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya ESOGÜ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalına başvuran, klinik, laboratuvar ve EKG olarak ST elevasyonlu MI tanısı konulan 100 hasta ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalının belirlemiş olduğu, kendisinde ve ailesinde koroner ateroskleroz hastalığı olmayan, sağlıklı 100 birey dâhil edildi. Çalışmamıza dâhil edilen olgular aterosklerotik risk faktörlerinin dağılımı açısından incelendiğinde, hasta ile kontrol grubu arasında önemli farklılıklar gösterdiği bulunmuştur.

Hasta grubunda yaş $57,88 \pm 12,53$, kontrol grubunda ise $56,67 \pm 12,30$ olarak tespit edildi. Hasta grubunda 32-87 yaş arası, kontrol grubunda 29-90 yaş arasında yaş dağılımı izlendi. Demografik veriler incelendiğinde; hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından fark saptanmadı ($p > 0,05^{ns}$).

Her iki grupta risk faktörleri açısından göze çarpan farklılıklar izlenmektedir.

Hipertansiyon sıklığı hasta grubunda kontrol grubuna göre önemli olarak yüksek saptandı (%14, %3, $p < 0,05^*$).

Diabetes Mellitus sıklığına bakıldığında hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark gözlenmedi (%2, %5, $p > 0,05^{ns}$).

Hiperlipidemi açısından incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında çok ileri düzeyde fark saptandı (%33, %9, $p < 0,001^{***}$).

Gruplar obezite açısından değerlendirildiğinde önemli fark saptanmadı (hasta %15, kontrol %7; $p > 0,05^{ns}$).

Multivitamin kullanımı açısından değerlendirilen hasta ve kontrol grubu arasında önemli farkın olmadığı gözlemlendi (%14, %16, $p > 0,05^{ns}$).

Alkol kullanımı açısından değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında önemli fark gözlenmedi (%3, %7, $p > 0,05^{ns}$).

En önemli risk faktörlerinden biri olan sigara hasta ve kontrol gruplarında incelendiğinde, gruplar arasında aktif sigara içiciliği açısından çok ileri düzeyde fark olduğu saptandı (%47, %16, $p < 0,001^{***}$).

Ailede koroner kalp hastalığı öyküsü varlığı açısından incelendiğinde hasta grubunda kontrol grubuna göre ileri düzeyde fark olduğu saptandı (%23, %8, $p < 0,01^{**}$).

Homosistein düzeyleri; hasta grubunda $12,44 \pm 4,86$ (min-maks:6-36) ve kontrol grubunda $9,92 \pm 2,39$ (min-maks:5,24-18,83) olarak saptandı ve gruplar arasında çok ileri düzeyde fark olduğu belirlendi ($p < 0,001^{***}$).

Tablo 4.1. Grupların risk faktörlerinin dağılımı

		HASTA	KONTROL	P DEĞERİ
Cinsiyet (Kadın/Erkek)		20/80	26/74	$P > 0,05^{ns}$
Yaş		$57,88 \pm 12,53$	$56,67 \pm 12,30$	$P > 0,05^{ns}$
HT		14 (%14)	3 (%3)	$P < 0,05^*$
DM		5 (%5)	2 (%2)	$P > 0,05^{ns}$
Hiperlipidemi		33 (%33)	9 (%9)	$P < 0,001^{***}$
Aile Öyküsü		23 (%23)	8 (%8)	$P < 0,01^{**}$
Sigara	İçmiyor	33 (%32)	70 (%68)	$P < 0,001^{***}$
	$20 \geq$ adet	42 (%73,7)	15 (%26,3)	
	$20 <$ adet	5 (%8,3)	1 (%1,7)	
	Bırakmış	20 (%58,8)	14 (%41,2)	
Alkol		3 (%3)	7 (%7)	$P > 0,05^{ns}$
BMI	Normal	85 (%85)	93 (%93)	$P > 0,05^{ns}$
	Preobez	14 (%14)	7 (%7)	
	Obez	1 (%1)	0	
Homosistein		$12,44 \pm 4,86$	$9,92 \pm 2,39$	$P < 0,001^{***}$
Multivitamin Kullanımı		16 (%16)	14 (%14)	$P > 0,05^{ns}$

Hasta grubunun total kolesterol düzeyleri 120 ile 263 arasında değişmekte olup ortalama $167,84 \pm 30,498$ ' dir. LDL düzeyleri 36 ile 201 arasında değişmekte olup ortalama $104,34 \pm 28,718$; HDL düzeyleri 20 ile 52 arasında değişmekte olup ortalama $38,29 \pm 7,352$ ve trigliserid düzeyleri 41 ile 265 arasında değişmekte olup ortalama $116,08 \pm 48,265$ ' dir.

Tablo 4.2. Hastaların Lipit Profillerinin Dağılımı

	Ortalama±St. Hata	Min – Maks
Total Kolesterol	167,84±30,498	120 – 263
LDL	104,34±28,718	36 – 201
HDL	38,29±7,352	20 – 52
TG	116,08±48,265	41 – 265

MTHFR geni 677 CT ve 677 TT polimorfizmleri incelendiğinde hasta grubunda %28/%12 ve kontrol grubunda %32/%4 olarak saptandı. Tüm populasyon göz önünde tutulduğunda 677 CT polimorfizminin sıklığı %30 ve 677 TT polimorfizminin sıklığı %8 olarak belirlendi. Gruplar arasında önemli fark izlenmedi ($p>0,05^{ns}$).

MTHFR geni 1298 AC ve 1298 CC polimorfizmleri incelendiğinde hasta grubunda %45/%9 ve kontrol grubunda %40/%10 olarak saptandı. Tüm populasyonun 1298 AC polimorfizminin sıklığı %42,5 ve 1298 CC polimorfizminin sıklığı %9,5 olarak belirlendi. Gruplar arasında önemli fark saptanmadı ($p>0,05^{ns}$).

Tablo 4.3. MTHFR 677 C→T ve 1298 A→C polimorfizmlerinin hasta ve kontrol grupları içerisinde dağılımı

MTHFR C677T					
Grup		CC	CT	TT	Total
Grup	Kontrol	64 (%64)	32 (%32)	4 (%4)	100 (%100)
	Hasta	60 (%60)	28 (%28)	12 (%12)	100 (%100)
Total		124 (%62)	60 (%30)	16 (%8)	200 (%100)
MTHFR A1298C					
Grup		AA	AC	CC	Total
Grup	Kontrol	50 (%50)	40 (%40)	10 (%10)	100 (%100)
	Hasta	46 (%46)	45 (%45)	9 (%9)	100 (%100)
Total		96 (%48)	85 (%42,5)	19 (%9,5)	200 (%100)

Hasta ve kontrol gruplarında A1298C polimorfizmi ile C677T polimorfizmi birlikte değerlendirildiğinde; 1298. baz çiftinde AA genotipi olan bireylerde hasta ve

kontrol gruplarında; 677. baz çiftinde CC genotipi saptanan birey yüzdesi sırasıyla %22, %32; CT genotipi saptanan birey yüzdesi %16, %15; TT genotipi saptanan birey yüzdesi % 8, % 3; 1298. baz çiftinde AC genotipi olan bireylerde hasta ve kontrol gruplarında; 677. baz çiftinde CC genotipi saptanan birey yüzdesi sırasıyla %29, %22; CT genotipi saptanan birey yüzdesi %12, %17; TT genotipi saptanan birey yüzdesi % 4, % 1 ve 1298. baz çiftinde CC genotipi olan bireylerde hasta ve kontrol gruplarında; 677. baz çiftinde CC genotipi saptanan birey yüzdesi sırasıyla %9, %10 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda A1298C polimorfizminde CC saptanan bireylerde, C677T polimorfizminde CT ve TT saptanmamıştır. Tüm bu veriler hasta ve kontrol grubu içinde karşılaştırıldığında önemli fark bulunmamıştır.

Tablo 4.4. Gruplarda MTHFR C677 ve A1298C polimorfizmlerinin birlikte dağılımı

		Hasta	Kontrol	P değeri	OR CI
AA	CC	% 22	% 32	$p > 0,05^{ns}$	0,599 0,318 – 1,128
	CT	% 16	% 15	$p > 0,05^{ns}$	1,079 0,502 – 2,322
	TT	% 8	% 3	$p > 0,05^{ns}$	2,812 0,724 – 10,924
AC	CC	% 29	% 22	$p > 0,05^{ns}$	1,448 0,768 – 2,748
	CT	% 12	% 17	$p > 0,05^{ns}$	0,666 0,300 – 1,478
	TT	% 4	% 1	$p > 0,05^{ns}$	4,125 0,453 – 37,573
CC	CC	% 9	% 10	$p > 0,05^{ns}$	0,890 0,345 – 2,294
	CT	0	0	-	-
	TT	0	0	-	-

Gruplarda incelenen polimorfizmlerin allel frekansları ki-kare testi ile değerlendirildiğinde; C677T polimorfizmi için, T alleli hasta grubunda %26 olarak saptanırken, kontrol grubunda % 20 olarak belirlenmiş olup aralarında önemli fark saptanmamıştır ($p>0,05^{ns}$). A1298C polimorfizmi için; C alleli hasta grubunda %31,5 gözlenirken, kontrol grubunda %30 olarak saptanmış olup aralarında önemli fark bulunmamıştır ($p>0,05^{ns}$).

Tablo 4.5. Gruplarda MTHFR C677T ve A1298C allel frekansı dağılımı

		Hasta	Kontrol	χ^2	P
C677T	C	148 (%74)	160 (%80)	2,033	$p > 0,05^{ns}$
	T	52 (%26)	40 (%20)		
A1298C	A	137 (%68,5)	140 (%70)	0,106	$p > 0,05^{ns}$
	C	63 (%31,5)	60 (%30)		

Homosistein düzeyleri ile hasta ve kontrol gruplarının genotipleri birlikte değerlendirildiğinde C677T polimorfizmi için CC genotipi saptanan bireylerde homosistein düzeyleri açısından önemli olarak fark saptanmıştır ($p<0,05^*$). Ayrıca A1298C polimorfizminde AA genotipi saptanan hasta ve kontrol gruplar arasında homosistein düzeyi açısından çok ileri düzeyde fark saptanmıştır ($p<0,001^{***}$).

Bununla birlikte hasta grubunda; C677T polimorfizminde; TT ile CC saptanan bireyler arasında homosistein düzeyi açısından, önemli düzeyde fark saptanmıştır ($p<0,05^*$). Fakat hasta grubunda; CT ile CC ve CT ile TT saptanan bireyler arasında homosistein düzeyi açısından önemli fark saptanmadı ($p>0,05$). Kontrol grubunda da C677 polimorfizminde saptanan genotipler arasında homosistein düzeyleri karşılaştırıldığında, önemli düzeyde fark saptandı ($p<0,05^*$). CC ile TT ve CT ile TT genotipleri arasında homosistein düzeyi açısından fark saptanırken ($p<0,05^*$), CC ile CT genotipleri arasında fark saptanmadı ($p>0,05^{ns}$). Tüm grubun (hasta ve kontrol) MTHFR C677T polimorfizmi ile homosistein

düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde de TT genotipi ile hem CC, hem de CT genotipi arasında fark saptandı ($p < 0,05^*$). Bununla birlikte CC ile CT genotipleri arasında homosistein düzeyi açısından önemli fark saptanmadı ($p > 0,05^{ns}$).

Tablo 4.6. Homosistein düzeylerinin gruplarda MTHFR genotipine göre dağılımı

HOMOSİSTEİN ($\mu\text{mol/L}$)				
		HASTA	KONTROL	p Değeri
C677T	CC	11,53±4,97	9,61±2,46	$p < 0,05^*$
	CT	12,91±4,23	10,15±1,99	$p < 0,05^*$
	TT	15,96±4,20	13,12±2,29	$p > 0,05$
A1298C	AA	11,86±4,53	8,78±2,56	$p < 0,001^{***}$
	AC	12,77±5,47	9,84±1,53	$p > 0,05$
	CC	13,72±2,82	10,90±1,21	$p > 0,05$

Sonuç olarak;

- 1- ST elevasyonlu miyokard infarktüsü geçiren olgularda sigara içiciliği, aile öyküsünün varlığı, hipertansiyon, hiperlipidemi ve homosistein düzeyinin yüksekliği önemli risk faktörleri olarak göze çarptı.
- 2- MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri açısından değerlendirilen hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark izlenmedi. İki polimorfizmin de birlikte değerlendirilmesi ile de hasta ve kontrol grupları arasında önemli fark saptanmadı.
- 3- Hasta ve kontrol gruplarının MTHFR A1298C ve C677T polimorfizmlerinin genotipleri birlikte değerlendirildiğinde; C677T polimorfizminin TT genotipi saptanan STEMI geçiren hastalarda, A1298C polimorfizminin CC genotipi saptanan hastalara göre daha yüksek homosistein düzeyleri saptanmıştır.

5.TARTIŞMA

Ateroskleroz ve onun komplikasyonu olan akut miyokard infarktüsü (AMI), dünyanın pek çok ülkesinde olduğu gibi ülkemizde de mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Aterosklerozu başlatan ve ilerlemesine yol açan biyokimyasal ve hücrel olaylar tümüyle açıklanabilmiş değildir. Yaş, cinsiyet, sigara içimi, ailede iskemik kalp hastalığı öyküsü, hiperkolesterolemi, diyabetes mellitus ve hipertansiyon gibi endojen ve ekzojen faktörlerin herbiri ateroskleroz ve AMI riskini belirgin olarak artırmaktadır. Ancak bu faktörler olguların sadece bir bölümünü açıklayabilmektedir. KKH'nin önlenmesindeki stratejilerin geliştirilmesinde, risk faktörü kavramı ile klasik risk faktörlerine ek olarak yeni risk faktörleri tanımlanmaya çalışılmaktadır.

Tanımlanan yeni risk faktörlerinden biri de homosistein yüksekliğidir. Homosistein; endotele toksiktir, protrombotiktir, kollajen yapımını artırır. LDL kolesterolün oksitlenmesini sağlaması ve endotelden nitrik oksit salgılanmasını azaltması nedeni ile tromboza eğilimi artırır (192). Vitamin B12, vitamin B6 ve folik asit eksikliği, homosistein yükselmesi ile koreledir. Homosisteinemi; metionin metabolizmasındaki kalıtsal değişiklikler, metotreksat ve karbamazepin gibi folik asit antagonistlerinin alımı, hipotiroidi veya renal yetersizlikten dolayı oluşan homosistein metabolizmasındaki bozukluklar, diyetle yetersiz folik asit alımı gibi nedenlere bağlı olarak oluşabilir (263). Homosistein ve ateroskleroz ilişkisini araştıran çalışmalar sonucunda total homosistein düzeyindeki 5 mmol/L'lik bir artışın koroner arter hastalığı riskini, kolesterol düzeyindeki 20 mg/dL'lik bir artış kadar yükselttiği görülmüştür.

Hiperhomosisteinemi sonucunda oluşan koroner ateroskleroz, Avrupa'da meydana gelen ölüm olaylarının %46'sından sorumludur. MTHFR 677 C→T ve 1298 A→C polimorfizmleri MTHFR enzim aktivitesini azaltarak, hiperhomosisteinemiye neden olmakta ve bunun sonucunda da çeşitli klinik problemler ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle MTHFR geni, 677 C→T ve 1298 A→C polimorfizmleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır.

MTHFR gen polimorfizmlerinin tek başına ya da plazma homosistein düzeyleri üzerinden kardiyovasküler risk faktörü olarak değerlendirilebileceği tartışmalıdır. Çünkü sağlıklı bireylerde de bu polimorfizmlere rastlanılmaktadır.

Nitekim Avustralya, Kuzey Amerika ve Avrupa'da sağlıklı bireylerin % 37,8 – 51'inde heterozigot, %5,4-17'sinde ise homozigot MTHFR C677T mutasyonu görülmüştür (264). Wilcken ve ark. coğrafi ve etnik farklılıklara göre; Asya, Amerika, Orta Doğu ve Avustralya'nın da içinde bulunduğu Avrupa'nın 16 bölgesinden 7000'den fazla yenidoğanda MTHFR gen polimorfizmini incelemişler ve genotipin oldukça değişken olduğunu saptamışlardır. Bu polimorfizmin arteriyel hastalıklar için yaygın bir genetik risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (265). Frosst ve ark. MTHFR C677T mutasyonunun vasküler hastalıklar için bir aday risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (234). Fakat daha sonra elde edilen neticeler tartışmalıdır. İçlerinde meta-analiz de barındıran çalışmaların çoğu, bu tür bir bağlantıyı teyit edememişlerdir.

Çalışmamızda, Eskişehir bölgesinde; MTHFR geni C677T ve A1298C polimorfizmlerinin frekansını belirlemek, MTHFR gen polimorfizmlerinin miyokard infarktüsü ile ilişkisini saptamak, miyokard infarktüsünde bu polimorfizmlerin tanı koymadaki yerini belirlemek amacıyla, bilinen majör risk faktörlerini de gözden geçirerek, hastanemizde STEMI tanısı alan hastalarda MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda 677 C→T polimorfizmi için; hasta grubunun %60 oranında CC genotipli, %28 oranında CT genotipli ve %12 oranında TT genotipli olduğu, kontrol grubunun ise; %64 oranında CC genotipli, %32 oranında CT genotipli ve %4 oranında TT genotipli olduğu; 1298 A→C polimorfizmi için hasta grubunun %46 oranında AA genotipli, %45 oranında AC genotipli ve %9 oranında CC genotipli olduğu, kontrol grubunun ise; %50 oranında AA genotipli, %40 oranında AC genotipli ve %10 oranında CC genotipli olduğu saptandı. Çalışmamızın literatür ile karşılaştırılması Tablo 5.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. Çalışmamızın literatür ile karşılaştırılması, MTHFR C677T polimorfizmi ve koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki (TT allelin CC allele göre OR değerleri (%95 güven aralığında) verilmiştir.) (* işareti olan veriler $p<0,05^*$ olarak değerlendirilmiştir.)

Literatür		Genotip Sıklığı (MTHFR C677T)						OD	CI(%95)
		Hasta (sayı)			Kontrol (sayı)				
		TT	CT	CC	TT	CT	CC		
ASYA	Nakai (215)	42	95	93	21	96	81	1.74	0.95-3.18
	Morita (302)	57	188	117	79	361	338	2.08*	1.40-3.11
	Ou (273)	61	84	69	42	158	110	2.32*	1.41-3.80
AVUSTRALYA	Wilcken (265)	53	217	186	24	113	88	1.04	0.61-1.80
ORTA DOĞU	Mager (279)	19	32	16	44	139	130	3.51*	1.66-7.41
KUZAY AMERİKA	Brugada (276)	10	69	76	12	73	70	0.77	0.31-1.89
	Schwartz (271)	7	34	28	43	141	154	0.90	0.37-2.19
	Anderson (178)	23	87	90	59	238	257	1.11	0.65-1.91
	Malinow (179)	17	83	40	8	45	49	2.60*	1.02-6.65
AVRUPA	Verhoef (287)	13	59	59	7	48	45	1.42	0.52-3.84
	Abbate (285)	24	41	19	32	48	26	1.03	0.46-2.27
	Kluijtmans (236)	70	328	337	106	527	617	1.21	0.87-1.68
	Gallagher (235)	19	48	44	7	45	53	3.27*	1.26-8.49
	Tokgozoglu (218)	11	71	69	5	39	47	1.50	0.49-4.59
	Güleç (244)	15	39	42	5	35	60	4.29*	1.45-12.70
	Çalışmamız	12	28	60	4	32	64	3.20	0.97-10.46

Ülkemizde Yılmaz ve arkadaşları (266) tarafından MTHFR C677T polimorfizmi için 79 koroner arter hastası (damarında %50'den fazla darlık taşıyan) ve 93 sağlıklı kontrolle yapılan bir çalışmada ise; çalışmamızdan farklı olarak, hasta grubunun 677 C→T polimorfizmi için, %50,6 oranında CC genotipli, %40,5 oranında CT genotipli, %8,9 oranında TT genotipli olduğu; kontrol grubunun ise %46,2 oranında CC genotipli, %47,3 oranında CT genotipli ve %6,5 oranında TT genotipli olduğu bildirilmiştir. Çalışmamız ile benzer şekilde iki grup arasında MTHFR genotipleri açısından bir fark saptanmamış ($p>0,05$); hasta grubunda homosistein düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulunmuş, çalışmamızdan

farklı olarak ise bu yüksekliğin istatistikî olarak önemli olmadığı gözlenmiştir ($13,99 \pm 7,44$, $11,77 \pm 5,18$ $\mu\text{mol/l}$; $p > 0,05$). Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, serum homosistein konsantrasyonunda, hasta ve kontrol gruplarında, CC ve CT genotiplerine göre TT genotipinde; önemli yükseklik olduğu saptanmıştır ($p < 0,01$). MTHFR C677T mutasyonunun belirgin olarak hiperhomosisteinemi ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise Yılmaz ve arkadaşlarının sonuçlarından farklı olarak hasta ve kontrol grupları arasında homosistein düzeyleri açısından çok ileri düzeyde fark olduğu saptandı ($p < 0,001^{***}$). Yılmaz ve arkadaşlarının çalışması ile benzer olarak kontrol grubunun homosistein düzeyi, MTHFR 677 TT genotipinde CC ve CT genotiplerine göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0,05^*$). Hasta grubunda ise homosistein düzeyi açısından, MTHFR 677 TT genotipinde CC genotipine göre önemli düzeyde fark olduğu saptandı ($p < 0,05^*$). Farklı olarak, hasta grubunda CC ile CT ve CT ile TT genotipleri arasında homosistein düzeyleri açısından fark saptanmadı ($p > 0,05^{ns}$).

Meta-analiz çalışmaları Polonya, İspanya, Hollanda, Pakistan, Amerika ve Arap populasyonlarında da yapılmış (267-270) ve her populasyon için farklı genotip frekansları bulunmasına rağmen 677 C→T polimorfizmi için KKH olan hasta ve kontrol grupları arasındaki farklar bizim çalışmamızda olduğu gibi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Benzer şekilde Schwartz ve ark. miyokard infarktüsü geçiren Latin kökenli olmayan beyaz kadın ve kontrol grubu ile yaptığı çalışmada, bu polimorfizmin incelediği toplumda miyokard infarktüsü için bir risk faktörü olmadığını saptamışlardır (270).

Clarke ve arkadaşları; kontrollerle karşılaştırıldığında koroner arter hastalığı olan vakalarda daha yüksek homosistein düzeyleri olduğunu bildirmişlerdir (272). Ou ve arkadaşlarının 677 C→T polimorfizmi üzerine yaptıkları çalışmalar (273) neticesinde ise bizim çalışmamızla benzer olarak TT genotipinin total plazma homosistein seviyesini değiştirdiği yönünde sonuçlar bulmuşlardır. Bunlara göre TT genotipinin, heterozigot CT ve homozigot CC genotipi ile karşılaştırıldığında, plazma total homosistein seviyesini artırdığı gözlenmiştir. Çalışmamız ile paralel sonuçlar elde eden Brattström ve arkadaşları (274) 23 vaka-kontrol çalışması yaparak, çalışmalarında 5869 koroner arter hastası ve 6644 sağlıklı kontrol kullanmışlardır. Bu çalışmanın neticesinde TT genotipli bireylerin CC genotiplilere

göre homosistein miktarının belirgin derecede yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Fakat bu çalışmada hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında MTHFR genotipinin koroner arter hastalığı ile ilişkili olmadığı da bildirilmiştir. Çalışmamızda da kontrol ve hasta sayısının daha az olmasına rağmen benzer sonuçlar elde edilmiştir. Meksika popülasyonunda da, çalışmamızdaki gibi, STEMI hastalarında C677T genotipinin bağımsız bir risk faktörü olmadığını saptamışlardır.

A1298C polimorfizminin homosistein düzeyine etkisini araştıran Friedman ve arkadaşları da C1298C homozigot genotipine sahip olan bireylerde plazma total homosistein düzeyinin artmadığını rapor etmişlerdir (275). 1298 A→C polimorfizminin tek başına plazma homosistein düzeyini etkilemediği düşünülmektedir. Ayrıca bu polimorfizmin kalp hastalığı riskini arttırdığı yönünde bir çalışma bulunmamaktadır. Brugada ve ark. nın yaptığı çalışmada C677T mutasyonunun homozigotluğunun, hafif hiperhomosisteinemi ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (276). MTHFR geninin termolabil varyantının hafif hiperhomosisteinemiye etkisi saptanmıştır (277). Birçok çalışmada, mutasyonu homozigot taşıyanların homosistein düzeylerini 2-3 µmol/l arttırdığını göstermişlerdir (278). Bu çalışmaların aksine Van der put ve arkadaşları A1298C/C677T polimorfizmi olan bireylerde total plazma homosistein konsantrasyonunun önemli derecede arttığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da MTHFR genotipleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında bir fark saptanmamış olmakla birlikte ($p>0,05^{ns}$), homosistein düzeyleri açısından çok ileri düzeyde fark olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,001^{***}$). İlhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da çalışmamız ile benzer şekilde, MTHFR TT genotipi saptanan KAH hastalarında daha yüksek homosistein düzeyleri saptanmıştır (248).

Yapılan birçok çalışmada, hipertansiyon, hiperlipidemi ya da DM gibi bilinen diğer risk faktörleri olmamasına rağmen hafif hiperhomosisteinemi saptanan hastalarda C677T homozigotluğunun varlığı, prematür kardiyovasküler hastalık riskini 3 kat arttırdığı bulunmuştur (277, 279-281).

Frosst ve ark. plazma homosistein düzeylerinin TT genotipinde, CC veya CT genotipine göre belirgin yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu bulgular; plazma homosistein düzeylerinin yükselme eğiliminin sebebi olabilen MTHFR TT genotipinin KAH için bağımsız bir genetik risk faktörü olabileceğini önermektedir

(234).

Tokgözoğlu ve ark. TT genotipinin Türk populasyonunda KAH için bağımsız bir risk faktörü olmadığını, fakat plazma homosistein düzeyi ve ilişkili hastalıklar için önemli bir faktör olduğunu belirtmişlerdir (282). Bu çalışmada T allelinin sıklığı %15,0 olarak gözlenmekle birlikte Akar ve ark. nın yaptığı çalışmada bu sıklık %25,7 olarak belirtilmiştir (283). Yılmaz ve ark. nın KAH üzerinde yaptığı çalışmada da CC genotipinin sıklığı %52,0 olarak saptanmıştır (266). Farklı etnik populasyonlarda, T allelinin sıklığı %9,7 ve %53 arasında değişen bir dağılımdadır (284, 285). Bizim çalışmamızda da Akar ve arkadaşlarının çalışması ile benzer olarak T allelinin sıklığı hasta grubunda %26 ve kontrol grubunda %20 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızdan farklı olarak Japonya populasyonunda yapılan çalışmalarda MTHFR geninin polimorfizmleri ile kardiyovasküler hastalıklar ilişkilendirilmiştir. Kluijtmans ve arkadaşlarının kardiyovasküler hastalık ve kontrol grubunda yaptıkları çalışmalarda; MTHFR geninin homozigot mutasyonunu, prematüre kardiyovasküler hastalık açısından 3 kat artmış risk ile ilişkilendirmişlerdir (286). Morita ve arkadaşlarının anjiyografi ile koroner arter hastalığı saptanmış 362 Japon erkek hasta ve 778 kontrol ile yaptıkları çalışmada, C677T genotipi hasta grubunda önemli yükseklik saptanmıştır ve bu polimorfizmin koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olabileceğini önermişlerdir (302). Sonuç olarak MTHFR 677 C→T polimorfizminin Japonya populasyonu için bir risk faktörü olduğu düşünülmüştür. Kang ve arkadaşları da KAH ile termolabil MTHFR arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir (183). Klerk ve ark.'nın C677T polimorfizmi ile koroner kalp hastalığı riski arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yaptıkları meta-analizde, T677T genotipine sahip bireylerde koroner kalp hastalığı riskinde önemli bir artış olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlar da, folat metabolizmasındaki bozukluk sonucunda homosistein düzeyindeki yükseklik ile koroner kalp hastalığı riskinde artış ile sonuçlanan bu hipotezi desteklemektedir (287). Bizim çalışmamızda farklı sonuçların çıkmasının olası sebepleri arasında coğrafi ve etnik farklılıklar, beslenme alışkanlığı değişiklikleri, koroner arter hastalığı etyolojilerinin farklılıkları sayılabilir. Genotip frekanslarının farklı olması seçilen hasta ve kontrol gruplarının farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızdaki bir diğer farklılık da hasta

grubunun STEMI geçiren bireylerden oluşturulmuş olmasıdır. Hasta grubumuzu bu şekilde belirlemiş olmamızdaki amaç genotiplemenin oldukça özgün bir grupta yapılmasını sağlamaktır.

Ülkemizde koroner risk faktörü profilinin incelendiği en önemli çalışma TEKHARF çalışmasıdır. Bu çalışmada risk faktörleri olarak hipertansiyon, sedanter yaşantı, hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemi, sigara içimi, obezite ve diyabet saptanmıştır (2).

Aterosklerozla ilgili en yaygın ve en önemli düzeltilebilir majör risk faktörü olan dislipidemi, plazma lipitlerinin anormal düzeyde olması olarak tanımlanır. Yaygın lipit anormallikleri arasında total kolesterol, LDL kolesterol, ve TG yüksekliği, HDL kolesterol düşüklüğü yer alır. Bu anormallikler tek başına veya kombine halde bulunur. Bagient ve arkadaşlarının yayınladığı bir meta-analizde, LDL kolesteroldeki her 1 mmol/lit'lik düşüşün, tüm nedenli ölümlerde %12 gibi ciddi düzeylerde düşüşe neden olduğu ortaya konmuştur. Bu oran, 5 yıllık tedavi sonucu koroner mortalitede %19, miyokard infarktüsü ve koroner ölümlerde %23, inmede %17'lik bir düşüşe karşılık gelmektedir (288).

HDL seviyesinde her 1 mg/dl'lik artışın ise KAH riskini % 2-3 oranında azalttığı bilinmektedir (289). VAHIT çalışması, KAH olan ve düşük HDL-K düzeylerine sahip 531 erkek hasta ile yapılmıştır. Çalışma başlangıcında ortalama HDL-K düzeyi 32 mg/dl ve ortalama LDL-K düzeyi 111 mg/dl saptanmış, 1 yıllık izlem sonunda tedavi alan grupta HDL-K %6 oranında daha fazla ve TG düzeyi %31 daha düşük tespit edilmiştir. Sonuç olarak nonfatal MI, stroke ve KAH bağlı ölüm oranlarında % 24'lük azalma sağlanmıştır. Bu çalışma HDL-K düzeylerini yükseltmenin ve TG düzeylerini düşürmenin (LDL-K düzeyleri değişmeksizin) KAH olan hastalarda kardiyovasküler olayları azalttığını gösteren önemli veriler sağlamıştır (290). Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak hasta ve kontrol grupları arasında hiperlipidemi açısından çok ileri düzeyde fark saptandı ($p<0,001^{***}$).

Bu nedenle özellikle yüksek riskli hastalarda tüm lipit parametrelerinin hedef değerlere yakın olması KAH'na bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltacağı düşünülmektedir.

TEKHARF çalışmasında erkeklerin %59,4'ünün sigara içtiği saptanmıştır (2).

Miyokard infarktüslerinde fazla sigara içiciliği birçok çalışma tarafından %76-90 arasında saptandığı gösterilmiştir (291). Bu değer diğer gruplara göre yüksek anlamlılık düzeyindedir. Sigara içenlerde içmeyenlere göre 2-4 kat daha fazla KVH geliştiği bulunmuştur (292). Bizim çalışmamızda STEMI grubunda %47 (hastaların %42'si ≤ 20 adet sigara içiciliği, %5'i $20 <$ adet sigara içiciliği tarifledi), kontrol grubunda %16 (%15'i ≤ 20 adet sigara içiciliği, %1'i $20 <$ adet sigara içiciliği tarifledi) oranlarında sigara içiciliği tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki hasta ve kontrol grupları arasında sigara içiciliği açısından çok ileri düzeyde fark saptanmıştır ($p < 0,001^{***}$). Sigara birçok çalışmada artmış trombosit agregasyonu, artmış fibrinojen düzeyleri, bozulmuş fibrinolitik aktivite, azalmış koroner akım ve artmış vazospazm ile ilişkilendirilmiştir (293). Aktif içicilik gibi pasif içiciliğinde koroner ateroskleoz üzerine etkisi mevcuttur. Sigara minimal bir ateroskleroz zemininde veya normal koroner arterlerde spazm ve trombüs oluşumu ile koroner arter tıkanmalarını tetikleyebileceği gösterilmiştir. İlave olarak enfarktüs sonrası sigara içmeye devam edenlerin bırakanlara göre daha kötü uzun dönem mortalite sonuçları bildirilmiştir (294). Bu bulgular genç erişkinlerdeki sigara içiciliğinin azaltılması ile koroner olayların önlenebileceğinin bilimsel temelini oluşturmaktadır. Ayrıca, kardiovasküler hastalığı önleme programlarında sigara içimi önemli bir yer tutmalıdır.

Yapılan çalışmalarda az miktarda alkol kullanımının KVH riskini olumlu olarak etkilediği saptanmıştır. Ancak alkol miktarı belirtilen miktarların üzerine çıktığında serum lipit düzeylerine ve kan basıncına yaptığı olumsuz katkılar nedeniyle KVH riskini artırmaktadır (294). Çalışmamızda hasta grubunda alkol kullanımı %3, kontrol grubunda %7 olarak saptanmış olup alkol tüketimi ile miyokard infarktüsü arasında önemli bir ilişki kurulamamıştır ($p > 0,05^{ns}$). Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hasta grubunda %55,8; kontrol grubunda %50,2 alkol tüketimi bildirilmiştir (295). Bunun sebebi alkol tüketiminin yaygınlığı ve her kesimde tüketilmesi olabilir. Çalışmamız ile benzer şekilde Japon populasyonunu değerlendiren bu çalışmada da alkol tüketimi ile koroner ateroskleroz arasında önemli bir ilişki kurulamamıştır. Bizim çalışmamızdaki alkol tüketimi oranlarının daha az olması toplumumuzun geleneksel değerlerine bağlanmıştır.

Aterosklerotik damar hastalığı klasik risk faktörlerinden biri de aile öyküsü pozitifliğidir. Yapılan geniş epidemiyolojik çalışmalarda KAH olan bireylerin

%35'inde aile öyküsü pozitifliği saptanmıştır (296). Framingham kalp çalışmasında KAH için pozitif aile öyküsünün bir risk faktörü olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucu ortaya çıkmıştır (4). Olguların birinci derece akrabaları içinde MI ya da kardiyak ölüm görülen 55 yaşından daha genç erkek ve 65 yaşından daha genç kadın varsa, KKH için aile öyküsü pozitif kabul edilmektedir (137, 138). Çalışmamızda da hasta grubunun % 23'ünün ailesinde KKH açısından pozitiflik vardı, kontrol grubunda ise bu oran %8 olarak saptandı. Hasta grubunda kontrol grubuna göre ileri düzeyde fark olduğu belirlendi ($P<0,01^{**}$).

Diabetes mellitus, ateroskleroz ve kardiovasküler hastalıklar açısından son derece önemli bir risk faktörüdür. Diabetes mellitus, var olan aterosklerozun hızını ve yaygınlığını artırır. Bozulmuş glikoz toleransı (IGT) ve metabolik sendrom da aterosklerozu hızlandırır ve koroner arter hastalığı sıklığını artırır. Diyabetik hastalarda ölümlerin %65-75'i makrovasküler komplikasyonlar nedeniyle olmakta; diyabetik erkeklerde kardiovasküler hastalık sıklığı 2 kat, kadınlarda ise 3 kat artmaktadır. Nurkalem ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada akut koroner sendrom vakalarını incelemişlerdir (297). Bu çalışma sonunda hem IGT hem de diyabet sıklığı ile tutulan koroner damar sayısı arasında korelasyon saptamışlardır. Ayrıca tutulan koroner damar sayısı ile postprandial glukoz düzeyi arasında pozitif korelasyon saptamışlardır. Diyabetli hastalarda ölümlerin %70-80'i kardiovasküler hastalıklara bağlıdır. ABD'de yapılan çalışmalarda 20-74 yaş grubu toplumda diyabet prevalansı %6,6 bulunmuş ve bilinmeyen diyabet olgularının %50 civarında olduğu bildirilmiştir (298). Ülkemizde ise 1997-1998 yıllarında yapılan "Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi" çalışması (TUDEP) verilerine göre, 20-80 yaş grubu diyabet sıklığı % 7,2; IGT % 6,7; bilinmeyen diyabet oranının % 30 olduğu bulunmuştur.

Framingham çalışmasında diyabetik bireylerin, diyabetik olmayanlara göre aterosklerotik kalp hastalığından ölüm hızı erkeklerde 2,1 kat, kadınlarda ise 4,9 kat fazla bulunmuştur (4). Bu da diyabetin kadın cinsteki aterosklerotik kalp hastalığı riskindeki azalmayı ortadan kaldırdığını gösteren önemli bir veridir. Ayrıca bozuk glukoz toleransı saptanan bireylerde de aterosklerotik kalp hastalığından ölüm sıklığının arttığı gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda diyabetes mellitus olduğu bilinen hasta %5 oranında ve kontrol grubunda ise %2 oranındaydı. Ve iki grup arasında da diyabetes mellitus açısından önemli bir risk artışı saptanmadı

($p > 0,05^{ns}$). Çalışmamızdaki diyabetes mellitus görülme oranının ülkemizde yapılan diğer çalışmalara göre düşük saptanmış olmasının sebebinin hasta ve kontrol grubunda DM tanı testlerinin yapılmamış olması ve hastalardan diyabet hastalığının sadece sözel olarak sorgulanmasından dolayı olduğunu düşünmekteyiz. Bu düşük oran hem hasta hem de kontrol grubunda bilinmeyen diyabet olabileceğini düşündürmektedir.

Hipertansiyon ateroskleroz oluşumu ve hızlanmasında çok önemli bir risk faktörüdür. Yüksek tansiyon; arter damarlarında travmalar oluşturarak endotel zedelenmesine neden olur, LDL kolesterol ve makrofajların damarlara invazyonunu artırır. Kan basıncındaki yükselmeler, serebral inme ve miyokard infarktüsü riskindeki yükselmeler ile koreledir. Antihipertansif ilaçlar ile diyastolik kan basıncında 5-6 mmHg'lık azalmanın; inme riskini %40, vasküler mortaliteyi %21, koroner kalp hastalığı riskini ise %14 azalttığı tespit edilmiştir (299). Günümüzde artık sistolik hipertansiyon kadar diyastolik hipertansiyonun da kardiyovasküler hastalık açısından önemli bir risk faktörü olduğu ve tedavi edilmesi gerektiği ifade edilmektedir. Bizim çalışmamız sonucunda da STEMI geçiren hasta grubunda hipertansiyon sıklığı %14 saptanırken, kontrol grubunda bu oranın %3 olduğu gözlemlendi. Literatürle uyumlu şekilde, hasta grubunda hipertansiyon görülme sıklığı kontrol grubuna göre önemli olarak yüksek saptandı ($p < 0,05^*$).

Çalışmamızda; hipertansiyon, hiperlipidemi, aile öyküsü, sigara içiciliği gibi ateroskleotik majör risk faktörleri açısından; STEMI geçirmiş hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Tanımlanan yeni bir risk faktörü olan homosistein yüksekliği bizim çalışmamızda da değerlendirilmiş, hasta ve kontrol grupları arasında çok ileri düzeyde fark saptanmış olup, hasta grubunda homosistein düzeyinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda, MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmleri açısından değerlendirilen hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark saptanmamış olmakla birlikte homosistein düzeyleri ile genotipler birlikte değerlendirildiğinde önemli farklılıklar saptanmıştır.

Sonuç olarak MTHFR genindeki C677T ve A1298C polimorfizmlerinin tek başına Eskişehir bölgesinde miyokard infarktüsü için bağımsız bir risk faktörü olmadığını, fakat plazma homosistein düzeyi ve ilişkili hastalıklar için önemli bir faktör olduğunu düşünmekteyiz.

Şu anda, KKH için risk faktörü olarak kabul edilebilecek bir genetik belirtecin olmadığı açıktır. Dolayısıyla ateroskleroz patogenezini daha iyi anlamak ve yeni tedavi stratejileri geliştirebilmek için, genler ve genetik değişiklikler yoğun bir şekilde araştırılmalıdır. Çevresel faktörlerin etkisinin var olan mutasyonun kliniğe yansımını değiştirebileceği unutulmamalıdır. Sigara içiciliği en önemli düzeltilebilir risk faktörüdür. Aterosklerotik sürecin genetik temelinin multifaktöriyel olduğu gerçeği bunları tespit etmemizi ciddi olarak zorlaştırmaktadır.

Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve komplikasyonların oluşumunun engellenmesi için öncelikle bireylerin ve hastaların toplam risk yükü ön plana alınmalı ve detaylı bir şekilde irdelenmelidir. Risk faktörleri değerlendirilen bireylerin daha erken dönemde yaşam şekli değişimine yönelik girişimler yapılmalıdır. Klasik majör risk faktörlerinin yanı sıra özgün gruplarda yapılan çalışmalarla tanımlanmış yeni risk faktörlerine de özellikle sınırda kalan olguların risk değerlendirilmesinde yer verilmelidir. Yeni risk faktörlerinin özgün gruplarda araştırılmasının, KVH açısından gerekli önlemlerin alınabilmesi açısından yararlı ve uyarıcı olduğu düşünülmektedir. Tedavi planı yapılırken yeni tanımlanan ve tanımlanacak risk faktörlerine yönelik tedavi planlarının da göz önünde tutulması tedavideki başarıyı arttıracaktır. Gelecekte; yapılan araştırmalar arttıkça, kardiyovasküler risk değerlendirilmesinde, biyokimyasal testler ve klinik değerlendirme ile genetik belirteçlerin kullanıldığı multiallelik ve multiparametrik testlerin kombine edilebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Cossu S.F, The Clinical Spectrum of Ventricular Tachyarrhythmias in Patient With Coronary Artery Disease, *Cardiology In Review*. 1995, 3(5):240-250
2. TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı. Prof. Dr. Altan Onat, Prof. Dr. Vedat Sansoy, Prof. Dr. İnan Soydan, Prof. Dr. Lale Tokgözoğlu, Prof. Dr. Kamil Adalet. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. Temmuz 2003, İstanbul.
3. Graystone J.T, Kuo C.C, Wang S.P, Ane chlamydia psittaci strein. TWAR, isolated in acute respiratory tract infection. *NEJM* 1986; 315: 161-168
4. Myers R.H, Kiely D.K, Cupples L.A, KANNEL W.B. Parental history is an independent risk factor for coronary artery disease: the Framingham Study. *Am Heart J* 1990;120:963–969.
5. Murabito J.M, Pencina M.J, Nam B.H, D’Agostino R.B Sr, Wang T.J, Lloyd-Jones D, Wilson P.W, O’Donnell C.J. Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *JAMA* 2005;294:3117–3123
6. Boer J.M, Feskens E.J, Verschuren W.M, Seidell J.C, Kromhout D, The joint impact of family history of myocardial infarction and other risk factors on 12-year coronary heart disease mortality. *Epidemiology* 1999;10:767-770
7. Horne B.D, Camp N.J, Muhlestein J.B, Cannon-Albright L.A. Identification of excess clustering of coronary heart diseases among extended pedigrees in a genealogical population database. 2006. *American Heart Journal*
8. Murray C.J, Lopez A.D. Global mortality, disability and contribution of risk factors: Global Bureau of Disease Study. *Lancet* 1997; 349:1436-1442.
9. Pope J.H, Aufderheide T.P, Ruthazer R. Missed diagnoses of acute cardiac ischemia in the emergency department. *N Engl J Med* 2000; 342:1163-1170.
10. Lee T.H, Goldman L, Evaluation of the patient with acute chest pain. *N Engl J Med* 2000; 342:1187-1195.
11. Pope J.H, Ruthazer R, Beshansky J.R, et al: Clinical features of emergency department patients presenting with symptoms suggestive of acute cardiac ischemia: A multicenter study. *J Thromb Thrombolysis* 1998; 6:63-74.
12. Fox K.A, Goodman S.G, Klein W, Management of outcome; findings from the Global Registry of Acute coronary Events(GRACE). *Eur Heart J* 2002; 23:1177-1189.

13. Onat A, Keles I, Çetinkaya A; On yıllık TEKHARF Çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2001;29: 8-19.
14. Cockburn A, Barraco RA, Reyman TA, Peck WH, Autopsy of an Egyptian mummy. *Science* 1975;187:1155-1160.
15. CockburnA, Miscellaneousmummies. In:CockburnA, Cockburn E. *Mummies, disease and ancient cultures*. 1980; Cambridge University Press, Cambridge.
16. Keele KD, Leonardo daVinci onmovement of the heart and blood. 1952. Harvey and Blythe, London.
17. Aschoff KAL, Über Atherosklerose und andere Sklerosen des Gefässsystems. 1908. Urban and Schwarzenberg, Berlin.
18. Virchow R, Phlogose und Thrombose im Gefäßsystem. *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin*. 1856. Meidinger, Frankfurt am Main.
19. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-809
20. Von Rokitansky C, Über einige der wichtigsten Krankheiten der Arterien. 1852. K. K. Hofund StaatsdruckereienWien, Vienna.
21. Duguid J.B, Thrombosis as a factor in the pathogenesis of coronary atherosclerosis. *J Pathol Bacteriol* 1946;58:207-212.
22. Falk E, Shah P.K, and Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-671.
23. Virmani R, Burke AP, and Farb A. Plaque rupture and plaque erosion. *Thromb Haemost* 1999; 82 Suppl 1: 1-3.
24. Shah PK. Pathophysiology of coronary thrombosis: role of plaque rupture and plaque erosion. *Progr Cardiovasc Dis* 2002; 44: 357-368.
25. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 104: 365-372.
26. DeWood MA, Spores J, Notske R, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *New Engl J Med* 1980; 303:897-902.
27. DeWood MA, Spores J, Hensley GR, et al. Coronary arteriographic findings in acute transmural myocardial infarction. *Circulation* 1983; 68: 39-49.

28. DeWood MA, Stifter WF, Simpson CS, et al. Coronary arteriographic findings soon after non-Q-wave myocardial infarction. *New Engl J Med* 1986; 315: 417-423.
29. Levin DC and Fallon JT. Significance of the angiographic morphology of localized coronary stenoses: histopathologic correlations. *Circulation* 1982; 66: 316-320.
30. Sherman CT, Litvack F, Grundfest W, et al. Coronary angiography in patients with unstable angina pectoris. *New Engl J Med* 1986; 315: 913-919.
31. Kruskal JB, Commerford PJ, Franks JJ, and Kirsch RE. Fibrin and fibrinogen-related antigens in patients with stable and unstable coronary artery disease. *New Engl J Med* 1987; 317: 1361-1365.
32. Folts JD. Platelet aggregation in stenosed coronary or cerebral arteries: a mechanism for sudden death? *Wis Med J* 1980; 79: 24-26.
33. Davies MJ and Thomas A. Thrombosis and acute coronary artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *New Engl J Med* 1984; 310: 1137-1140.
34. Falk E. Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis: characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br Heart J* 1983; 50: 127-134.
35. Ambrose JA, Winters SL, Stern A, et al. Angiographic morphology and the pathogenesis of unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1985; 5: 609-616.
36. Ambrose JA, Winters SL, Arora RR, et al. Coronary angiographic morphology in myocardial infarction: a link between the pathogenesis of unstable angina and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6: 1233-1238.
37. Gorlin R, Fuster V, and Ambrose JA. Anatomic-physiologic links between acute coronary syndromes. *Circulation* 1986; 74: 6-9.
38. Friedman M. Pathogenesis of coronary thrombosis, intramural and intraluminal hemorrhage. *Adv Cardiol* 1970; 4: 20-46.
39. Friedman M. The pathogenesis of coronary plaques, thromboses, and hemorrhages: an evaluative review. *Circulation* 1975; 52: 34-40.
40. Constantinides P. Atherosclerosis, a general survey and synthesis. *Surv Synth Pathol Res* 1984; 3: 477-498.
41. Ambrose JA, Hjemdahl-Monsen C, Borrico S, et al. Quantitative and qualitative effects of intracoronary streptokinase in unstable angina and non-Q wave infarction. *J Am Coll Cardiol* 1987; 9: 1156-1165.

42. Ambrose JA, Winters SL, Arora RR, et al. Angiographic evolution of coronary artery morphology in unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 472-478.
43. Ambrose JA and Monsen C. Significance of intraluminal filling defects in unstable angina. *Am J Cardiol* 1986; 57: 1003-1004.
44. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation* 1988; 78: 1157-1166.
45. Hackett D, Davies G, and Maseri A. Pre-existing coronary stenoses in patients with first myocardial infarction are not necessarily severe. *Eur Heart J* 1988; 9: 1317-1323.
46. Giroud D, Li JM, Urban P, Meier B, and Rutishauer W. Relation of the site of acute myocardial infarction to the most severe coronary arterial stenosis at prior angiography. *Am J Cardiol* 1992; 69: 729-732.
47. Brown G, Albers JJ, Fisher LD, et al. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *New Engl J Med* 1990; 323: 1289-1298.
48. Naqvi TZ, Hachamovitch R, Berman D, Buchbinder N, Kiat H, and Shah PK. Does the presence and site of myocardial ischemia on perfusion scintigraphy predict the occurrence and site of future myocardial infarction in patients with stable coronary artery disease? *Am J Cardiol* 1997; 79: 1521-1524.
49. Shah PK. Plaque size, vessel size and plaque vulnerability: bigger may not be better. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 663-664.
50. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, Crowe TD, Nissen SE, and Tuzcu EM. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes: an intravascular ultrasound study. *Circulation* 2000; 101: 598-603.
51. Von Birgelen C, Klinkhart W, Mintz GS, et al. Plaque distribution and vascular remodeling of ruptured and nonruptured coronary plaques in the same vessel: an intravascular ultrasound study in vivo. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1864-1870.
52. Takano M, Mizuno K, Okamatsu K, Yokoyama S, Ohba T, and Sakai S. Mechanical and structural characteristics of vulnerable plaques: analysis by coronary angioscopy and intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 99-104.
53. Varnava AM, Mills PG, and Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. *Circulation* 2002; 105: 939-943.

54. Guyton JR and Klemp KF. Development of the lipid-rich core in human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 4-11.
55. Richardson PD, Davies MJ, and Born GV. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1989; 2: 941-944.
56. Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, and Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J* 1993; 69: 377-381.
57. Felton CV, Crook D, Davies MJ, and Oliver MF. Relation of plaque lipid composition and morphology to the stability of human aortic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1337-1345.
58. Feng B, Yao PM, Li Y, Devlin CM, et al. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat Cell Biol* 2003; 5: 781-792.
59. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of atheroma. *New Engl J Med* 2003; 349: 2316-2325.
60. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, and Lee RT. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res* 1992; 71:850-858.
61. Cheng GC, Loree HM, Kamm RD, Fishbein MC, and Lee RT. Distribution of circumferential stress in ruptured and stable atherosclerotic lesions: a structural analysis with histopathological correlation. *Circulation* 1993; 87: 1179-1187.
62. Loree HM, Tobias BJ, Gibson LJ, Kamm RD, et al. Mechanical properties of model atherosclerotic lesion lipid pools. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 230-234.
63. Huang H, Virmani R, Younis H, Burke AP, et al. The impact of calcification on the biomechanical stability of atherosclerotic plaques. *Circulation* 2001; 103: 1051-1056.
64. Faber BC, Cleutjens KB, Niessen RL, et al. Identification of genes potentially involved in rupture of human atherosclerotic plaques. *Circ Res* 2001; 89: 547-554.
65. Essler M, Retzer M, Bauer M, Zangl KJ, et al. Stimulation of platelets and endothelial cells by mildly oxidized LDL proceeds through activation of lysophosphatidic acid receptors and the Rho/Rho-kinase pathway: inhibition by lovastatin. *Ann NY Acad Sci* 2000; 905: 282-286.

66. Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997; 95: 594–599.
67. Mallat Z, Hugel B, Ohan J, Leseche G, et al. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity. *Circulation* 1999; 99: 348–353.
68. Badimon JJ, Lettino M, Toschi V, et al. Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: effects of tissue factor pathway inhibitor on plaque thrombogenicity under flow conditions. *Circulation* 1999; 99: 1780–1787.
69. Fernandez-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 1562–1569.
70. Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, and Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994; 89: 36–44.
71. Kovanen PT. The mast cell — a potential link between inflammation and cellular cholesterol deposition in atherogenesis. *Eur Heart J* 1993; 14 Suppl K: 105–117.
72. Kovanen PT, Kaartinen M, and Paavonen T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92: 1084–1088.
73. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, et al. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 606–612.
74. Laine P, Kaartinen M, Penttila A, Panula P, et al. Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct-related coronary artery. *Circulation* 1999; 99: 361–369.
75. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868–874.
76. Barger AC, Beeuwkes R, 3rd, Lainey LL, and Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries: a possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *New Engl J Med* 1984; 310: 175–177.
77. Kamat BR, Galli SJ, Barger AC, Lainey LL, and Silverman KJ. Neovascularization and coronary atherosclerotic plaque: cinematographic localization and quantitative histologic analysis. *Hum Pathol* 1987; 18: 1036–1042.

78. Barger AC and Beeuwkes R, 3rd. Rupture of coronary vasa vasorum as a trigger of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1990; 66: 41G-43G.
79. Heistad DD and Armstrong ML. Blood flow through vasa vasorum of coronary arteries in atherosclerotic monkeys. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 326–331.
80. Williams JK and Heistad DD. The vasa vasorum of the arteries. *J Mal Vasc* 1996; 21: 266–269.
81. Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, et al. Enhanced coronary vasa vasorum neovascularization in experimental hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1998; 101: 1551–1556.
82. Gojova A, Brun V, Bruno E, Cottrez F, et al. Specific abrogation of transforming growth factor beta signaling in T cells alters atherosclerotic lesion size and composition in mice. *Blood* 2003; 102: 4052–4058.
83. Robertson AL, Rudling M, Zhore X, Gorelik L, et al. Disruption of TGF-beta signaling in T-cells accelerates atherosclerosis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1342–1350.
84. Tedgui A and Mallat Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Circulation Res* 200; 88: 877–887.
85. Burleigh MC, Briggs AD, Lendon CL, Davies MJ, Born GV, and Richardson PD. Collagen types I and III, collagen content, GAGs and mechanical strength of human atherosclerotic plaque caps: span-wise variations. *Atherosclerosis* 1992; 96: 71–81.
86. Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8154–8158.
87. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, and Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493–2503.
88. Brown DL, Hibbs MS, Kearney M, Loushin C, and Isner JM. Identification of 92- kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions: association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 1995; 91: 2125–2131.
89. Nikkari ST, O'Brien KD, Ferguson M, et al. Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation* 1995; 92: 1393–1398.
90. Li Z, Li L, Zielke HR, et al. Increased expression of 72-kd type IV collagenase (MMP-2) in human aortic atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1996; 148: 121–128.

91. Galis ZS, Sukhova GK, and Libby P. Microscopic localization of active proteases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue. *FASEB J* 1995; 9: 974–980.
92. Xu XP, Meisel SR, and Ong JM, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 1999; 99: 993–998.
93. Rajavashisth TB, Xu XP, Jovinge S, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: evidence for activation by proinflammatory mediators. *Circulation* 1999; 99: 3103–3109.
94. Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, et al. Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 11924–11929.
95. Herman MP, Sukhova GK, Libby P, et al. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: a novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circulation* 2001; 104: 1899–1904.
96. Shah PK, Falk E, Badimon JJ, et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 1995; 92: 1565–1569.
97. Shah PK. Role of inflammation and metalloproteinases in plaque disruption and thrombosis. *Vasc Med* 1998; 3: 199–206.
98. Sukhova GK, Schonbeck U, Rabkin E, et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques. *Circulation* 1999; 99: 2503–2509.
99. Lee RT, Schoen FJ, Loree HM, Lark MW, and Libby P. Circumferential stress and matrix metalloproteinase 1 in human coronary atherosclerosis: implications for plaque rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1070–1073.
100. Galis ZS, Muszynski M, Sukhova GK, Simon-Morrissey E, and Libby P. Enhanced expression of vascular matrix metalloproteinases induced in vitro by cytokines and in regions of human atherosclerotic lesions. *Ann NY Acad Sci* 1995; 748: 501–507.
101. Galis ZS, Sukhova GK, Kranzhofer R, Clark S, and Libby P. Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix-degrading proteinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 402–406.

102. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, and Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998; 98: 300-307.
103. Mach F, Schonbeck U, Fabunmi RP, et al. T lymphocytes induce endothelial cell matrix metalloproteinase expression by a CD40L-dependent mechanism: implications for tubule formation. *Am J Pathol* 1999; 154: 229-238.
104. Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res* 1997; 81: 448-454.
105. Wallner K, Li C, Shah PK, et al. Tenascin-C is expressed in macrophage-rich human coronary atherosclerotic plaque. *Circulation* 1999; 99: 1284-1289.
106. Sukhova GK, Shi GP, Simon DI, Chapman HA, and Libby P. Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1998; 102: 576-583.
107. Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1999; 104: 1191-1197.
108. Bennett MR, Evan GI, and Schwartz SM. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1995; 95: 2266-2274.
109. Bjorkerud S and Bjorkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability. *Am J Pathol* 1996; 149: 367-380.
110. Kockx MM and Knaapen MW. The role of apoptosis in vascular disease. *J Pathol* 2000; 190: 267-280.
111. Ihling C, Haendeler J, Menzel G, et al. Co-expression of p53 and MDM2 in human atherosclerosis: implications for the regulation of cellularity of atherosclerotic lesions. *J Pathol* 1998; 185: 303-312.
112. Crisby M, Kallin B, Thyberg J, et al. Cell death in human atherosclerotic plaques involves both oncosis and apoptosis. *Atherosclerosis* 1997; 130: 17-27.
113. Bennett MR. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodelling and atherosclerotic plaque rupture. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 361-368.

114. Galle J, Heermeier K, and Wanner C. Atherogenic lipoproteins, oxidative stress, and cell death. *Kidney Int Suppl* 1999; 71: 62-65.
115. Vieira O, Escargueil-Blanc I, Jurgens G, et al. Oxidized LDLs alter the activity of the ubiquitin–proteasome pathway: potential role in oxidized LDL-induced apoptosis. *FASEB J* 2000; 14: 532–542.
116. Rossig L, Dimmeler S, and Zeiher AM. Apoptosis in the vascular wall and atherosclerosis. *Basic Res Cardiol* 2001; 96: 11–22.
117. Geng YJ, Wu Q, Muszynski M, Hansson GK, and Libby P. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by in vitro stimulation with interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1-beta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 19–27.
118. Geng YJ, Henderson LE, Levesque EB, Muszynski M, and Libby P. Fas is expressed in human atherosclerotic intima and promotes apoptosis of cytokine-primed human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2200–2208.
119. Mallat Z and Tedgui A. Apoptosis in the vasculature: mechanisms and functional importance. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 947–962.
120. Muller JE, Tofler GH, and Stone PH. Circadian variation and triggers of onset of acute cardiovascular disease. *Circulation* 1989; 79: 733–743.
121. Muller JE. Morning increase of onset of myocardial infarction: implications concerning triggering events. *Cardiology* 1989; 76: 96–104.
122. Muller JE and Tofler GH. Triggering and hourly variation of onset of arterial thrombosis. *Ann Epidemiol* 1992; 2: 393–405.
123. Willich SN, Jimenez AH, Tofler GH, DeSilva RA, and Muller JE. Pathophysiology and triggers of acute myocardial infarction: clinical implications. *Clin Invest* 1992; 70: 73–78.
124. Willich SN, Maclure M, Mittleman M, Arntz HR, and Muller JE. Sudden cardiac death: support for a role of triggering in causation. *Circulation* 1993; 87: 1442–1450.
125. Peters A, Dockery DW, Muller JE, and Mittleman MA. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation* 2001; 103: 2810–2815.
126. Mittleman MA, Lewis RA, Maclure M, Sherwood JB, and Muller JE. Triggering myocardial infarction by marijuana. *Circulation* 2001; 103: 2805–2809.

127. Muller JE. Circadian variation and triggering of acute coronary events. *Am Heart J* 1999; 137: 1-8.
128. Muller JE. Triggering of cardiac events by sexual activity: findings from a case crossover analysis. *Am J Cardiol* 2000; 86: 14–18.
129. Goldstein JA, Demetriou D, Grines CL, Pica M, Shoukfeh M, and O'Neill WW. Multiple complex coronary plaques in patients with acute myocardial infarction. *NewEngl J Med* 2000; 343: 915–922.
130. Matetzky S, Tani S, Kangavari S, et al. Smoking increases tissue factor expression in atherosclerotic plaques: implications for plaque thrombogenicity. *Circulation* 2000; 102: 602–604.
131. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 2001; 103: 934–940.
132. Fuster V, Badimon L, Cohen M, Ambrose JA, Badimon JJ, Chesebro J. Insights into the pathogenesis of acute ischemic syndromes. *Circulation* 1988;77:1213-20.
133. Moise A, Lesperance J, Theroux P, Taeymans Y, Goulet C, Bourassa MG. Clinical and angiographic predictors of new total coronary occlusion in coronary artery disease: analysis of 313 nonoperated patients. *Am J Cardiol* 1984;54:1176-81.
134. Schieffer B, Luchtefeld M, Braun S, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. *Circ Res* 2000;87:1195-201.
135. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levit D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet* 1999;353:89–92.
136. McGill HC J, McMahan CA. Starting earlier to prevent heart disease. *JAMA* 2003;290:2320–2322.
137. Tsimikas S, Witztum JL. Shifting the diagnosis and treatment of atherosclerosis to children and young adults: a new paradigm for the 21st century. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:2122–2124.
138. International Task Force for Prevention of Coronary Heart Disease. Coronary heart disease: Reducing the risk. The scientific background to primary and secondary prevention of coronary heart disease. A worldwide view. *NutrMetab Cardiovasc Dis* 1998;8:205–271.
139. Scheuner MT. Genetic predisposition to coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 2001;16:251–260.

140. International Task Force for Prevention of Coronary Heart Disease Pocket Guide to Prevention of Coronary heart disease. 2002. <http://www.chd-taskforce.de/guide.htm>
141. Becker CR, Kleffel T, Crispin A, Knez A, Young J, Schoepf UJ, et al. Coronary artery calcium measurement: agreement of multirow detector and electron beam CT. *Am J Roentgenol* 2001;176:1295–1298.
142. Brown MS, Goldstein JL. Koch's postulates for cholesterol. *Cell* 1992;71:187–188.
143. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial Hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 8th edn. McGraw-Hill, New York, 2001;2863–2915.
144. Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein—the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989;321:1311–1316.
145. Hersberger M, von Eckardstein A. Low high density lipoprotein cholesterol-physiological background, clinical importance and drug treatment. *Drugs* 2003;63:1907-1945.
146. Genest JJ, McNamara JR, Salem DN, Schaefer EJ. Prevalence of risk factors in men with premature coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1185-1189.
147. Bobak M, Hense HW, Kark J, Kuch B, Vojtisek P, Sinnreich R, Gostomzyk J, Bui M, von Eckardstein A, Junker R, Fobker M, Schulte H, Assmann G, Marmot M. An ecological study of determinants of coronary heart disease rates: a comparison of Czech, Bavarian and Israeli men. *Int J Epidemiol* 1999;28:437–444.
148. Hergenc G, Schulte H, Assmann G, von Eckardstein A. Associations of obesity markers, insulin, and sex hormones with HDL- cholesterol levels in Turkish and German individuals. *Atherosclerosis* 1999;145:147–156.
149. Alberti KGMM, Zimmet PZ for the WHO consultation. Definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetes Med* 1998;15:539–553.
150. Mukamal KJ, Rimm EB. Alcohol's effects on the risk for coronary heart disease. *Alcohol Res Health* 2001;25:255–261.
151. Mukamal KJ, Conigrave KM, Mittleman MA, Camargo CA Jr, Stampfer MJ, Willett WC, Rimm EB. Roles of drinking pattern and type of alcohol consumed in coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 2003;348:109–118.

152. Hines LM, Rimm EB: Moderate alcohol consumption and coronary heart disease: a review. *Postgrad Med J* 2001; 77:747-52.
153. McKechnie R, Mosca L. Physical activity and coronary heart disease: prevention and effect on risk factors. *Cardiol Rev* 2003;11:21–25.
154. WHO. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, 3-5 June 1997. Geneva: World Health Organisation, 1998 WHO/NUT/NCD/98:1.
155. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2002;404:635–643.
156. Krantz DS, McCeney MK. Effects of psychological and social factors on organic disease: a critical assessment of research on coronary heart disease. *Annu Rev Psychol* 2002;53:341–369.
157. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease: recent advances and future directions. *Clin Chem* 2003;49:1785–1796.
158. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000;102:1082–1085.
159. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GDO, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004;350:1387–1397.
160. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499–511.
161. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111:1805–1812.
162. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107:363–369.
163. Ledue TB, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clin Chem* 2003;49:1258–1271.
164. Koenig W. Fibrinogen in cardiovascular disease: an update. *Thromb Hemost* 2003;89:601–609.

165. Acevedo M, Pearce GL, Kottke-Marchant K, Sprecher DL. Elevated fibrinogen and homocysteine levels enhance the risk of mortality in patients from a high-risk preventive cardiology clinic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1042–1045.
166. Parving HH, Hovind P. Microalbuminuria in type 1 and type 2 diabetes mellitus: evidence with angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers for treating early and preventing clinical nephropathy. *Curr Hypertens Rep* 2002;4:387–393.
167. Pontremoli R, Leoncini G, Ravera M, Viazzi F, Vettoretti S, Ratto E, Parodi D, Tomolillo C, Deferrari G. Microalbuminuria, cardiovascular, and renal risk in primary hypertension. *J Am Soc Nephrol* 13 (Suppl 3): 2002;3:69–72.
168. Schneede J, Refsum H, Ueland PM. Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:263–79.
169. denHeijer M, Koster T, Blom HJ, Bos GM, Briet E, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:759–762.
170. Kapusta L, Haagmans ML, Steegers EA, Cuypers MH, Blom HJ, Eskes TK. Congenital heart defects and maternal derangement of homocysteine metabolism. *J Pediatr* 1999;135:773–774.
171. Wenstrom KD, Johanning GL, Owen J, Johnston KE, Acton S, Tamura T. Role of amniotic fluid homocysteine level and of fetal 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase genotype in the etiology of neural tube defects. *Am J Med Genet* 2000;90:12–16.
172. Duan W, Ladenheim B, Cutler RG, Kruman, II, Cadet JL, Mattson MP. Dietary folate deficiency and elevated homocysteine levels endanger dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2002;80:101–110.
173. Syvanne M, Whittall RA, Turpeinen U, Nieminen MS, Frick MH, Kesaniemi YA, Pasternack A, Humphries SE, Taskinen M-R. Serum homocysteine concentrations, gemfibrozil treatment and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2004;172:267–272.
174. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*, 1969;56:111–128.
175. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvale G. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995;274:1526–1533.

176. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serumtotal homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995;24:704–709.
177. Israelsson B, Brattstrom LE, Hultberg BL. Homocysteine and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1988;71:227–233
178. Anderson JL, Muhlestein JB, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE, Pearson RR. Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:1227–1232
179. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049–1057
180. Malinow MR, Duell PB, Hess DL, Anderson PH, KrugerWD, Phillipson BE, Gluckman RA, Block PC, Upson BM. Reduction of plasma homocysteine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N Engl J Med* 1998;338:1009–1015
181. Schnyder G, PinR, RoffiM, FlammerY, HessOM. Association of plasma homocysteine with the number of major coronary arteries severely narrowed. *Am J Cardiol* 2001;88:1027– 1030.
182. Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vincent GM, Williams RR, Hopkins PN. Plasma homocysteine as a risk factor for early familial coronary artery disease. *Clin Chem* 1994;40:552–561
183. Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991;48:536-45.
184. Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, et al. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (40 $\mu\text{mol/L}$). *J Clin Invest* 1996; 98:2174.
185. Boers GH, Fowler B, Smals AG, Trijbels FJ, Leermakers AI, Kleijer WJ, Kloppenborg PW. Improved identification of heterozygotes for homocystinuria due to cystathionine synthase deficiency by the combination of methionine loading and enzyme determination in cultured fibroblasts. *Hum Genet* 1985;69:164–169.
186. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Boers GH, Sheahan RG, Israelsson B, Uiterwaal CS, Meleady R, McMaster D, Verhoef P, Witteman J, Rubba P, Bellet H, Wautrecht JC, de Valk HW, Sales Luis AC, Parrot- Rouland FM, Tan KS, Higgins I, Garcon D,

- Andria G, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775–1781.
187. Cook S, Scherrer U. Insulin resistance, a new target for nitric oxide-delivery drugs. *Fundam Clin Pharmacol* 2002;16:441–453.
 188. Stamler JS, Jaraki O, Osborne J, Simon DI, Keaney J, Vita J, Singel D, Valeri CR, Loscalzo J. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7674–7677.
 189. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, Robinson J, Thomas O, Leonard JV, Deanfield JE. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:854–858.
 190. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974;291:537–543.
 191. Van den Berg M, Boers GH, Franken DG, Blom HJ, Van Kamp GJ, Jakobs C, Rauwerda JA, Kluft C, Stehouwert CD. Hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995;25:176–181.
 192. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042–1050.
 193. Alvarez-Maqueda M, El Bekay R, Monteseirin J, Alba G, Chacon P, Vega A, Santa Maria C, Tejedro JR, Martin-Nieto J, Bedoya FJ. Homocysteine enhances superoxide anion release and NADPH oxidase assembly by human neutrophils. Effects on MAPK activation and neutrophil migration. *Atherosclerosis* 2004;172:229–238.
 194. Austin RC, Sood SK, Dorward AM, Singh G, Shaughnessy SG, Pamidi S, Outinen PA, Weitz JI. Homocysteine-dependent alterations in mitochondrial gene expression, function and structure. Homocysteine and H₂O₂ act synergistically to enhance mitochondrial damage. *J Biol Chem* 1998;273:30808–30811.
 195. Cullen P, Funke H. Implications of the human genome project for the identification of genetic risk of coronary heart disease and its prevention in children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; 11(Suppl 5):45–51.
 196. Humphries SE, Ridker PM, Talmud PJ. Genetic testing for cardiovascular disease susceptibility: a useful clinical management tool or possible misinformation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:628–636.

197. Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Korunma ve Tedavi Klavuzu 2002. Türk Kardiyoloji Derneği web sayfasından ulaşılabilir. <http://www.tkd.org.tr/kilavuz/k11.htm?wbnum=1600>.
198. Reimer KA, Jennings RB. The 'wavefront phenomenon' of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size(myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 1979; 40: 633-644.
199. American Heart Association: Heart and Stroke Statistical Update. American Heart Association, 2006.
200. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02- 5215 September 2002.
201. Towbin, JA, Bricker, JT, Garson, Jr A. Electrocardiographic criteria for diagnosis of acute myocardial infarction in childhood. *Am J Cardiol* 1992; 69:1545.
202. Myocardial infarction redefined a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2000;21(18):1502-13.
203. Thordarson O, Fridriksson S. Aggregation of deaths from ischaemic heart disease among first and second degree relatives of 108 males and 42 females with myocardial infarction. *Acta Med Scand* 1979; 205:493–500.
204. Jorde LB, Williams RR. Relation between family history of coronary artery disease and coronary risk variables. *Am J Cardiol* 1988;62:708–713.
205. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994;330:1041–1046.
206. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 2000;405:847–856.
207. Cardon LR, Bell JI. Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet* 2001;2:91–99.
208. Lusa AJ. Genetic factors in cardiovascular disease: 10 questions. *Trends Cardiovasc Med* 2003;13: 309–316.

209. Winkelmann BR, Hager J, Kraus WE, et al. Genetics of coronary heart disease: current knowledge and research principles. *Am Heart J* 2000;140:11–26.
210. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:1090–1094.
211. Carter AM, Ossei-Gerning N, Grant PJ. Platelet glycoprotein IIIa P1A polymorphism in young men with myocardial infarction. *Lancet* 1996;348:485, 486.
212. Aleksic N, Juneja H, Folsom AR, et al. Platelet PI(A2) allele and incidence of coronary heart disease: results from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2000;102:1901–1905.
213. Cambien F, Athenc-Gelas F, Herberth B, et al: Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: THE NANCY study. *Am J. Hum Genet* 1988;43:774-80.
214. Evans AE, Poirier O, Kee F, et al: Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med* 1994;87:211-14.
215. Nakai K, Itoh C, Miura Y, et al: Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the japanese. *Circulation* 1994;90:2199-202.
216. Isbir T, Yilmaz H, Agachan B, Aydin M, Isbir CS. Association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and coronary artery disease. *IUBMB Life*. 1999; 48:205-207.
217. Akar N, Aras O, Omurlu K, Cin S. Deletion polymorphism at the angiotensin converting enzyme gene in Turkish patients with coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 1998; 58:491-495.
218. Tokgozoglu SL, Alikasifoglu M, Atalar E, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk and extent of ischemic heart disease among Turkish patients. *Coron Artery Dis*. 1997;8:137-141.
219. Shimasaki Y, Yasue H, Yoshimura M, et al. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. *Circulation* 1998;31:1506–1510.
220. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998;32:521–526.

221. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298→Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999;100:1515–1520.
222. Poirier O, Mao C, Mallet C, et al. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene—no consistent association with myocardial infarction in the ECTIM study. *Eur J Clin Invest* 1999;29: 284–290.
223. Jeerooburkhan N, Jones LC, Bujac S, et al. Genetic and environmental determinants of plasma nitrogen oxides and risk of ischemic heart disease. *Hypertension* 2001;38:1054–1061.
224. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321–333.
225. Lu H, Higashikata T, Inazu A, et al. Association of estrogen receptor-alpha gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2002;22:817–823.
226. Kunnas TA, Laippala P, Penttila A, Lehtimaki T, Karhunen PJ. Association of polymorphism of human alpha oestrogen receptor gene with coronary artery disease in men: a necropsy study. *BMJ* 2000;321: 273,274.
227. Wilson PW, Myers RH, Larson MG, Ordovas JM, Wolf PA, Schaefer EJ. Apolipoprotein E alleles, dyslipidemia, and coronary heart diseases: The Framingham Offspring Study. *JAMA* 1994;272:1666–1671.
228. Wilson PW, Schaefer EJ, Larson MG, Ordovas JM. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease: a meta-analysis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1996;16:1250–1255.
229. Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis: The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Engl J Med* 1998;338:86–93.
230. Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP Jr, Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA* 2004;291:2821–2827.
231. McCarthy JJ, Parker A, Salem R, et al. Large scale association analysis for identification of genes underlying premature coronary heart disease: cumulative perspective from analysis of 111 candidate genes. *J Med Genet* 2004;41:334–341.

232. Topol EJ, McCarthy J, Gabriel S, et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction. *Circulation* 2001;104: 2641–2644.
233. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, Factor V Leiden, prothrombin G20210A variant, and methylenetetrahydrofolat Reductase C677T genotype in young adults with ischemic stroke. *Clin Appl Thromb Haemost.* 7;346-50, 2001.
234. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in Methylenetetrahydrofolat Reductase. *Nat Genet.* 1995;10:111-3.
235. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, et al. Homocysteine and risk of premature coronary heart disease: evidence for a common gene mutation. *Circulation* 1996;94:2154–2158.
236. Kluijtmans LA, Kastelein JJ, Lindemans J, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1997;96:2573–2577.
237. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, et al. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1998;98:204 210.
238. Choi BO, Kim NK, Kim SH, Kang MS, Lee S, Ahn JY, Kim OJ, Kim S, Oh D. Homozygous C677T mutation in the MTHFR gene as an independent risk factor for multiple small-artery occlusions. *Thrombosis Research.* 2003;111:39-44.
239. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst, Tran P, Chen Z, Chan M, Rozen R. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, 1998; 9: 652-656.
240. Markus HS, Ali N, Swanminathan R, et al. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke.* 1997;28:17389-1743.
241. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylen tetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 2000; 151:862-877.
242. Tran P, Chan M, Pai A, Goyette P, Milos R, Rozen R et al. Multiple transcription start sites and alternative splicing in the methylenetetrahydrofolate

- reductase gene result in two enzym isoforms. *Mamm Genome*, 2002; 9(8):652-656.
243. Sharp L, Little J. Polymorphism in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: A HuGE Review *Am J Epidemiol* 2004, 159:423-443.
 244. Güleç S, Aras O, Akar E ve ark. MTHFR gene polymorphism and risk of premature myocardial infarction. *Clinical Cardiology* 2001, 24 (4):281-4.
 245. Y, Kitamura K, Yazaki Y. Methylenetetrahydrofolat Reductase Gene Polymorphism and Ischemic Stroke in Japanese. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 1998;18:1465- 1469.
 246. Li Z, Sun Li, Zhang H, Liao Y, Wang D, Zhao B, Zhu Z, Zhao J, Ma A, Han Y, Wang Y, Shi Y, Ye J, Hui R. Elevated Plasma Homocysteine Was Associated With Hemorrhagic and Ischemic Stroke, but Methylenetetrahydrofolat Reductase Gene C677T Polymorphism Was a Risk Factor Thrombotic Stroke. *Stroke*. 34(9);2085-90, 2003.
 247. Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the Methylenetetrahydrofolat Reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke*. 1997;28:1739-43.
 248. Libby P, Bonow R, Zipes D.P, Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, Edition 8th, 2007; 1859-1862.
 249. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996;94:2410–2416.
 250. İlhan N, Kucuksu M, Kaman D, İlhan N, Ozbay Y. The 677 C/T MTHFR Polymorphism is Associated with Essential Hypertension, Coronary Artery Disease, and Higher Homocysteine Levels, *Archives of Medical Research* 39 2008,125-130.
 251. Taşçıoğlu N, Taheri S, Saatçi Ç, Özkul Y. Gastrointestinal Sistem Kanserlerinde Metilentetrahidrofolat Redüktaz Geni 677C→T Polimorfizminin İncelenmesi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2006, 15(1):41-45.
 252. Födinge M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol* 2000, 13 (1) 20-33.
 253. Sharp L, Little J. Polymorphism in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: A HuGE Review *Am J Epidemiol* 2004, 159:423-443.

254. Wolfgang L, Aull S, Serles W. C677T MTHFR mutation and factor V leiden mutation in patients with TIA/Minor stroke: A case-control study. *Thrombosis research*. 1999;93:61-9.
255. Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, Holmer S, Martin LJ, Comuzzie AG, Blangero J, Nurnberg P, Reis A, Riegger GA, Jacob HJ, Schunkert H. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nat Genet* 2002;30:210–214.
256. Wang X, Ishimori N, Korstanje R, Rollins J, Paigen B. Identifying novel genes for atherosclerosis through mouse-human comparative genetics. *Am J Hum Genet* 2005;77:1–15.
257. Yamada Y, Izama H, Ichihara S. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002;347:1916–1933.
258. McCarthy JJ, Parker A, Salem R, et al. Large scale association analysis for identification of genes underlying premature coronary heart disease: cumulative perspective from analysis of 111 candidate genes. *J Med Genet* 2004;41:334–341.
259. Hackam DG, Anand SS. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of the evidence. *JAMA* 2003;290:932–940.
260. <http://www.accessscience.com/popup.aspx?figID=800790FG0010&id=800790&name=figure> (06.02.2011)
261. Cook S, Hess O.M; Homocysteine and B Vitamins. In: Starke K, Freiburg i. Br, editörs. *Handbook of Experimental Pharmacology Volume 170*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2005;329.
262. Coşkun T, Nutristonel Genomik. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2007;50:47-66.
263. Malinous MR, Boston AG, Krouss RM. Homocystein diet and cardiovascular diseases: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Comittee. *American Heart Association* 99: 178-182, 1999.
264. Wolfgang L, Aull S, Serles W. C677T MTHFR mutation and factor V leiden mutation in patients with TIA/Minor stroke: A case-control study. *Thrombosis research*. 93;61-9, 1999.
265. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Redlund M, Stoll C, Alembik Y, Dott B, Czeizel A.E, Gelman-Kohan Z, Scarano G, and 19 others Geographical and ethnic variation of the 677C-T allele of 5,10

- methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide. *J. Med. Genet.* 40: 619-625, 2003.
266. Yılmaz H, İşbir S, Ağaçhan B, Ergen A, Farsak B, İşbir T, C677T Mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and serum homocysteine levels in Turkish patients with coronary artery disease. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 87-90.
 267. Khaled KA, Wyngaard CA, Dzimiri N. Prevalence and role of methylenetetrahydrofolate reductase 677 CT and 1298 AC polymorphisms in coronary artery disease. *Arch Pathol Lab Med.*, 2003; 127:1349-1352.
 268. Perwaiz MI, Tasneem F, Siddiqi P, Farzana Y, Frossard PM et al. Lack of association methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T mutation with coronary artery disease in Pakistani population. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*, 2005; 1 (1):0-0.
 269. Kluijtmans LAJ, Kastelein JJP, Lindemans JL, Godfried HJ et al. Thermolabile Methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *American Heart Association*, 1997; 96:2573-2577.
 270. Guillen M, Corella O, Portoles JI, Gonzalez F, Mulet F, Saiz C. Prevalence of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T mutation in the Mediterranean Spanish population. Association with cardiovascular risk factors. *European Journal of Epidemiology*, 2001; 17:255-261.
 271. Schwartz S. M, Siscovick D. S, Malinow M. R, Rosendaal F.R, Beverly R.K, Hess D.L, Psaty B, Longstreth W. T, Koepsell T. D, Raghunathan T. E, Reitsma P.H. Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation* 96: 412-417, 1997.
 272. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N.Engl. J. Med.* 1991; 324:1149-1155.
 273. Ou T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T et al. Methylenetetrahydrofolate reductase and apolipoprotein E polymorphisms are independent risk factors for coronary artery disease in Japanese: a case-control study. *Atherosclerosis*, 1998; 137:23-8.
 274. Brattström L, Wilcken DEL, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease. The results of a meta-analysis. *Circulation*, 1998; 98:2520-6.

275. Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, Ben-Yehuda A, Selhub J. A Common Mutation A1298C in Human MTHFR Gene: Association With Plasma Total Homocysteine and Folate Concentrations. *J Nutr* 1999;129:1656-61.
276. Brugada R, Marian AJ. A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene is not a major risk of coronary artery disease or myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1997; 128: 107–112.
277. Passaro A, Vanini A, Calzoni F, et al. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase mutation and carotid damage in elderly healthy women. *Atherosclerosis* 2001; 157: 175–180.
278. Gudnason V, Stansbie D, Scott J, Bowron A, Nicaud V, Humphries S. C677T (thermolabile alanine/valine) polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): its frequency and impact on plasma homocysteine concentration in different European populations. EARS group. *Atherosclerosis* 1998; 136: 347–354.
279. Mager A, Battler A, Birnbaum Y, Magal N, Shohat M. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotypes, and age at onset of symptoms of myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2002; 89: 919–923.
280. Jun-Hyun Y, Sang-Chul P. Low plasma folate in combination with the 677 C→T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in Koreans. *Thromb Res* 2000; 97: 77–84.
281. Spence MS, McGlinchey PG, Patterson CC, et al. Family-based investigation of the C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 2002; 165: 293–299.
282. Tokgozoglu SL, Alikasifoglu M, Unsal, Atalar E, Aytemir K, Ozer N, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase genotype and the risk and extent of coronary artery disease in a population with low plasma folate. *Heart* 1999;81:518-522.
283. Akar N, Akar E, Ozel D, Deda G, Sipahi T. Common mutations at the homocysteine metabolism pathway and pediatric stroke. *Thromb Res* 2001;102:115e120.
284. Dille A, Hooper WC, El-Jamil M, Renshaw M, Wenger NK, Evatt BL. Mutations in the genes regulating methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR CYT677) and cystathione beta-synthase (CBS GYA919, CBS

- TYc833) are not associated with myocardial infarction in African Americans. *Thromb Res* 2001;103:109-115.
285. Abbate R, Sardi I, Pepe G, Marcucci R, Brunelli T, Prisco D, et al. The high prevalence of thermolabile 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in Italians is not associated to an increased risk for coronary artery disease (CAD). *Thromb Haemost* 1998;79:727-730.
 286. Kluijtmans LAJ, Kastelein JJP, Lindemans JL, Godfried HJ et al. Thermolabile Methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *American Heart Association*,1997; 96:2573-2577.
 287. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom H.J, Kok F.J, Schouten E.G, MTHFR Studies Collaboration Group MTHFR 677C-T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 288:2023-2031, 2002.
 288. Bagient C, Keech A, Kearney PM, et al(Cholesterol Treatment Trialists' (CTT). Efficacy and safety of cholesterol lowering treatment: prospective metaanalysis of data from 90056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005;366:1267-78.
 289. The Framingham Heart Study. High density lipoprotein cholesterol and mortality. *Arteriosclerosis* 1998; 8: 737-41.
 290. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high –density lipoprotein cholesterol. *N Engl J Med* 1987; 341:410-8.
 291. Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984; 311: 501 – 505.
 292. Center of Diseases Control (CDC). 04.09.2009 “Tobacco Use” http://www.cdc.gov/tobacco/health_effects/heart.htm
 293. Choudhury L, Marsh J.D, 1999. Myocardial infarction in young patients. *Am. J. Med.* 107, 254–261.
 294. Eidelman RS, Vignola P, Hennekens CH. Alcohol consumption and coronary heart disease: A causal and protective factor. *Semin Vasc Med.* 2002; 2: 253-256.
 295. Wu Y, Tomon M, Sumino K. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke: sex difference in Japanese. *Kobe J Med Sci*, 2001; 47:255-262.

296. Hawe E, Talmud PJ, Miller GJ, Humphries SE (2003) Family history is a coronary heart disease risk factor in the Second Northwick Park Heart Study. *Ann Hum Genet* 67:97–106.
297. Nurkalem Z, Sargin M, Alper A, Uyarel H, Sargin H, Samur H, Uzunkar B, Karabulut A, Tezel T. Nondiabetik AKS vakalarında postprandial hipergliseminin koroner lezyonlarla ilişkisinin araştırılması. *Endokrinolojide yönelişler* 12(5) : 175-179 2003.
298. Jermendy Gy, Nádas J, Sápi Z: Lipoblastoma-like lipoatrophia induced by human insulin. Morphological evidence for local dedifferentiation of adipocytes? *Diabetologia* 43: 955-956, 2000.
299. Libby P, Bonow R, Zipes D.P, Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, Edition 8th, 2007, 2050-2053.
300. Claustres M, Frequency and Nature of Mutations, and The Methods to Detect Them, 4th HUGO Mutation Detection Training Course, 2004, Course Booklet, Newcastle, UK, p 6-21.
301. Nussbaum R.L, McInnes R.R, Willard H.F, Boerkoel III C.F, 2005, Thompson&Thompson Tıbbi Genetik, 6. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Saunders.
302. Morita H, Taguchi J, Kurihara H, et al. Genetic polymorphism of 5,10-metylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation*. 1997;95:2032-2036.