

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİYOKARD İNFARKTÜSLÜ HASTALARDA  
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**CANAN GÖREN  
KASIM 2013**

**KASIM, 2013**

**Yüksek Lisans-Biyoloji Bölümü**

**CANAN GÖREN**

**Miyokard İnfarktüsli Hastalarda Matriks  
Metalloproteinaz Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi**

**Gaziantep Üniversitesi  
Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışmanlar**

**Yrd.Doç.Dr. Işık Didem KARAGÖZ**

**Prof.Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Canan GÖREN**

**Kasım 2013**

© 2013 [Canan GÖREN]

T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tezin Adı:** Miyokard İnfarktüsülü Hastalarda Matriks Metalloproteinaz Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi  
**Öğrencinin, Adı Soyadı:** Canan GÖREN  
**Tez Savunma Tarihi:** 25/11/2013

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Doç. Dr. Metin BEDİR  
FBE Müdürü

Bu tezin yüksek lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Canan CAN  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
2. Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Tuncay DEMİRYÜREK

Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI

Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Yrd. Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

İmzası

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Canan GÖREN**

*Beni ben yapan sevgili Anneme ve Babama ...*

## ÖZET

### MİYOKARD İNFARKTÜSLÜ HASTALARDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

GÖREN, Canan

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Danışmanları: Yrd.Doç.Dr. Işık Didem KARAGÖZ

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

KASIM 2013, 63 Sayfa

Ekstraselüler matrikste bulunan protein ailelerinden biri olan matriks metalloproteinazlar, ekstraselüler proteinazların önemli bir üyesidir. En önemli görevleri ekstraselüler matriksin yıkımıdır. Her biri farklı bir gen ürünü olan ve koroner tıkanıklık ile ilişkili üyeler, matriks metalloproteinaz 2 ve 9, farklı kromozomlar üzerinde bulunmaktadır. Bu enzimler; ekstraselüler matriksin iş potansiyeli, dokunun yeniden şekillenmesi, anjiyogenez ve morfogenezde oldukça esansiyel bir konuma sahiptir. Matriks metalloproteinazların aktivitelerindeki kontrolsüz artışın; kardiyak hastalık, ateroskleroz, periodontal hastalık, tümör hücre metastazı ve artrit gibi birçok hastalığın patogenezinde etkili olup, miyokard infarktüsü gelişiminde rol almaktadır. Bu çalışmada matriks metalloproteinaz 2 ve 9 genlerinde meydana gelen tek nükleotit polimorfizmlerinin miyokard infarktüsü ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla miyokard infarktüsü tanısı konmuş 258 hasta ve birinci derece yakınında herhangi bir kalp rahatsızlığı bulunmayan 127 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Matriks metalloproteinaz-2 (1575 G/A) ve matriks metalloproteinaz-9 (1562 C/T) gen bölgelerinde meydana gelen polimorfizmler PCR-RFLP yöntemi ile analiz edilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi sonucunda MMP2 (1575 G/A) gen polimorfizmi ile miyokard infarktüsü arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $p<0,0001$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Miyokard infarktüsü, Matriks metalloproteinaz.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE MATRIX METALLOPROTEINASE GENE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION

GOREN, Canan

Master Thesis, Biology Department

Supervisors: Assist.Prof. Işık Didem KARAGOZ

Prof.Dr. Mehmet OZASLAN

November 2013, 63 pages

Matrix metalloproteinases, one of the proteins present in extracellular matrix, are an essential member of extracellular proteinases. The most important tasks of them are destruction of extracellular matrix. Members that each of them is a different gene product and has a relationship between coronary steanosis. Matrix metalloproteinases 2 and 9 are located on different chromosomes. These enzymes have essential situations on the work potential of extracellular matrix, remodeling of tissue, angiogenesis and morphogenesis. Controlled increase on the activity of matrix metalloproteinases have influence over much of the diseases pathogenesis including cardiac disease, atherosclerosis, periodontal disease, metastasis of tumor cells and arthritis.They are also participate on the development of myocardial infraction. Aim of this study is to investigate the relationship between single nucleotit polimorphisms of the matrix metalloproteinases 2 and 9 genes and MI. For that reason 258 patients who have suffered from acute MI and 127 people who have no close relatives that have never experienced heart disease, are used in this research. Polymorphisms were matrikx metalloproteinase 2 gene (1575 G/A) and matrix metalloproteinase 9 gene (1562 C/T) analysed by using PCR-RFLP method. We found a significant associata between MMP2 1575 G/A polimorphism and miyocardial infraction ( $p < 0,0001$ ).

**Key Words:** Miyocardial infraction, Matrix metalloproteinase.



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde beni destekleyen, yönlendiren, tez çalışmalarımın her aşamasında bilimsel ve sosyal katkılarını esirgemeyen, güler yüzüyle her zaman yanımda olan danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Işık Didem KARAGÖZ'e;

Çalışmalarım süresince deneyimleriyle her türlü konuda bana yol gösteren sevgili hocam Prof.Dr. Mehmet ÖZASLAN'a;

Çalışmam boyunca örnek materyal toplanmasında büyük emeği geçen sayın Uzman Dr. Alper KARAGÖZ'e ve Uzman Dr. Serdar TÜRKMEN'e;

Beni bugünlere getiren, manevi ve maddi desteklerini esirgemeyen ve sonuna kadar yanımda olacaklarına inandığım canım babama, ablacığıma ve özellikle onu dünyadaki bütün varlıkların üzerinde tuttuğum anneciğime;

Tüm bu zorlu süreç içerisinde karşılaştığım zorluklara benimle birlikte göğüs geren ve sıcaklığını her zaman hissettiğim, yüreğimin gülen yüzü eşim Barış GÖREN'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Bu tez çalışması FEF12.12 nolu proje olarak Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (GAÜNBAAP) tarafından desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
RESİM LİSTESİ.....	xiii
TABLO LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xv
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.....	3
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Koroner Kalp Hastalığı.....	3
2.2 Koroner Arter.....	3
2.2.1 Koroner Arterlerin Anatomisi.....	4
2.2.2 Koroner Arterlerin Histolojisi.....	5
2.3 Ateroskleroz.....	6
2.3.1 Epidemiyoloji.....	7
2.3.2 Aterosklerozun Risk Faktörleri.....	7
2.4 Miyokard İnfarktüsü (MI).....	12

2.4.1	Epidemiyoloji.....	14
2.4.2	Fizyopatoloji.....	14
2.5	Damar Oluşum Çalışmalarının Tarihçesi.....	15
2.6	Anjiyogenez.....	17
2.7	Matriks Metalloproteinazlar (MMP) .....	19
2.7.1	Jelatinazlar.....	21
2.8	Akut Miyokard İnfarktüsü ve MMP İlişkisi.....	23
BÖLÜM 3	.....	25
LİTERATÜR ÖZETLERİ	.....	25
BÖLÜM 4	.....	32
MATERYAL-METOT	.....	32
4.1	Kimyasal Maddeler, Cihazlar, Araç-Gereçler ve Solüsyonlar.....	32
4.1.1	Kimyasal Maddeler.....	32
4.1.2	Cihazlar.....	33
4.1.3	Araç-Gereçler.....	33
4.1.4	Solüsyonlar.....	33
4.2	Metot.....	35
4.2.1	Kan Örneklerinin Eldesi.....	35
4.2.2	DNA İzolasyonu.....	35
4.2.3	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) .....	36
4.2.4	Agaroz Jel Elektroforezi.....	39
4.2.5	RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) ile Matriks Metalloproteinaz Genine Ait MMP2 ve MMP9 Polimorfizmlerinin Analizi.....	40
4.2.6	İstatistiksel Analiz.....	41

BÖLÜM 5.....	42
BULGULAR.....	42
5.1 MMP2 Geni 1575 G/A Bölgesi İçin Elde Edilen PCR ve RFLP	
Sonuçları.....	43
5.1.1 MMP2 1575 G/A Bölgesi PCR Ürünü İle İlgili Bulgular.....	43
5.1.2 MMP2 1575 G/A Bölgesi PCR Ürünlerinin <i>Tsp45I</i> Enzimi	
İle Kesim Sonuçları.....	43
5.2 MMP9 Geni 1562 C/T Bölgesi İçin Elde Edilen PCR ve RFLP	
Sonuçları.....	45
5.2.1 MMP9 Geni 1562 C/T Bölgesi PCR Ürünü İle İlgili Bulgular.....	45
5.2.2 MMP9 Geni 1562 C/T Bölgesi PCR Ürünlerinin <i>SphI</i> Enzimi	
İle Kesim Sonuçları.....	45
BÖLÜM 6.....	47
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	47
KAYNAKLAR.....	52

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Kalbin Arteleri.....	5
Şekil 2.2 Koroner Arterlerin Yapısı.....	5
Şekil 2.3 Yeni Damar Oluşumu.....	18
Şekil 2.4 Matriks Metalloproteinaz Domain Yapısı.....	21
Şekil 2.5 MMP9 Domain Yapısı.....	22

## RESİM LİSTESİ

<b>Resim 4.1</b>	MMP2 (1575 G/A) Bölgesi Gradyent PCR Jel Görüntüsü.....	37
<b>Resim 4.2</b>	MMP9 (1562 C/T) Bölgesi Gradyent PCR Jel Görüntüsü.....	38
<b>Resim 5.1</b>	MMP2 1575 G/A Gen Bölgesi PCR Sonuçlarının Kontrol Edildiği Agaroz Jel Fotoğrafi.....	43
<b>Resim 5.2</b>	MMP2 Geninin 1575 G/A Bölgesi Polimorfizminin <i>Tsp45I</i> Enzimi İle Kesimi Sonucu Oluşan Bantlar.....	44
<b>Resim 5.3</b>	MMP9 1562 C/T Gen Bölgesi PCR Sonuçlarının Kontrol Edildiği Agaroz Jel Fotoğrafi.....	45
<b>Resim 5.4</b>	MMP9 Geninin 1562 C/T Bölgesi Polimorfizminin <i>SphI</i> Enzimi İle Kesimi Sonucu Oluşan Bantlar.....	46

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2.1</b>	Aterosklerozun Risk Faktörleri.....	8
<b>Tablo 2.2</b>	Anjiyogenez Uyarıcı ve Engelleyen Etmenler.....	17
<b>Tablo 2.3</b>	Matriks Metalloproteinaz Ailesi Üyeleri.....	20
<b>Tablo 4.1</b>	Primerlerin İleri ve Geri Dizilimleri, Ürün Büyüklüğü ve Bu Bölgelere Ait Kesim Enzimleri.....	37
<b>Tablo 4.2</b>	MMP2 ve MMP9 Bölgeleri İçin Son Optimizasyon PCR Karışımı.....	38
<b>Tablo 4.3</b>	MMP2 ve MMP9 Bölgelerinin Primer Bağlanma Sıcaklıkları ve Döngü Sayısı.....	39
<b>Tablo 4.4</b>	MMP2 Bölgesi İçin Kesim Karışım Protokolü.....	40
<b>Tablo 4.5</b>	MMP9 Bölgesi İçin Kesim Karışım Protokolü.....	40
<b>Tablo 5.1</b>	Demografik Özellikler.....	42
<b>Tablo 5.2</b>	Hasta Grubu Klinik Bilgilerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması.....	42
<b>Tablo 5.3</b>	Matriks metalloproteinaz geni MMP2 (1575 G/A) polimorfizminin genotip ve allel dağılımı.....	44
<b>Tablo 5.4</b>	Matriks metalloproteinaz geni MMP9 (1562 C/T) polimorfizminin genotip ve allel dağılımı.....	46

## **SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**

AAA: Abdominal Aort Anevrizması

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ADP: Adenozin Difosfat

AMI: Akut Miyokard İnfarktüsü

AKS: Akut Koroner Sendrom

A: Adenin

Ang II: Anjiyotensin II

bç: Baz Çifti

Cx: Sirkumfleks Arter

C: Sitozin

CI: Güven Aralığı

DM: Diabetes Mellitusun

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EKAH: Erken Tanılı Koroner Arter Hastalığı

ECM: Ekstraselüler Matriks

EGF: Epidermal Büyüme Etmeni

ET: Endotelin

EtBr: Etidyum Bromür



FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

G: Guanin

gr: Gram

GCSF: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör

HGF: Hepatosit Büyüme Faktörü

HCl: Hidroklorik Asit

IL- 8: İnterlökin-8

IL-1: İnterlökin-1

IDL: Orta Yoğunluklu Lipoprotein

IDCM: İdiyopatik Dilate Kardiyomiyopati

İKH: İskemik Kalp Hastalığı

KY: Kalp Yetmezliği

KD: Kawasaki Hastalığı

kDA: Kilo Dalton

KAL: Koroner Arter Lezyon

KAH: Koroner Arter Hastalığı

KBÜ: Koroner Bakım Ünitesi

Lp(a): Lipoprotein a

LKAD: Geç Tanılı Koroner Arter Hastalığı

LDL-kolesterol: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LAD: Sol Ön İnen Arter

LCA: Sol Koroner Arter

MCSF: Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör

MCP-1: Monosit/Makrofaj Kemotaktik Protein-1

MI: Miyokard İnfarktüsü

MMP: Matriks Metalloproteinaz

Mt-MMP: Membran Tip Matriks Metalloproteinaz

NaCl: Sodyum Klorür

NO: Nitrik Oksit

NSTEAKS: St-Elevasyonsuz Akut Koroner Sendrom

OR: Relatif risk

PAI-1: Plazmojen Aktivitör İnhibitörü

PKG: Perkutan Koroner Girişim

PGF: Plasental Büyüme Faktörü

PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PGF2 $\alpha$ : Prostaglandin F2 $\alpha$

RCA: Sağ Koroner Arter

RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi

SDS: Sodyum Dodesil Sülfat

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmleri

STEMI: St-Elevasyonlu Akut Miyokard İnfarktüsü

T: Timin

TAF: Tümör Anjiyogenik Faktör

TOF: Fallot Tetratolojisi

TXA2: Tromboksan A2

TGF: Transforme Edici Büyüme Faktörü

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

TIMP-1: Doku Matriks Metalloproteinaz İnhibitörü 1

TE: Tris-EDTA

UV: Ultra Viole

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

V: Volt

VLDL: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

VSMC: Vasküler Düz Kas Hücresi

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

İskemik kalp hastalıkları, tüm dünyada ana sağlık problemlerinden biridir. İskemik kalp hastalığı, miyokardın oksijen ihtiyacı ile kan akımı arasındaki dengesizlik sonucu gelişen birbiri ile yakından ilişkili sendromlar grubuna verilen isimdir. İskemik kalp hastalığının en sık görülen sebebi, koroner arter lümenlerinin halk arasında damar sertliği diye de bilinen ateroskleroz nedeniyle tıkanma veya daralmasıdır. Bu nedenle iskemik kalp hastalığı sıklıkla koroner kalp hastalığı veya koroner arter hastalığı olarak adlandırılır.

Koroner arter hastalığı, Birleşik Devletler ve Avrupa dâhil olmak üzere, dünyanın ekonomik olarak gelişmiş ülkelerindeki ölümlerin tek başına en sık nedenidir ve bu ülkelerde ölümlerin yaklaşık üçte birinden sorumludur (Güleç, 2006). Koroner arter daralmasının oranı ve ciddiyeti ile ilişkili olarak bazı sendromlar görülür. Bu sendromlardan biri akut miyokard infarktüsüdür (MI) (Kumar vd., 2003). MI uzamış iskemi sonucu meydana gelen geri dönüşümsüz kalp kası nekrozudur. MI'ün şiddeti, miyokardın O<sub>2</sub> talebi ile koronere kan sunumu arasındaki dengesizliğin derecesi ve süresi ile yakın ilişkilidir. MI'ün %85'i aterosklerozla daralmış bir koroner arteri tıkayan akut bir trombüle oluşur (Gök, 1996). Birleşik Devletlerde, her yıl 1.5 milyon kadar kişi MI geçirmekte, bunların yaklaşık 500.000'i ölmektedir (Güleç, 2006). Türkiye'de ise her 2.5 dakikada sağlıklı bir kişi kalp ve damar hastalıklarına bağlı kalp krizi nedeniyle ölmektedir. Ölenlerin çoğu erkek ve 50 yaş altındadır. Kalp krizinden ölüm oranı toplam ölüm oranının %48'i kadardır (Milliyet blog, 2008). Akut MI riski hayat boyunca progresif olarak artmaktadır. Kırk beş ve 54 yaşlar arasında, erkeklerde, kadınlara kıyasla MI gelişme olasılığı 4-5 kat daha fazladır. Bununla birlikte iskemik kalp hastalığı riski 80 yaşından sonra her iki cinsten eşit olarak görülmektedir (Kumar vd., 2003). Akut MI için bir çok risk faktörü tanımlanmıştır. Bunlar kalıtsal ve edinilen olarak iki gruba ayrılır. Cinsiyet, yaş, aile öyküsü ve genetik faktörler kalıtsal risk faktörleri olarak verilebilir. Sigara, kolesterol, yüksek kan basıncı, obezite, stres, diyet, alkol de edinilen risk faktörlerine

örnek olarak verilebilir (Kumar vd., 2003). Bu tip risk faktörlerinin etkileşimlerinin ortaya konması MI'ün ortaya çıkışı hakkında önemli bilgiler vermesi ve doğru yaklaşımlar geliştirilmesi için önemlidir. Koroner arter hastalıklarıyla ilgili yapılan çalışmalar, MI ile ilgili genetik faktörlerin ve aday genlerin bulunması, hastalıkların altında yatan ve çoğu bilinmeyen genetik etkilerin ortaya çıkarılması açısından önemlidir. Bu çalışmada ekstraselüler matriksin (ECM) yıkımından sorumlu, dokunun yeniden şekillenmesi, anjiyogenez ve morfogenezde esansiyel bir konuma sahip olan matriks metalloproteinazların aktivitelerindeki kontrolsüz artışların ECM degradasyonu yoluyla MI gelişiminde rol alan MMP gen ailesine ait MMP2 ve MMP9 genlerinin genotip ve allel sıklıklarının araştırılması ve polimorfizm hastalık ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## BÖLÜM 2

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 Koroner Kalp Hastalığı

Kalp kasılmasını sağlayan miyokard adı verilen kas tabakasının beslenmesini, dolayısıyla kalbin beslenmesini sağlayan damarlara koroner damar (koroner arter) adı verilir (Hurst, 1990). Koroner arterlerde olabilecek doğrudan kalbin çalışmasını ve verimini etkileyeceğinden dolayı, bu damarlar büyük önem taşımaktadır. Bu damarlarda görülen en önemli hastalık koroner arter hastalığı (KAH)'dır. KAH genellikle ateroskleroz sonucu gelişmektedir. Koroner damarlarda başta kolesterol olmak üzere lipidler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddelerin birikmesi plak oluşumuna sebep olur. Oluşan plaklar zamanla damar içinde büyüyerek normalde esnek olan damarların esnekliğini azaltır ve damarın tıkanmasına yol açar. Damarın tıkanması sonucu oluşan hastalığa ateroskleroz denir. Ateroskleroz veya başka bir nedenle miyokardın ihtiyacı olan oksijenin yeterince karşılanmaması sonucu oluşan iskemi (dokunun kanlanamaması), koroner arter hastalığına sebep olur. Koroner arter hastalığı, genetik faktörler ile çevresel faktörlerin birbirlerini etkilemesi sonucu oluşan multifaktöriyel (çok yönlü) bir hastalıktır (Vassalli ve Winkelmann, 2004). Koroner arter hastalığı için belirlenen hipertansiyon, obezite, hiperkolesterolemi, diyabet, sigara, fiziksel inaktivite ve pozitif aile öyküsü gibi risk faktörlerinin yanı sıra, son zamanlarda aday genlerdeki DNA polimorfizmlerinin (gen çok yapılilik) neden olduğu genetik yatkınlık da önemli bir risk faktörü olarak gösterilmektedir (Gonzales vd., 2006).

#### 2.2 Koroner Arter

Kanı pompalamakla görevli olan kalp, bu görevini yapabilmek için dakikada ortalama 70 kere kasılır ve her defasında ortalama 70 ml kanı organlara gönderir. Organların canlılığını koruyabilmeleri ve görevlerini yapabilmeleri için besin maddeleri ve oksijene ihtiyaçları vardır. Bunlar organlara atar damar (arter) yolu ile

taşınan kan ile ulaştırılır. Kanın arterlere pompalanmasını sağlayan kalbin, ihtiyaç duyulan seviyede çalışabilmesi için kanlanması yani beslenmesi gerekir (Hurst, 1990). Koroner arter kalp kasılmasını sağlayan miyokard adı verilen kas tabakasının beslenmesini, dolayısıyla kalbin beslenmesini sağlar.

### **2.2.1 Koroner Arterlerin Anatomisi**

Aort damarından ayrılan, epikardiyal arterler şeklinde tanımlanan majör koroner arterler, kalbin dış yüzünde sulkus adı verilen oluklarda bulunurlar (Gök, 1996). Başlangıçta sağ ve sol koroner arter olmak üzere iki ana dal halindedir. Sol ana koroner arter, kısa bir segment sonrasında sol ön inen arter (LAD) ve sirkumfleks arter (Cx) olmak üzere ikiye ayrılır (Hurst, 1990).

#### **2.2.1.1 Sağ Koroner Arter (RCA)**

Aort kökünde sağ koroner valsalva sinüsünden çıkar (Gök, 1996). Uzunluğu 12-14 cm, çapı ise 1.5-5.5 mm olan bu arter, sağ kulakçık ve karıncık ile iki karıncık arası bölmenin arka kısmını besler. Bu koroner arterden, akut marjin, sol ventrikül, sinüs düğümü arteri gibi dallar çıkmaktadır (Hurst, 1990).

#### **2.2.1.2 Sol Koroner Arter (LCA)**

Aort kökündeki sol koroner valsalva sinüsünden çıkar (Gök, 1996). Bir ile yirmi beş cm uzunluğunda olup, çapı 2-5.5 mm'dir. Sol koroner arter kalbin daha büyük bir bölümünü beslediğinden dolayı daha önemlidir (Gök, 1996; Hurst, 1990).

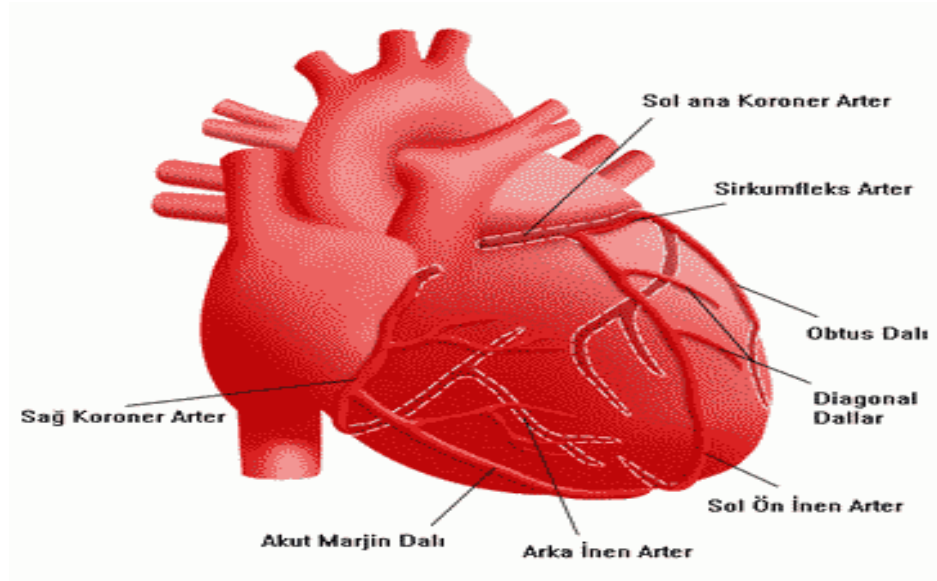
##### **2.2.1.2.1 Sol Ön İnen Arter (LAD)**

Kalbin ön yüzünde yukarıdan aşağıya doğru uzanır. Uzunluğu 10-13 cm, çapı ise 2-5 mm'dir. Sol koroner arterden ayrılan bu arter, sol karıncığın ön yüzü ile iki karıncık arası bölmenin ön kısmını besler, dolayısıyla kalbin ön yüzünün kanlanmasını sağlar. Kendisinden çıkan dallar diagonal ve septal dallar olarak adlandırılır. Kalp kasının en büyük bölümünü besleyen damar olduğundan dolayı, kalbin en önemli damarıdır. Bu damara bağlı MI'de kalp kası hasarı daha büyük olur (Ersöz, 2008).

##### **2.2.1.2.2 Sirkumfleks Arter (Cx)**

Uzunluğu 6-8 cm, çapı 1.5-5.5 mm olan sirkumfleks arter, atrium (kulakçık) ve ventrikülleri (karıncık) arasından dolanıp kalbin arkasına yönelerek, kalbin yan ve

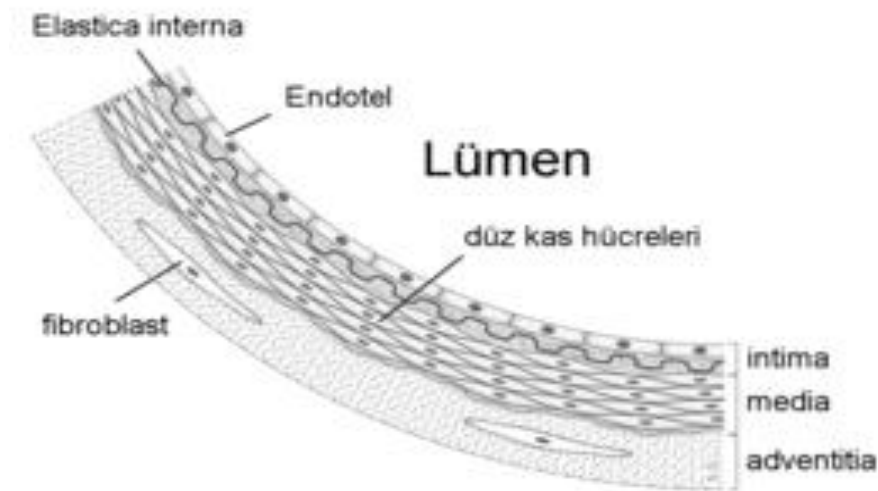
arkasını besler. Kendisinden çıkan yan dallara obtus adı verilir (Ersöz, 2008) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Kalbin Arterleri (Hurst, 1990)

### 2.2.2 Koroner Arterlerin Histolojisi

Arterler histolojik yapılarına göre elastik arterler, musküler arterler ve arterioller olmak üzere üç gruba ayrılırlar (Crawford, 2004). Koroner arterler musküler arter yapısındadır. Musküler arterlerin çapları genellikle 0.5-10 mm arasındadır. Musküler arterler tüm arterlerde olduğu gibi, içten dışa doğru intima, media ve adventisya olmak üzere üç tabakadan oluşan bir duvar yapısına sahiptir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Koroner Arterlerin Yapısı (Crawford, 2004)



### **2.2.2.1 İntima Tabakası**

Bu tabaka en içte bir sıra endotel hücresi, daha sonra kollajen ve elastik fibrillerin oluşturduğu ince bir subendotelyal tabaka ve bu tabakanın altındaki belirgin bir internal elastik laminadan oluşur. Endotel, arter duvarı ile kan elemanları arasında düzgün ve kesintisiz bir sınır oluşturan tek sıra dizilmiş hücrelerden oluşan bir tabakadır. Endotelin başlıca üç görevi vardır: Kan elemanları ile arter duvarı arasındaki geçirgenliği sağlamak, damar tonusunu kontrol etmek ve hemostaz ve inflamasyona (iltihaplanma) göre damar yüzeyinin özelliklerini düzenlemektir (Crawford, 2004).

### **2.2.2.2 Media Tabakası**

Bağ dokusu ile sarmalanmış olan bu tabaka çok katlı, spiral şekilli düz kas hücreleri ve bu hücreler arasındaki matriksten oluşmuştur (Crawford, 2004). Dış sınırlarını internal ve eksternal lamina oluşturur ve mediayı intima ve en dış katman olan adventisyadan ayırır. Damar duvarının en geniş tabakası olan bu tabakanın esas fonksiyonu, damar duvarındaki kontraksiyonu ve dilatasyonu sağlamaktır (Crawford, 2004).

### **2.2.2.3 Adventisya Tabakası**

Koroner arter duvarının en dış tabakasıdır. Bu tabaka genellikle uzunlamasına yerleşim gösteren fibroblastlar, elastik ve kollajen fibrillerin oluşturduğu gevşek yapıda bir bağ dokusundan meydana gelir. Adventisya herhangi bir membranla sınırlanmaksızın, çevre bağ dokusu ile devam eder. Bu tabaka vaza vazorum da denilen kapiller, venül ve arteriollerle damar duvarının beslenmesini sağlar (Hurst, 1990; Crawford, 2004).

## **2.3 Ateroskleroz**

Ateroskleroz lipidler, fibroblastlar, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimal plaklara bağlı olarak meydana gelen, arterlerin esneklik ve antitrombotik özelliklerinin bozulmasına yol açan bir hastalıktır. Ateroskleroz arter duvarının intima tabakasındaki değişimlerin eşlik ettiği, lipidlerin, kanın diğer yapı taşlarının ve fibröz dokunun yerel birikiminden

doğan değişikliklerin bir kombinasyonu olarak da tanımlanır (Wilson, 1994). Komplikasyonları ile birlikte gelişmiş ülkelerde mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenidir (Rudd vd., 2008). Dört major hastalık grubunu içerir. Bu hastalıklar şunlardır:

- 1) Koroner kalp hastalığı (MI, anjina pectoris, kalp yetersizliği ve koroner ölüm)
- 2) Serebrovasküler hastalıklar (İnme ve geçici iskemik atak)
- 3) Periferik arter hastalığı
- 4) Aortikateroskleroz (Torasik veya abdominal aort anevrizması)

### **2.3.1 Epidemiyoloji**

Kardiyovasküler hastalıklar genel popülasyonda yaygın olarak görülmekte ve özellikle 60 yaş üstü erişkinleri etkilemektedir. Gelişmekte olan ülkelerde önde gelen ölüm nedenidir. Son iki yüzyıl boyunca bu nedenle ABD’de 1 milyon kişi hayatını kaybetmiştir (Sümbül, 2010). Yaşam süresi uzadıkça kardiyovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalıkları ve inme nedeniyle ölüm oranı artmaktadır. Ancak 1990’dan sonra artış hızı yavaşlamıştır (Murabi vd., 2003). Koroner kalp hastalıkları kardiyovasküler hastalıkların 1/3-1/2’sini oluşturmaktadır. Her yıl dünya genelinde 19 milyondan fazla insanın akut kardiyak olay (akut koroner sendrom veya ani kardiyak ölüm) geçirdiği tahmin edilmektedir. Bu sayı ABD’de 1 milyon, Türkiye’de 300.000’den fazladır (Sümbül, 2010).

### **2.3.2 Aterosklerozun Risk Faktörleri**

Risk faktörleri;

- Aterosklerotik sürecin uzaması (plak yaygınlığı),
- Oluşmuş plakların kararsız hale gelmesi (hassasiyet, erozyon ve rüptür),
- Lokal (plak trombojenitesi) ya da sistemik faktörlerle trombozun uyarılması şeklinde etkili olabilir (Davies, 2001). Aterosklerozun risk faktörleri Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1:** Aterosklerozun Risk Faktörleri (Güzel,2008)

<b>Majör Risk Faktörleri</b>		<b>Minör Risk Faktörleri</b>
<b>a)Değiştirilebilir olanlar</b>	<b>b)Değiştirilemeyenler</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Dislipidemi: LDL-kolesterol yüksekliği, HDL-kolesterol düşüklüğü,</li><li>✓ Hipertrigliseridemi,</li><li>✓ Lipoprotein(a) yüksekliği,</li><li>✓ Sigara,</li><li>✓ Diabetes Mellitus,</li><li>✓ Hipertansiyon,</li><li>✓ Obezite,</li><li>✓ Fiziksel inaktivite</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Genetik yatkınlık – aile öyküsü,</li><li>✓ Cinsiyet,</li><li>✓ Yaş,</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Stres,</li><li>✓ Kişilik yapısı,</li><li>✓ Hiperürisemi,</li><li>✓ Hiperkoagülabilitate,</li><li>✓ Hiperkalsemi</li><li>✓ Homosistein</li><li>✓ Alkol</li><li>✓ Antioksidan düzeyinin düşüklüğü</li><li>✓ Eser elementler (Demir, Çinko, Bakır, Selenyum)</li><li>✓ Vazektomi</li><li>✓ Kalp transplantasyonu</li></ul>

### 2.3.2.1 Değiştirilebilir Majör Risk Faktörleri

**2.3.2.1.1 LDL-Kolesterol Yüksekliği:** Plazmadaki kolesterolün çok büyük bir kısmı LDL-kolesterol partikülleri içinde taşınır. Total plazma kolesterol düzeyi ile kardiyovasküler hastalıkların oluşumu arasında çok sıkı bir korelasyon vardır. Birçok çalışmada devamlı olarak plazma total kolesterolünün 180 mg/dl altında olduğu şahıslarda koroner arter hastalığı riskinin az olduğu gözlemlenmiştir (Neaton ve Wentworth, 1992). Risk faktörleri arasında en önemlisi yüksek serum LDL-kolesterolü (ya da total kolesterol)'dür. Total kolesterol düzeyinin 150 mg/dl altında olduğu toplumlarda başka bir majör risk faktörü olsa bile aterosklerotik olaylar seyrek olur (Roberts, 1995). Bu riskin çoğu LDL-kolesterol ile açıklandığı için total kolesterole oranla artık LDL-kolesterol dikkate alınmaktadır. LDL-kolesterol düzeyindeki her %1'lik bir farkın koroner arter hastalığı riskini %2 ile %3 arasında değiştirdiği görülmüştür (Güzel, 2008).

**2.3.2.1.2 Trigliserid Yüksekliği:** Trigliseridlerin aterosklerozla bağlantısı tartışma konusu olagelmıştır. Ateroskleroz; düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL-kolesterol), orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL) ve çok düşük yoğunluklu lipoproteinleri (VLDL) içeren aterojenik lipoproteinlerin intimaya girmesi, birikmesi ve modifiye edilmelerine bağlıdır. Lipoproteinlerin ateroskleroza yol açma kapasitelerinin kısmen büyüklüklerine bağlı olması arter duvarından geçemeyecek kadar büyük olan VLDL ve şilomikronların aterojenik olmamasını açıklar. Küçük VLDL ve IDL'lere bağlı daha az şiddetli hipertrigliseridemini aksine şilomikronlara ve büyük VLDL formlarına bağlı hipertrigliseridemi aterojenik değildir (Wood vd., 1998). Bazı çalışmalar HDL-kolesterol ve trigliseridlerin ayrı ayrı ele alınmaması gerektiği, yüksek trigliserid düzeyi ile düşük HDL-kolesterol düzeyi kombinasyonunun birlikte koroner arter hastalığı riskini artırdığı sonucuna varmışlardır (Castelli, 1992). VLDL ile HDL-kolesterol metabolik olarak yakından ilişkilidir ve trigliserid konsantrasyonu yüksek olduğunda HDL-kolesterol konsantrasyonu genellikle düşüktür (Wood vd., 1998). Hipertrigliseridemini koroner arter hastalığı riskini artırması; küçük ve yoğun LDL-kolesterol, postprandiyal lipemi, artmış şilomikron kalıntıları, artmış VLDL kalıntıları, azalmış HDL-kolesterol düzeyi, abdominal obezite, insülin direnci, trombositagregasyonu ve tromboz oluşma yeteneğinde artışa bağlı görülmektedir (Genest ve Cohn, 1995).

**2.3.2.1.3 HDL-Kolesterol Düşüklüğü:** Ortalama kolesterol düzeyinin yüksek olduğu toplumlarda düşük HDL-kolesterol düzeyi iskemik kalp hastalığını (İKH) öngören güçlü bir ölçüttür. Ancak serum total ve LDL-kolesterol düzeylerinin düşük olduğu toplumlarda belirleyici olmayabilir. Bu açıdan düşük HDL-kolesterol düzeyi, diğer majör risk faktörleri gibi (sigara, hipertansiyon ve diyabet) koroner aterosklerozu ancak yüksek LDL-kolesterol düzeyleri söz konusu olduğunda uyarır (Grundy vd., 1990). Bu durum özellikle total ve LDL-kolesterol orta düzeyde yüksek olduğunda (190-250 mg/dl ve 115-175 mg/dl) geçerlidir. En küçük lipoprotein olan HDL-kolesterol damar duvarından kolesterolü uzaklaştırarak koruyucu etki yapmaktadır (Wood vd., 1998). HDL-kolesterol ile ateroskleroz arasında ters yönde sıkı bir ilişki mevcuttur. HDL-kolesterolün her 1 mg/dl azaldığı durumda KAH olayları riskinin %2 ile %3 arasında arttığı bildirilmektedir (Gordon vd., 1989).

**2.3.2.1.4 Lipoprotein(a) Yüksekliği:** Yüksek plazma (Lp(a)) konsantrasyonları, iskemik kalp hastalığı riski yüksek olan bireyleri tanımlar. Ancak Lp(a) ile tıkaçıcı

arter hastalığı arasında neden-sonuç ilişkisi olup olmadığı bilinmemektedir. Plazma Lp(a) düzeyi, KAH için anlamlı bir risk faktörü olarak görülmektedir. Lp(a) ön planda aterosklerotik plaklarda yerleşir (Scanu, 1998). Özellikle LDL-kolesterol seviyesi de yüksekse lipoprotein(a) risk faktörü olarak daha anlamlı hale gelmektedir (Fuster, 1994). Genç yaşta KAH saptanan hastaların %10-20'sinde yüksek Lp(a) düzeyi saptanması Lp(a)'yı prematür koroner arter hastalıkları ile birlikte bulunan en olağan genetik geçişli lipoprotein bozukluğu durumuna getirmiştir (Genest vd., 1991).

**2.3.2.1.5 Sigara:** Sigara içen sağlıklı genç erişkinlerde endotel bağımlı vazodilatasyonda doza bağlı ve geriye dönebilen bir bozulma saptanmıştır (Celermajer vd., 1993). Koroner arter hastalığına bağlı ani ölümlerde, sigara içenlerde sigara içmeyenlerden daha sık koroner trombus saptanmıştır (Burke vd., 1998). Mevcut bilgiler, sigaranın doku faktör ekspresyonunu artırarak plağın trombojenitesini arttırabileceğini düşündürmektedir (Moreno vd., 1998). Anjiyografik olarak sigara yavaş progresyonundan (ateroskleroz) çok koronerlerde hızla tıkanmayla (tromboz) ilişkilidir (Bottcher ve Falk,1990; Grines vd., 1995). Akut MI'da tromboliz sonrası sigara içenlerde, içmeyenlere oranla daha az rezidüel duvar hastalığı kalır (Grines vd., 1995). Sigara sistemik hipertrombotik durumla (trombin üretimi, aktive trombositler, yüksek fibrinojen) ilişkilidir (Roald vd., 1994). Sigara ile koroner tromboz arasındaki bağlantı altta yatan ateroskleroza göre daha güçlüdür ve sigaranın bırakılmasıyla akut MI riskinin hızla ve ciddi şekilde azalması, sorumlu sürecin gerilediğini gösterir (Bottcher ve Falk, 1999). Sigara içimine son verilmesi ile akut MI riskinde %50-70 oranında azalma saptanmıştır (Manson vd., 1992).

**2.3.2.1.6 Diabetes Mellitus:** Diabetes mellitusun (DM) her iki tipinde de koroner arter hastalığı riski yüksektir. Diyabet; KAH riskini orta yaşlı erkeklerde 2 kat, kadınlarda 3 kat artırmaktadır (Baret-Conner vd., 1991). İKH oluşumunda DM ve hiperkolesterolemi güçlü bir şekilde etkileşir (Grundy vd., 1990). Total kolesterolü 150 mg/dl'nin altında olan toplumlarda, DM olan bireylerde bile aterosklerotik olaylar seyrek olur (Roberts, 1995). Diyabetli erişkin hastaların %75-80'inde ölüm sebebi KAH, serebrovasküler olaylar ve periferik damar hastalıklarıdır. İnsüline bağlı diabeti olan hastalarda Lp(a) yüksektir. İnsülin, damar duvarında düz kas proliferasyonunu uyararak ve arter duvarında kolesterol esterlerinin toplanmasını

artırarak ateroskleroza katkıda bulunur (Güzel, 2008). DM, trombotik olayları artırarak ateroskleroza bağlı olay riskine katkıda bulunabilir. DM'de trombosit aktivitesi artar, plazma fibrinojen ve plazminojen aktivatör inhibitör-I düzeyleri yükselir (Falk ve Fuster, 2001). Endotel disfonksiyonu sıklıkla gözlenir ve DM'lu hastalarda koroner trombozdan, plak rüptüründen ziyade endotel erozyonu sorumlu gibi görünmektedir (Davies, 1997). Diyabetin; KAH risk faktörlerinin ortaya çıkmasını kolaylaştırırken, akut MI riskini bağımsız olarak artırdığı düşünülmektedir. Ancak diyabetli hastalarda kan glukoz düzeyinin sıkı kontrolünün koroner risk üzerine etkisi çözülememiştir (Manson vd., 1992).

**2.3.2.1.7 Hipertansiyon:** Sistemik arteryel hipertansiyon, patogenetik olarak kolesterole bağımlı bir ateroskleroz hızlandırıcısı olmakla birlikte, İKH için bağımsız bir risk faktörüdür. Hipertansiyon ve hiperkolesterolemi koroner ateroskleroz oluşumunda güçlü bir şekilde etkileşir. Total kolesterol düzeylerinin 150 mg/dl'nin altında olduğu toplumlarda hipertansiyonu olan kişilerde bile aterosklerotik olaylar seyrek olur (Roberts, 1995). Hipertansiyonun ateroskleroza doğrudan kan basıncının artmasıyla hızlandığı genel olarak kabul edilen görüştür. Ama sistemik ve/veya bölgesel renin anjiyotensin sistemleriyle üretilen anjiyotensin II gibi eşlik eden hormonal değişikliklerin de rolü olabileceği ileri sürülmektedir (Ross, 1999). Hipertansiyonla KAH ve inme arasında doğrudan bir ilişki vardır. Diastolik kan basıncı arttıkça MI ve ölüm riski de artmaktadır. Örneğin; diastolik kan basıncı 76 mmHg'dan 105 mmHg'ya çıktığında KAH göreceli riski 5-6 kat artmaktadır. Hipertansiyon genelde diğer risk faktörleriyle birlikte etki gösterir (Güzel, 2008). Kan basıncının temel bileşenleri arasında kararlı bir bileşen (ortalama arter basıncı) ve pulsatil bir bileşen (nabız basıncı) yer almaktadır. Orta ve ileri yaşlarda büyük arterlerin katılığı arttığı için sistolik basınç yükselir ve diastolik basınç düşer böylece nabız basıncı artar. Framingham çalışmasına göre İKH riskini öngörmede nabız basıncı sistolik ve diastolik basınçtan daha üstündür. Yaşla birlikte arterlerin katılaşması yaşlılarda İKH riskinde önemli bir paya sahip olabilir (Franklin vd., 1999).

**2.3.2.1.8 Obezite:** Şişmanlığın özellikle kadınlarda olmakla birlikte her iki cinsiyette de koroner kalp hastalığı ile ilişkili olduğu görülmüştür (Hubert vd., 1983). Başlıca risk faktörlerinin tümü ile doğrudan ilişkisi olan şişman kişilerin ideal vücut ağırlığına sahip olanlara kıyasla %35-45 oranında daha fazla akut miyokard infarktüsü

(AMI) riski taşıdığı saptanmıştır (Manson vd., 1992) Obezitenin aterosklerotik ilerleyişe yardımı; hipertansiyon, bozulmuş glukoz toleransı, insülin rezistansı, hiperglisemi, LDL-kolesterol artışı ve HDL-kolesterol düşüklüğünü içerir. Abdominal obezitenin kalçada belirgin olan obeziteye göre KAH ile daha çok ilişkili olduğu bulunmuştur (Donahue vd., 1987).

**2.3.2.1.9 Fiziksel İnaktivite:** Fiziksel aktivite; HDL-kolesterol düzeyini artırır, insülin rezistansını düzeltir, vücut ağırlığını azaltır ve kan basıncını düzenler (Güzel, 2008). Düzenli olarak egzersiz yapan kişilerde ani ölüme daha az rastlandığı fakat hareketsiz kişilerde egzersiz programı başladığında ani kardiyak ölüm olasılığında bir artış olduğu belirtilmektedir. Aktif bir yaşam tarzı olanlarda AMI riski sedanter yaşayanlara oranla %35-55 daha düşük olarak ölçülmüştür (Manson vd., 1992).

### **2.3.2.2 Değiştirilemeyen Majör Risk Faktörleri**

**2.3.2.2.1 Aile Öyküsü:** Aile öyküsü olanlarda aterosklerozun çocukluk yaşlarında başladığı düşünülerek daha ciddi olarak ve erken yaşlarda araştırılması önerilmektedir. Aile öyküsü pozitif olanlarda; genetik yatkınlık, obezite, hipertansiyon, dislipidemi, DM gibi birkaç risk faktörü bir arada olabilir (Güzel, 2008)

**2.3.2.2.2 Cinsiyet ve Yaş:** KAH'larının %60'ı erkeklerde görülür. Erkeklerde KAH riski ve mortalitesinin kadınlara göre artmış olduğu gösterilmiştir (Vartiainen, 1994). MI'deki ölümlerin 4/5'inde yaş 65 ve üstüdür (Güzel, 2008).

## **2.4 Miyokard İnfarktüsü (MI)**

MI uzamış iskemi sonucu meydana gelen geri dönüşümsüz kalp kası nekrozudur. Kalbin koroner kan dolaşımının belli bir bölgede yetersiz kalması sonucu o bölgedeki kalp kası dokusunun ölmesi olarak tanımlanan miyokard infarktüsü sıklıkla koroner damarların ateroskleroz sonucu daralma ya da tıkanmalarına bağlıdır. Koroner arterler üzerindeki fiziksel stresler (her atımda miyokard kompresyonu ve çekilmesi gibi) ve oksijen talebindeki değişiklikler, miyokarda kan sunumunu belirler. Koroner arterler içindeki otoregülatuar mekanizmalar, aterosklerotik plaklar bulunsa bile miyokarda yeterli oksijen sunumunu genellikle devam ettirirler. Ancak bu koruyucu mekanizmalar bozulduğunda, uzamış iskemi veya MI gelişebilir (Ceylan 2005). Miyokard (kalp kası) o kadar kalındır ki kalp

kanla dolu olmasına rağmen kanın kas dokusunun derinliklerine ulaşması için koroner damarlara gerek vardır. Dolayısıyla kalp kası dokusunun beslenmesi ve MI'ın görülme sıklığının azalmasında anjiyogenez önemli bir yer tutmaktadır. Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Hücre dışı matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme etmeni, sitokinler ve bunların almaçları anjiyogenezde temel rol oynar (Leung vd., 1989; Lawrence ve Diegelmann, 1994; Goodsell, 2003).

Amerika'da her yıl 1.5 milyondan fazla insanın infarktüs geçirdiği belirlenmiştir (Ufacık 2008). Geçen 30 yıl içerisinde, gerek insidans ve gerekse mortalitesinde belirgin düşüş sağlanmış olsa da günümüzde yine ana ölüm sebeplerinden biridir (bütün ölümlerin %25'inden sorumludur). MI'den ölümlerin çoğu medikal tedaviye başlamadan önce gelişse de hastane içi mortalite oranı %10-15'tir (Ceylan, 2005).

İKH'nın diğer klinik şekilleri gibi MI'nün şiddeti de, miyokardın O<sub>2</sub> talebi ile koroner kan sunumu arasındaki dengesizliğin derecesi ve süresi ile yakın ilişkilidir. MI'ın uzun süreli sonuçları, büyük oranda nekroze olmuş miyokard yaygınlığına bağlıdır. Hastanın semptom ve bulguları uzamış iskemi sırasında gelişen fizyolojik, hücresel ve biyokimyasal değişiklikleri yansıtır (Ceylan 2005).

MI'nün %85'i aterosklerozla daralmış bir koroner arteri tıkayan akut bir trombüsle oluşur. Böyle bir trombüs; aterosklerotik plak, koroner damar endoteli, dolaşımdaki trombositler ve damar duvarının dinamik vazomotor tonusu arasındaki etkileşimlerle gelişir. Miyokard iskemisi ve infarktüsünü hazırlayan ateroskleroz dışı diğer mekanizmalar da bulunabilir (Ceylan 2005).

MI'ın sebepleri:

- Tıkayıcı trombüsle birlikte olan ateroskleroz
- Vaskülit sendromları
- Koroner emboli (suni kapak vb. sebeplerle)
- Konjenital koroner arter anomalileri
- Koroner arter travma veya anevrizması
- Ciddi koroner arter spazmı (primer veya nikotin yahut kokainle uyarılmış)
- Kan viskozite artışı



- Miyokard O<sub>2</sub> talebinde aşırı artma (aort darlığı gibi).

#### **2.4.1 Epidemiyoloji**

Akut MI Kuzey Amerika ve Avrupa'da ölümlerin önde gelen nedenidir. Amerika Birleşik Devletlerinde KAH'a bağlı yıllık ölüm 800.000 üzerindedir (Christofferson, 2010). ABD'de her yıl 1 milyondan fazla kişide AMI görülmektedir. Ayrıca 300.000'den fazla kişinin hastaneye başvurmadan önce AMI nedeniyle öldüğü tahmin edilmektedir. Her 25 saniyede bir Amerikalı AMI geçirmekte ve yaklaşık her 36 saniyede bir kişi kardiyovasküler hastalık nedeniyle ölmektedir. Son 30 yıl içinde koroner bakım ünitelerinin (KBÜ) çoğalması, fibrinolitik tedavi ve kateterlere perfüzyonun gelişmesi nedeniyle sıklığı ve mortalite azalma gözlenmesine rağmen, AMI'de hastaneye başvurmadan önce ölenler dahil tüm mortalite hızı %30'dan fazladır. Primer perkutan koroner girişimlerin (PKG) mortaliteyi düşürücü etki göstermesine rağmen AMI hastalarının büyük bir kısmı bu tedaviye uygun değildir. Hastaların çoğu AMI için 24 saat doğrudan perkutan koroner girişim (PKG) uygulanabilecek hastanelere ulaşamamaktadır. AMI'nın insidans ve mortalitesinin yüksek olduğu ileri yaş nüfus oranının artması ve bu hastaların fibrinolitik tedaviye uygunluğunun azalması nedeniyle, ileriki yıllarda da yine ölümlerin en önde gelen nedeni olarak kalabileceği düşünülmektedir. Dahası, Batı tarzı diyet ve yaşam stiline global bir yönelmeden doğan obezite ve diyabet insidansındaki artış da gelecekte KAH'a bağlı gelişecek hasarları artıracaktır (Christofferson, 2010).

#### **2.4.2 Fیزیopatoloji**

AMI genellikle daha önceden ateroskleroz ile daralmış arterlerdeki koroner kan akımının kesintiye uğramasıyla oluşur (Libby, 2000). Yavaş koroner arter darlığı genellikle akut infarkta yol açmaz; çünkü bu durumda zaman içinde zengin kollateral dolaşım ağı gelişir. Ancak vasküler hasar bölgesinde koroner arter trombusu aniden oluşursa infarkt meydana gelir. Bu hasar sigara, hipertansiyon ve lipid birikimi ile kolaylaştırılır. Birçok vakada aterosklerotik plak çatladığında, rüptüre olduğunda ya da ülserleştğinde ve lokal yada sistemik şartlar trombogenezi kolaylaştırdığında infarkt oluşur (Akbulut, 2006).

Aterosklerotik plağın rüptürü trombositlerin adezyon, agregasyon ve tromboksanA2 (TXA2), serotonin, adenozindifosfat (ADP), trombin, trombosit aktive edici faktör, doku faktörü, serbest oksijen radikalleri, kollajen ve epinefrin gibi özel mediatörlerin salınımı ile sonuçlanır. Bu mediatörlerin birikimi trombosit agregasyonunu hızlandırır. TXA2, serotonin, trombin ve trombosit aktive edici faktör endotelial hasar çevresindeki vazokonstriktörlerdir. Serotonin, adenzin ve doku faktörünün mitojenik etkisi mevcuttur ve neointimal proliferasyonun gelişimine öncülük eder. ProstaglandinF2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), doku plazminojen aktivatörü ve endotel kaynaklı gevşetici faktör'ün (nitrik oksit) endotelial hasar bölgesindeki göreceli azlığında tromboz gelişimi, vazokonstriksiyon ve neointimal proliferasyon ile ilişkilidir (Akbulut, 2006).

Miyokardiyal hasarın miktarı etkilenen damarın beslediği duvarın büyüklüğüne, trombusun erken spontanlizisini sağlayan doğal faktörlere, kollateral damarlarla getirilen kan miktarına ve kanlanması azalmış miyokardın oksijen ihtiyacına göre değişir. Artmış MI riski taşıyan hastalar kararsız ya da varyant anjinası olup, diğer koroner risk faktörlerini taşıyan hastalardır. Diğer nadir predispozan durumlar hiperkoagülabilitate, kollajen vasküler hastalık, kokain bağımlılığı ve koroner emboli oluşturabilecek intrakardiyaktrombus ve kitlelerdir (Akbulut, 2006).

## **2.5 Damar Oluşum Çalışmalarının Tarihçesi**

Yeni damar oluşumu, anjiyogenezis ya da vaskülarizasyon, hakkındaki çalışmaların genellikle 18. yüzyılda başladığı görülmektedir. 1747 yılında Boerhaave, yaralarda bulunan cerahatın farklı damarların birbirlerine bağlantı yapmasına yardım ettiğini düşünmüştür. Kapiller damar büyümesi hakkında ilk çalışmalardan biri kurbağa larvaları (tadpole) üzerinde Platner (1844) tarafından ortaya konulmuştur. Meyer (1852) ve Travers (1844) yara iyileşmesinde yeni kan damarlarının oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Cıvciv embriyosunda ve farklı tümörlerde kapillerin çoğaldığı Billroth (1856) tarafından gözlenmiştir. Arnold ise 1871 ve 1872 yıllarında inflamasyon ve rejenerasyon dönemlerinde kapillerin oluştuğunu bildirmiştir (Hudlicka, 1984a ve 1984b).

Yeni kan damarlarının oluşması ile ilgili önemli çalışmalar 19. yüzyılın başlarında Goldman tarafından tümöral bir oluşum üzerinde yapılmaya başlanmıştır. Goldman gözlemlerini, "normal olarak gelişen dokunun kan damarları anormal şekilde

gelişmekte olan ve aşırı kan damarı içeren tümör tarafından bozulmakta ve özellikle tümöre komşu olan bölgelerdeki kan damarları genişlemiş ve düzensiz bir şekil almıştır” diye bildirmiştir (Goldman, 1907). Clark ve arkadaşları tavşanların kulaklarında geliştirdikleri transparan çemberleri kullanarak implante ettikleri tümörlerde damar büyümesini gözlemleyerek radyografik bulgular elde etmişlerdir (Clark vd., 1931).

Yapılan çalışmalarda vaskülarizasyonun oluşmasında endotel hücrelerinin rolünün son derece önemli olduğu gösterilmiştir. Yeni kan damarlarının oluşmasının “anjyogenezis (anjyojenezis)” terimi ile tanımlanması 1935 yılında Hertig’in hamile maymunların plasentası üzerinde yaptığı bir çalışmayla yapılmıştır (Hertig, 1935).

Sonraki yıllarda yeni kan damarlarının oluşumu endometriyumda, kıl folikülleri çevresinde, dişlerde, iskelet ve kalp kasında, beyinde vb. dokularda çalışılmaya başlanmıştır. Anjyogenezis konusunda özellikle iskelet ve kalp kasında yapılan çalışmalarda egzersiz, hipoksik ve kalbin bradikardik olarak işlediği şartlarda çalışılmıştır (Hudlicka, 1984a).

Araştırmacılar kan damarlarının bazı organlarda fazla bazılarında az olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu gözlemlerden yola çıkarak Sobin ve Tremer (Sobin ve Tremer, 1977) organlardaki kan damarlarının basitçe besin gereksinimleri için olan damar ağları (iskelet, kalp ve düz kaslar, merkezi sinir sistemi ve mesane vb.) ve belli bir görev için olan damar ağları (deri, akciğer, karaciğer, böbrek, endokrin bezler vb.) şeklinde gruplandırmışlardır. Bununla birlikte kabaca metabolizması yüksek ya da yaptığı iş büyük olan organlarda kan damarları fazla, metabolizması düşük ya da yaptığı iş az olanlarda az bulunur diye bildirilmiştir (Hudlicka, 1984a). Kapiller sayısını araştıran ilk çalışmalardan birinde incelenen dokularda mm<sup>2</sup>'deki kapiller sayısının böbreklerde en fazla, yağ dokusunda en az olduğu gözlenmiştir (Kety, 1951).

Tümör ve yara iyileşmesi gibi konularda oluşan fizyolojik ve patolojik anjyogenezis hakkında ciddi çalışmalar ve tartışmalar 1970'li yıllarda, özellikle Folkman ve arkadaşlarının (Folkman, 1971a) çalışmalarıyla hız kazanmıştır. Yine aynı dönemde aynı grup tarafından ilk anjyojenik faktör tümör anjyojenik faktör (TAF) adı altında sıçan meme tümör ekstresinden izole edilmiştir (Folkman vd., 1971b). Sonraki yıllarda da tümör tarafından salınan ve etrafa difüze olabilen vasküler endotelial

büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörleri (FGF) gibi birçok faktörün olduğu belirlenmiştir (Kerbel, 2000; Ribatti vd., 2002).

Anjiyogenezis oluşumunda önemli rolleri olan büyüme faktörlerinden aFGF, bFGF ve VEGF 1980'li yıllarda izole edilmiştir (Maciag vd., 1984). Bu faktörler ve diğer faktörlerin elde edilmesi ile sonraki yıllarda miyokard infarktüsü ve alt bacak ekstremitlerinde görülen iskemik hastalıkların tedavisinde anjiyogenezisi stimüle eden değişik büyüme faktörlerinin kullanılması için çalışılmıştır (Hudlicka vd., 1992). Anjiyogenezisten sorumlu anjiyojenik faktörlerin keşfinden sonra antianjiyogenik etkili faktörlerin de bilinmesiyle kanser, diyabetik retinopati ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisi yoluna gidilmeye başlanmıştır (Ferrara ve Henzel, 1989).

## 2.6 Anjiyogenezis

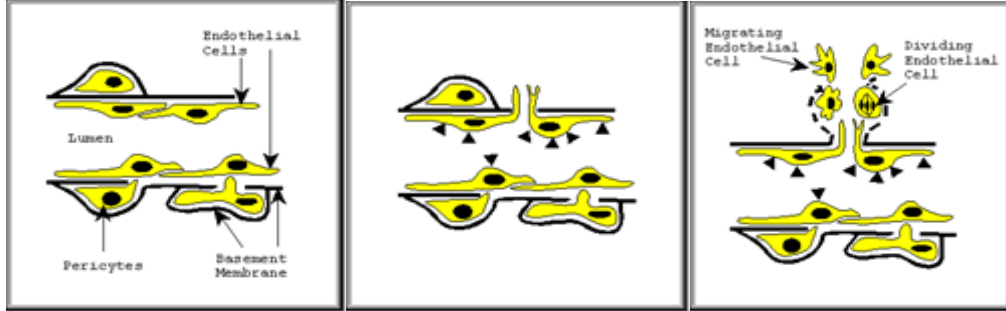
Anjiyogenez mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesidir. Proanjiyogenik ve antianjiyogenik etmenler tarafından kontrol edilir (Carmeliet, 2003) (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2:** Anjiyogenezi Uyaran ve Engelleyen Etmenler

Anjiyogenezi Uyaran Etmenler	Anjiyogenezi Engelleyen Etmenler
VEGF (Vasküler endotelial büyüme etmeni)	Trombospondin-1
PGF (Plasental büyüme etmeni)	Anjiostatin
FGF (Asidik, bazik fibroblast büyüme etmeni)	Endostatin
FGF-3 (Fibroblast büyüme etmeni-3)	Vazostatin
FGF-4 (Fibroblast büyüme etmeni-4)	Vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü
TGF- $\alpha$ (Transforme edici büyüme etmeni- $\alpha$ )	Trombosit faktör-4 parçacığı
TGF- $\beta$ (Transforme edici büyüme etmeni- $\beta$ )	Prolaktin türevi
EGF (Epidermal büyüme etmeni)	Restin
HGF (Hepatosit büyüme etmeni)	Proliferinle ilgili protein
TNF- $\alpha$ (Tümör nekroz etmeni- $\alpha$ )	İnterferon- $\alpha$ - $\beta$
PDGF (Trombosit kaynaklı büyüme etmeni)	Anjiopoetin-2
GCSF (Granülosit koloni uyaran etmen)	Antitrombin-3 fragmanı

IL-8 (İnterlökin-8)	İnterferon ile indüklenebilen protein-10
Anjiogenin	
Proliferin	

Anjiyogenezin fizyolojik ve patolojik olmak üzere iki çeşidi vardır. Fizyolojik anjiyogenez gelişmekte olan fetüste başlar ve doğum sonrasında, erişkin dokulardaki normal kan damarlarını oluşturacak biçimde devam eder. Fizyolojik anjiyogenez kendi kendini sınırlayan bir oluşum olmasına rağmen patolojik anjiyogenez uzun süre devam eder (Dvorak, 2003). Fizyolojik anjiyogenezde kan damarları, düzenli, birbirinden yakın boşluklarla ayrılmış ve iyi düzenlenmiş bir dağılım gösterirler. Patolojik anjiyogenezde ise uyarılan yeni kan damarları (örneğin; tümörler tarafından) son derece anormaldir, düzensiz dallanırlar ve belirli bir düzene uymazlar. Ayrıca yapısal ve işlevsel açıdan heterojen plazma proteinlerine ve plazmaya karşı genellikle yüksek derecede geçirgendirler. Yüzeylerinde pek çok büyüme etmeni almaçları bulunmaktadır (Leung vd., 1989; Dibbens vd., 1999) (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3:** Yeni Damar Oluşumu (Tıglı, 2009)

Anjiyogenezin sıkı biçimde denetlendiği döllenmeden sonra plasentanın gelişmesi, yara iyileşmesi, mensturasyondan sonra uterus iç tabakasının yenilenmesi gibi fizyolojik durumlar dışında anjiyogenez organizmada oldukça sınırlıdır (Allure, 2003). Normal koşullarda anjiyogenez, endotel hücrelerinin çoğalmasını ve etkinleşmesini sağlayan pek çok büyüme etmeni ile buna karşı gelen anti-anjiogenik etmenler arasında oluşan bir denge ile düzenlenir (Haroon vd., 1999). Bu etmenler arasındaki denge bozulduğunda anjiyogenez kontrol edilemez. Bu olay özellikle tümörlerin yayılmasında büyük öneme sahiptir. Anjiyogenez ayrıca iskemik kardiyovasküler hastalıklar, retinopatiler, yara iyileşmesi ve enflamasyon gibi pek

çok önemli hastalık durumlarını da önemli ölçüde etkiler (Dibbens vd., 1999; Ferrara vd., 2003).

## **2.7 MatriksMetalloproteinazlar (MMP)**

Matriks metalloproteinaz (MMP) ailesi, ekstrasellüler proteinazların önemli bir üyesidir. En önemli görevleri ekstrasellüler matriksin (ECM) yıkımıdır. Birçok fizyolojik ve patolojik süreçlere katıldıkları saptanmıştır. Bu enzimler ECM'in yenilenmesi, dokuların yeniden şekillenmesi, angiogenez, morfogenez ve gelişimde oldukça esansiyel bir konuma sahiptir. MMP'ler; embriyonik gelişim, ovulasyon, kemik şekillenmesi ve yara iyileşmesi gibi birçok fizyolojik olayda rol alırlar. Aynı zamanda bu enzimlerin hücre migrasyonu, invazyon, proliferasyon ve apoptozda rol oynadığı bilinmektedir (Visse vd., 2003; Vu vd., 2000).

MMP'lerin hepsi latent proenzimler olarak üretilir ve aktive olmaları için proteolitik işlemlerden geçmiş olmaları gerekir (Visse vd., 2003; Rundhaug., 2005). MMP'lerin aktivitelerinde meydana gelen kontrolsüz artışların ECM degradasyonu yoluyla akut ve kronik hastalıkların patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. MMP'lerin aktivitesinin artışı kardiyak hastalık, ateroskleroz, periodontal hastalık, tümör hücre metastazı ve artritler gibi birçok hastalığın patogenezinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar yayınlanmaktadır (Visse vd., 2003).

Matriks metalloproteinazlar hakkında ilk bilgi Jerome Gross ve Charles Lapiere tarafından 1962 yılında yayınlanmıştır. MMP'lerin molekül ağırlıkları 19-92 kDa arasında değişmektedir (De Souza vd., 2002).

Günümüzde MMP ailesinin 25 üyesi saptanmıştır. MMP'ler substrat spesifitesi, primer yapısı ve hücresel lokalizasyonuna göre 5 temel sınıfa ayrılırlar, Bunlar;

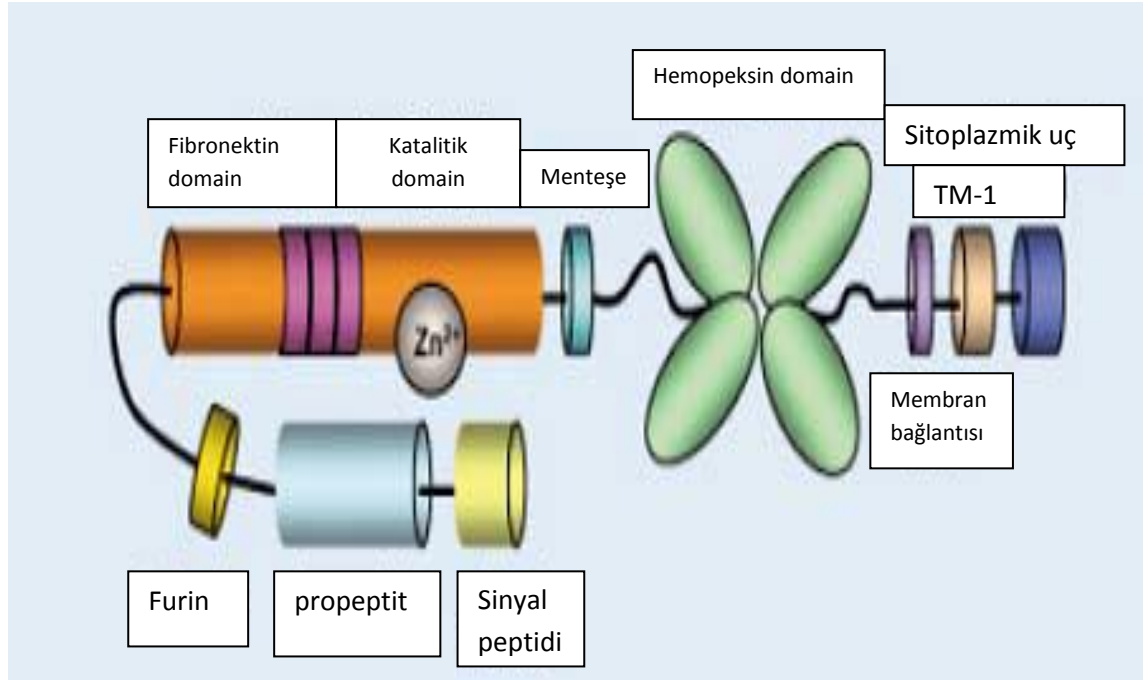
1. Kollajenazlar
2. Stromelizinler
3. Jelatinazlar
4. Matrilsinler
5. Membran-tip MMPler (Mt-MMP) (Tablo 2.3) (Amano vd., 2001 ; Murphy vd., 2003).

**Tablo 2.3:** Matriks Metalloproteinaz Ailesinin Üyeleri

Grup	Üyeler	MMP Numarası	Ana Substratları
<b>Kollajenazlar</b>	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Fibrilerkollajenler
	Nötrofilkollajenaz	MMP-8	Fibrilerkollajenler
	Kollajenaz 3	MMP-13	Fibrilerkollajenler
	Kollajenaz 4	MMP-?	Bilinmiyor
<b>Jelatinazlar</b>	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, Jelatinazlar Kollajen Tip IV-V, Fibronektin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, Jelatinazlar Kollajen Tip IV-V, Fibronektin
<b>Stromelizinler</b>	Stromelizin-1	MMP-3	Laminin, Non-fibriler Kollajen, Fibronektin
	Stromelizin-2	MMP-10	Laminin, Non-fibriler Kollajen, Fibronektin
	Matrilsin	MMP-7	Laminin, Non-fibriler Kollajen, Fibronektin
	Stromelizin-3	MMP-11	$\alpha$ -1 proteinaz inhibitör (serpin)
<b>Mt-MMP'ler</b>	Mt-1 MMP	MMP-14	Pro-MMP-2, kollajenler, jelatin
	Mt-2 MMP	MMP-15	Pro-MMP-2, kollajenler, jelatin
	Mt-3 MMP	MMP-16	Pro-MMP-2, kollajenler, jelatin
	Mt-4 MMP	MMP-17	Pro-MMP-2, kollajenler, jelatin
<b>Diğerleri</b>	Metalloelastaz	MMP-12	Elastin
	Enamelsin	MMP-?	Bilinmiyor
	Xenopus	MMP-?	Bilinmiyor
	Bilinmeyen	MMP-19	Aggrecan

MMP'ler yapısal olarak incelendiğinde; 17-29 aminoasit içeren sinyal peptid bölgesi, 77-87 aminoasit içeren amino terminal propeptid bölgesi ve 170 aminoasit içeren katalitik bölgeden oluşur. Katalitik bölgenin aktif merkezinde çinko atomu ve çinko atomuna bağlı korunmuş sistein aminoasiti bulunur. Katalitik bölge aynı zamanda çinko bağlayıcı bölüm ve korunmuş metiyonin aminoasiti içerir. Bu bölge, MMP'lerin stabilitesini ve enzimatik aktivitesini korumak için katalitik çinko

atomuna ek olarak yapısal çinko atomu ve 1 ya da 3 tane kalsiyum atomu içerir (Visse vd., 2003; Vu vd., 2000; Lijnen, 2002) (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4:** Matriks Metalloproteinaz Domain Yapısı (Visse vd., 2003; Vu vd., 2000; Lijnen, 2002)

Bazı MMP üyelerinde genel yapıya ek olarak farklı bölgeler yer alır. Jelatinaz sınıfına ait MMP-2 ve 9 kollajen ve jelatin etkileşimleri için gerekli fibronektin benzeri bölüm ve 210 aminoasit içeren C-terminal hemopeksin benzeri bölümden oluşur. Hemopeksin benzeri bölüm substrat spesifitesini belirlemede anahtar rol oynar. Ayrıca jelatinazların yapısında katalitik bölge ve C-terminal hemopeksin benzeri bölüm arasında prolince zengin bağlayıcı bölge yer alır (Visse vd., 2003; Vu vd., 2000; Lijnen, 2002).

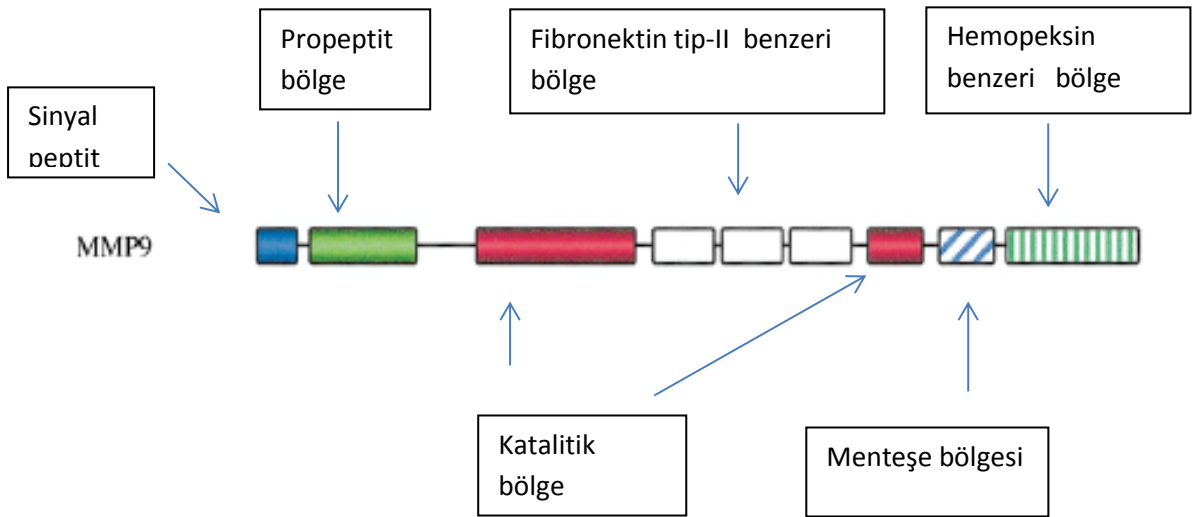
### 2.7.1 Jelatinazlar

Jelatinazlar, diğer MMP'lerden farklı olarak katalizör bölge ile aktif bölgesi arasında jelatin bağlayıcı bölge içeren enzim grubudur. Jelatinazlar, Tip IV, V, VII, X, XI ve XIV kollajen, jelatin, elastin, proteoglikan kor proteinleri, miyelin temel proteini, fibronektin, fibrillin-1, TNF- $\alpha$ , Interlökin-1 $\beta$  öncüllerini yıkma özelliğine sahiptirler. Bu grupta tip A ve tip B olmak üzere iki alt grup mevcuttur: Tip A jelatinaz, 72 kDa olup MMP-2'dir ve keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreler, kondrositler, osteoblastlar, monositler gibi pek çok değişik hücre ve transforme olmuş değişik hücreler tarafından üretilir. MMP-2 aynı zamanda tip 1 kollajeni; MMP-9 ise asidik



ortamda tip 1 kollajenin N-terminalini yıkarak ECM'nin yeniden şekillenmesi olayında önemli rol üstlenir (Opdenakker vd., 2001; Woessner vd., 1991).

MMP-9 (Jelatinaz B), ilk olarak 1974 yılında Sapota ve Dancemicz tarafından polimorfonükleer lökositlerden salgılanan bir jelatinolitik enzim olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.5). Daha sonra yapılan çalışmalarda 92 kDa'luk bir molekül olarak salgılandığı, önce 87 kDa olan bir inaktif maddeye ve sonra aktif form olan 82 kDa veya 83 kDa'luk bir moleküle dönüştürüldüğü gösterilmiştir. 45-67 kDa arasında değişen aktif formlarıda izlenebilmektedir. İn vitro olarak 4-aminofenil merkürük asit, stromelizin, MMP-2 ve plazminojen aktivatörleri hakkında halen yeterli bilgiye sahip değildir. Yine in vitro koşullarda, doku metalloproteinaz-1 inhibitörü MMP-9'un işleyişini değiştirebilir. MMP-9, aktivasyonunu takiben, denatüre kollajen ve jelatin, tip IV ve V kollajen ve elastini de içeren pek çok ekstrasellüler matriks elemanını yıkabilir. MMP-9, diğer bir jelatinaz olan MMP-2 ile substrat düzeyinde bir madde hariç oldukça benzerlik gösterir; MMP-9, kazeine karşı oldukça spesifikken MMP-2'de bu duyarlılık bulunmaz (Woessner vd., 1991).



**Şekil 2.5:** MMP-9 Domain Yapısı (Visse vd., 2003; Vu vd., 2000; Lijnen, 2002)

MMP-9, MMP ailesinin en büyük üyesidir. Sinyal peptidi, propeptit bölgesi, çinko atomu bağlayıcı bölüm, COOH-terminal hemopeksin benzeri bölüm olmak üzere 7 bölümden oluşur. Ayrıca katalitik bölüm ve hemopeksin benzeri bölüm arasında proline zengin bağlayıcı bölge yer alır. C-terminal hemopeksin benzeri bölüm substrat spesifitesini belirlemede anahtar rolü oynar. Fibronektin benzeri bölüm kollajen ve jelatinlere bağlanmayı kolaylaştırır (Lijnen., 2002).

## **2.8 Akut Miyokard İnfarktüsü ve MMP İlişkisi**

1975 yılında Montfort ve Perez-Tamiyo normal miyokardiyum da kollajenazın varlığını göstermiştir (Montfort vd., 1975). Miyokardiyal MMP'lerin kardiyomiyositler gibi inflamatuvar hücreler ve fibroblast benzeri hücrelerde üretildiği bilinmektedir. MMP'ler çoğunlukla latent formda bulunur ve kalpte birçok patolojik durumda aktiviteleri ve ekspresyonları artar. İnfarktüs sonrası MMP aktivitesinin seyri ile ilgili sonuçlar çeşitlidir. Ancak aşikar olan bulgu MMP aktivitesindeki artışın başlangıcının çok erken ortaya çıktığıdır (<MI'dan sonra 1 gün) (Creemers vd., 2001).

Aterosklerotik plağın gelişimi; hasta arterin intimal tabakasında lipitlerin ve ekstra selüler matriks (ECM)'de hücrelerin birikimine yol açan yapısal değişikliklerle ortaya çıkar. Medial vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) proliferasyonu ve erken migrasyonu aterosklerotik lezyona neden olur. MMP aktivitesi ve ekspresyonunun artışı deneysel modelde arteriyel balon yaralanmasından sonra VSMC migrasyonu ve neointimal arteriyel lezyonun gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Üstelik in vitro ve in situ çalışmalar; MMP inhibisyonunun VSMC migrasyonunu azalttığı göstermiştir. Aterosklerotik lezyonların gelişimine katkıda bulunan diğer faktörler; aktive endotelyuma adhezyon moleküllerinin ekspresyonu ile dolaşımdaki inflamatuvar hücrelerin toplanmasıdır. Adhezyon molekülleri endotelial tabakaya lökosit infiltrasyonunu hızlandırır ve MMP etkisinin deneysel olarak bu aşamayı kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Galis vd., 2002).

MMP aktivitesi; bir yandan intimal bölgede internal elastik laminaya doğru vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırarak plak oluşumuna ve proliferasyonuna yol açarak aterosklerozun patogeneze katkıda bulunabilir. Diğer yandan MMP aktivitesi intimada ekstrasellüler matriks yıkımıyla plak hacmini azaltabilir (Jones vd., 2003).

Akut koroner sendrom (AKS)'da hasarlanmaya müsait aterosklerotik lezyonda MMP'ler fibröz kapsülün tahribi vasıtasıyla etkili olur. Fibröz kapsülün yarılmasına engel olan yapılar tip I ve tip II kollajendir. Bununla beraber elastin ve proteoglikanlarda fibröz kapsülde bulunur. Aterosklerotik lezyonda makrofaj kaynaklı köpük hücreleri MMP'lerin lokal salınımını artırır ve fibröz kapsülün incelmesine neden olurlar (Jones vd., 2003).

Elde edilen bulgular; MMP ekspresyonunu ve aktivasyonunu düzenleyen olayların oksidatif stres, inflamasyon, yaralanma, hemodinamik ve vasküler şekillenme mekanizmalarına katıldığı bilinmektedir. Örneğin nitrik oksit (NO) ve süperoksitten doğal olarak oluşan peroksinitritin latent MMP'leri aktive ettiği ve TIMP-1'in yıkımına neden olduğu bildirilmiştir (Galis vd., 2002). Pro-MMP-9'un aktivasyonu; aktif bölgesinin NO'ya maruz kalmasıyla veya proteolitik aktivasyonla meydana gelir (Apple vd., 2005).

Kalp dokusunda MMP-9 kısmen kardiyak yaralanmadan (hasardan) sonra çevre dokuların yıkımından sorumludur. Ventriküler rüptüre hassas transgenik hayvanların, MMP- 9'un gen delesyonu ile korunduğu gösterilmiştir (Apple vd., 2005).

### BÖLÜM 3

#### LİTERATÜR ÖZETLERİ

Pöllänen vd. (2001), yaşları 33 ile 69 arasında olan 269 erkek birey ile PCR-RFLP tekniği kullanılarak MMP-9 (1562 C/T, R279Q), bölgesi polimorfizmleri incelenmiştir. Bu polimorfizmlerin koroner arter lezyonuyla önemli ölçü de ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Morgan vd. (2003), koroner arter hastalığında (KAH) MMP-9 haplotip analizini incelemişlerdir. 1510 bireyde MMP-9 (-1562C>T, R+279Q ve +6C>T ) polimorfizmleri analiz edilmiştir. Haplotip analizi sonucunda C-G-C haplotipinin (-1562C, +279 Q ve +6 C) ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir ve -1562T alleli'nin -1562C allele göre daha yüksek transkripsiyonel aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Jones vd. (2003), matriks metalloproteinaz-9 polimorfizmi (C-1562T) araştırdıkları 414 abdominal aort anevrizma (AAA)'lı, 172 periferik vasküler hastalıklı ve 203 sağlıklı kontrolde, anevrizmalı grupta T alelinin anlamlı derecede fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Vasku vd (2004), MMP-2 ( -1575 G/A, -1306C/T, -790T/G ve -735C/T) bölgelerinin promoter polimorfizmlerinin koroner triple damar hastalığı ile ilişkili olabileceği düşüncesiyle, 187 triple damar hastası ve 196 kontrol grubu ile MMP2 polimorfizmleri PCR ve RFLP teknikleri kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak sadece -790 T/G genotipinin triple damar hastalığı ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır ve -790 T/G genotipinin genetik marker olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Eriksson vd. (2005), yaptıkları çalışmada promotör bölgesindeki matriks metalloproteinazların (MMP- 2, MMP-3, MMP-9, MMP-12) (-1306 C>T, -1171 5A>6A, -1562 C>T, -82 A>G ve -675 4G>5G) polimorfizmlerini ve küçük abdominal aortik anevrizma (AAA) gelişme hızı üzerine plazmojen aktivite inhibitörü-1 (PAI-1) geni etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Sonuç olarak AAA genişlemesi üzerine MMP- 2, 3, 9, 12 polimorfizmlerinin hiçbir etkisinin olmadığını

belirtirken plazmojen sisteminin klinik olarak AAA gelişmesi üzerine küçük bir öneme sahip olabileceğini rapor etmişlerdir.

Park vd. (2005), Kawasaki hastalığı (KD) (çocukluk çağı hastalığı)'nda MMP-3 ve MMP-9 serum düzeylerinin diğer hastalıklara göre önemli ölçüde yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. MMP-3 gen polimorfizminin de koroner arter lezyon (KAL)'lu Kawasaki hastalarında, koroner arter lezyonu olmayan Kawasaki hastalarına göre 6A/6A genotipinin daha yaygın olduğunu; fakat MMP-9 polimorfizminde allel ve genotip dağılımları açısından anlamlı bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Bu bulguların, MMP-3 6A/6A genotipinin Kawasaki hastalığında KAH oluşumu için bağımsız bir risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir.

Ogata vd. (2005), abdominal aort anevrizmasının (AAA) 13 farklı aday gende 14 farklı (MMP1(nt-1607), MMP2(nt-955), MMP3(nt-1612), MMP9(nt-1562), MMP10(nt-180), MMP12(nt-82), MMP13(nt-77), TIMP1(nt-434), TIMP1(rs2070584), TIMP2(rs2009196), TIMP3(nt-1296), TGFB1(nt-509), ELN(nt-422), ve COL3A1(nt-581)) gen polimorfizmlerini incelemişlerdir. Sonuç olarak TIMP-1, TIMP-3, MMP-10 ve ELN genlerinin genetik varyasyonları AAA patogeneze katkıda bulunabilir olabileceğini belirtirken yapılan bir önceki çalışmanın aksine MMP9 (nt-1562) polimorfizmi ile AAA arasında bir ilişki bulamadıklarını rapor etmişlerdir ( J Vasc Surg 2005;41:1036-42.).

Ye (2006), MMP-1(-1607 G/GG), MMP-2 (-1575 G>A, -1306 C>T), MMP-3 (-1612 5A/6A) , MMP-7 (-181 A>G, 153 C>T), MMP-9 (-1562 C>T), MMP-12 (82 A>G), MMP-13 (77 A>G) gen polimorfizmleri koroner arter hastalığı, arteriyal sertlik ve/veya abdominal aort anevrizması ile ilişkilendirilmiştir. Bu genetik bulgunun, MMP'lerin bu hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığı görüşünü desteklediğini belirtmiştir.

Yasmin vd. (2006), yaptıkları çalışma da ilk kez aort sertliği ve elastaz aktivitesinde MMP-9 gen polimorfizminin etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu proteindeki genetik varyasyonun aortun sertleşme sürecine dahil olabileceğini rapor etmişlerdir.

Tang vd. (2007), yaptıkları çalışmada MMP-1 (-1607 1G/2G), MMP-3 (-1171 5A/6A), ve MMP-9 (-1562 C/T) gen polimorfizmleri ve idiyopatik dilate kardiyomiyopati (IDCM) yatkınlığı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. IDCM'li

hastalarda, MMP-3 genotip sıklığı kontrol grubuna göre önemli derece de farklı olduğu bulunurken, MMP-1 ve MMP-9 genotip sıklığında fark bulunamamıştır. MMP-3 5A/6A polimorfizminin, IDCM'ye yatkınlıkta risk faktörü olabileceği tespit edilmiştir.

Hlatky vd. (2007) KAH'lı hastalarda MMP9 ve MMP2 gen polimorfizmlerinin MI üzerine etkisini araştırmışlar ve bu polimorfizmlerin AMI ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Feng Tu vd. (2007), MMP 9'un promotör bölgesindeki -1562 bölgesinde C bazının T bazına dönüşmesi sonucu oluşan polimorfizmin farklı şekilde transkripsiyona yol açtığı ve bunun sonucunun neoplastik ve damar hastalıklarına duyarlılığı arttırmasıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Yihong vd. (2009), 605 sistolik kalp yetmezliği olan hastalarda MMP-2'nin 3 bölgesindeki ( rs243864, rs243866, rs17859821) SNP'leri incelemişlerdir. MMP-2 rs243866 ( 1575 G/A), rs243864 (790 T/G ) bölgelerinin sistolik kalp yetmezliği prognozu ile hiçbir ilişkisi olmadığını rapor etmişlerdir.

Rybakowski (2009), MMP-9 1562 C/T bölgesi polimorfizminin kalp damar hastalıkları, kanser ve nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkisini araştırmıştır. T alleli taşıyıcılarında kardiyak mortalitenin yüksek oranda olduğunu ve koroner kalp rahatsızlığı olan hastalarda kalp krizi geçirme oranının yüksek olduğunu rapor etmiştir.

Alp vd. (2009), koroner arter hastalığında matriks metalloproteinaz-9 ve endotel nitrik oksit sentaz gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi PCR-RFLP metodu ile tespit etmişlerdir. -1562 C/T, Glu298Asp ve -786 T/C polimorfizmleri ile KAH arasında anlamlı ilişkiye rastlanmamıştır.

Yıldırım (2009), sistolik kalp yetersizliği (KY) olan 605 hastada MMP2 geninde meydana gelen üç adet tek nükleotit polimorfizmlerini (rs243864(-790 T/G), rs243866(-1575G/A), rs17859821(-1059 G/A)) araştırmıştır. Bu gende gözlenen rs243864 ve rs243866 polimorfizmlerinin sistolik KY prognozu üzerine bir etkisi bulunamamıştır. MMP-2 rs17859821 A allelinin sistolik KY prognozu ile daha iyi ilişkili olduğunu ayrıca bu genotiplerin proMMP-2 plazma düzeyleri üzerine hiçbir etkisi olmadığı rapor edilmiştir.

Szczudlik vd. Polonya popülasyonunda 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada serebrovasküler hastalıklar ile MMP-9 (1562 C/T) polimorfizmi arasında bir ilişki olup olmadığını incelemişlerdir ve -1562 C/T polimorfizmi ile iskemik inme, subaraknoid kanama veya spontan intraserebral kanama arasında bir ilişki olmadığını vurgulamışlardır.

Cheung vd. (2010), Fallot onarım tetralojili (tetralogy of Fallot (TOF)) hastalarda MMP 3 ve 9 polimorfizmlerinin aort sertliği ve aort kökü genişlemesi üzerine oransal etkileri ile ilgili yapmış oldukları çalışmada MMP-9 (1562 C/T) polimorfizmi TOF onarım sonrası hastalarında aort sertliği ve aort kökü genişlemesi üzerinde oransal etkiye sahip olduğu bulunmuştur; fakat MMP-3 de bu etki gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

Li vd. (2011), MMP ailesi genetik polimorfizmlerinin koroner arter hastalığına yatkınlık oluşturup oluşturmadığını incelemek için kullandıkları meta-analizinde MMP-1 (-1607 1G/2G), MMP-3 (- Gly451ys), MMP-3 (-376G/C), MMP-3 (-1171 5A/6A), MMP-9 (-1562 C/T) ve MMP-9 (-R279Q) bölgelerinde ki genetik polimorfizmlerin koroner hastalık insidansı üzerine etkisinin az olduğunu kanıtlamıştır. MMP-1(-519 A / G), MMP-1(-340 T / C) ve MMP-2(-1306 C / T) polimorfizmlerinin koroner hastalık riskini artırabileceğine dair bir kanıt bulunamamıştır. Alt grup analiz sonuçları özellikle Asya popülasyonundaki koroner arter hastalığında MMP-3(-1711) 5A alleli ve MMP-9 (-1562) C alleli'nin koroner arter hastalığı ile arasındaki ilişkiyi desteklemiştir.

Velho vd. (2011), Kalp yetmezliği olan 313 hasta ve 367 sağlıklı bireyle, MMP-1 (1607 1G/2G), MMP-3 (1171 5A/6A), ve MMP-9 (1562 C/T) bölgelerinin polimorfizmlerini çalışılmışlardır. MMP -1,-3 ve -9 allel ve genotip frekansları hasta gurubu ile kontrol gurubu arasında benzer bulunmuştur. MMP -1, -3 ve -9 polimorfizmlerinin kalp yetmezliğine yatkınlık ile ilişkisi olmadığını tespit etmişlerdir.

Wang vd. (2011), MMP-9 gen polimorfizminin akut koroner sendroma (AKS) yatkınlığa katkıda bulunabileceği düşüncesiyle, Çin Uygur popülasyonun da AKS hastalarında MMP-9 gen (-1562C>T, R279Q) polimorfizmleri arasındaki ilişkisini araştırmışlardır. MMP-9 (1562 C/T)' nin AKS ile önemli derecede ilişkisi olduğu

bulunurken, MMP-9 (R279Q) bölgesinin AKS riski ile önemli bir ilişkisinin olmadığı rapor edilmiştir.

Saedi vd. (2011), İran popülasyonunda erken tanı koroner arter hastalıklı (EKAH) bireylerde, MMP9 -1562 C/T alleli ile MMP-9 plazma aktivitesi, homosistein ve lipit-lipoprotein seviyesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada 53 EKAH'lı hasta (<55 yaş) ve (anjyografilerinde en az %50 daralma olan) (>70 yaş) geç tanı koroner arter hastalıklı (LKAH) bireyler ile çalışmışlardır. MMP-9 1562 C/T alleli taşıyan EKAH hastalarında LKAH'lı hasta grubuna göre MMP-9 aktivitesi, trigliserid, LDL-C ve homosistein düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. MMP-9 1562 C>T allelinin EKAH için risk faktörü olduğu bulunmuştur. Bundan dolayı bu alleli taşıyan bireylerde genç yaşta kalp krizi riski ve koroner arter hastalığı (KAH) geçirme olasılığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Opstad vd. (2011), Koroner arter hastalarında (KAH) MMP-9'un gen ve protein ekspresyonu üzerindeki genetik varyasyonunu araştırmışlardır. 1001 anjiyografik hasta ve 204 kontrol grubu ile promoter 1562 C/T ve ekzon 6 R279Q A/G polimorfizmleri çalışılmıştır. Polimorfizmlerin hiçbirinin KAH ile ilişkisi bulunamamıştır. R279Q polimorfizmi varyant alleli hipertansiyon ile önemli derecede ilişkili olduğu vurgulanmıştır.

Alp vd. (2011), koroner arter hastalığı (KAH) ve kalp krizi (MI)'nde MMP2 (-1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735C/T) promoter polimorfizmlerinin rolünün araştırıldığı çalışmada, -1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G bölgelerinde olan promoter polimorfizmlerinde önemli derecede bir ilişki bulunamamıştır. Bunun yanında -735 C/T bölgesinde MI geçirmiş hasta grubu kontrol grubuna göre CC genotipi TT genotipi ile karşılaştırıldığında TT genotip sıklığının önemli derecede düşük olduğu bulunmuştur (p=0.021). KAH'lı hastalarda sadece ACGC haplotip dağılımı kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık gösterdiği (p<0.05) rapor edilmiştir.

Niu vd. (2012), tarafından meta-analiz ile yapılan çalışmada MMP-3 ve MMP-9 genlerinde meydana gelen polimorfimlerin KAH için risk oluşturduğu rapor edilmiştir.

Setianto vd. (2012), 31 ST-Elevasyonlu Akut Miyokard İnfarktüs (STEMI) hastası ve 39 ST-Elevasyonsuz Akut Kroner Sendrom (NSTEAKS) hastası olmak üzere



toplam 70 kişi ile yaptıkları çalışmada MMP-9 düzeyi STEMI hastalarında NSTEAKS hastalarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. T alleli sıklığı STEMI hastalarında NSTEAKS hastalarına göre 2 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir. Çalışmada iki bulgu elde edilmiştir. İlk olarak, akut koroner sendromun ilk zamanlarında ölçülen MMP-9 serum seviyesinin STEMI'lı hastalarda önemli ölçüde artmış olduğu ve ikinci olarak, STEMI'lı hastalarda yüksek serum MMP-9 (1562 C>T) düzeyi MMP-9 polimorfizmi ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir.

Bahrehand vd. (2012), MMP-2 (G1575A) işlevsel promoter polimorfizmi yüksek dolaşım MMP-2 düzeyleri ve sistemik lupus eritematoz hastalarında kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkisini araştırmışlardır. MMP2 1575 G/A polimorfizminin sistematik lupus eritematozu ile ilişkili olduğu ve kardiyovasküler hastalık gelişimine yol açtığı bulunmuştur. MMP2 A alleli olan sistematik lupus hastalarında kontrol grubuna göre MMP2 aktivitesi, neopterin ve LDL-C daha yüksek düzeydeyken HDL-C'nin daha düşük düzeyde olduğu bulunmuştur. Kardiyovasküler hastalığı olan lupus hastalarında MMP2 düzeyi ile neopterin, total kolesterol, trigliserid düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunurken HDL-C ile arasında negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Hernandez vd. (2012), Meksika popülasyonunda MMP2 geni 1575 G/A bölgesinin MI gelişim riskini arttırdığını rapor etmişlerdir.

Sakowicz vd. (2013), Çalışmalarında 45 yaşın altındaki hastalarda kalp krizi riskini ve 15 aday genlerde 17 seçilmiş ([C677T MTHFR (rs1801133), Ser128Arg Selectin E (rs5361), K469E ICAM1 (rs5030382), Leu125Val PECAM1 (rs71647806), Ser563Asn PECAM1 (rs1135028), K167N LOX1 (rs11053646), -16071G/2G MMP1 (rs17886084), -16125A/6A MMP3 (rs3025058), -1562C/T MMP9 (rs3918242), -603A/G TF (rs1361600), G1691A FV (rs6025), -6754G/5G PAII (rs34857375), -148C/T fibrinojen (rs1800787), -455G/A fibrinojen (rs1800790), -323A1/A2 FVII, R353Q FVII (rs 6046), IVS7 FVII (H5, H6, H7, H8)) polimorfizmlerin olası rolünü incelemişlerdir. Bu çalışmada 271 kalp krizi geçirmiş hasta ve 141 kontrol gurubu ile çalışmışlardır. Sonuç olarak 2 gen (Leu125Val PECAM1 ve A1/A2 FVII) kalp krizi ile ilişkili bulunurken, 2 gen (C677T MTHFR ve 5A/6A MMP3) arter damarların ileri derecede darlığına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Faria vd. (2013), tarafından yapılan çalışmada MMP-3 (-1612 5A/6A ) ve MMP-9 (1562 C/T) SNP'lerinin miyokard kan perfüzyonuna etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. 6A6A genotipi taşıyıcıları ve 6A6A CT/TT kombini genotiplerinin miyokardial iskemi için risk faktörü olduğunu ve MMP-3(6A6A) geni allelik varyasyonunun miyokardial remodelingde önemli rolü olduğunu belirtmişlerdir. MMP-9 geninin allel değişiminin ise miyokard perfüzyonunda önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

## BÖLÜM 4

### MATERYAL VE METOT

#### 4.1 KİMYASAL MADDELER, CİHAZLAR, ARAÇ-GEREÇLER VE SOLÜSYONLAR

##### 4.1.1 KİMYASAL MADDELER

- DNA Taq Polimeraz (Biolabs, İngiltere)
- dNTP Seti (Fermentas, Amerika)
- Kesim Enzimleri: SphI, Tsp45I (Fermentas, Amerika)
- Etanol (%96) (Merck, Kanada)
- Proteinaz K (Sigma, Almanya)
- DNA Marker: 100bp DNA ladder (Fermentas, Amerika)
- Agaroz (Vivantis, Amerika)
- Tris-HCl (Sigma, Almanya)
- Sodyum Klorür (NaCl) (Sigma, Almanya)
- Disodyum EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA) (Amresco, Kanada)
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Sigma, Almanya)
- Amonyum Asetat (Sigma, Almanya)
- Tris Baz (Sigma, Almanya)
- Borik Asit (Merck, Kanada)
- Etidyum Bromür (EtBr) (10 mg/ml) (Sigma, Almanya):
- 6X Yükleme Tamponu (Fermentas, Amerika)
- Primerler:
  - **MMP 9 (1562 C/T) (rs 3918242) bölgesi için;**  
5'-GCCTGGCACATAGTAGGCC-3' (İleri)  
5'-CTTCCTAGCCAGCCGGCATC-3' (Geri)
  - **MMP 2 (1575 G/A) (rs 243866) bölgesi için;**  
5'-ACTGACTCTGGAAAGTCAGAGCA-3' (İleri)  
5'-GGCACAGGGTGAGGGGATGG-3' (Geri)

\*Primerler stok olarak 100 pmol/ $\mu$ l olacak şekilde sulandırılmış ve 50 pmol/ $\mu$ l konsantrasyonda kullanılmıştır.

#### 4.1.2 CİHAZLAR

- Santrifüj (P Selecta Centronic- BL II, İspanya)
- Vorteks (Bio Metra, Almanya)
- Etüv (Memmert, Almanya)
- Buzdolabı (Vestel, Türkiye)
- Derin Dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Thermal Cycler Gradient PCR (Takara, Japonya)
- Otoklav (Nüve, Türkiye)
- Hassas Terazî (Precisa, İsviçre)
- Yatay Elektroforez (Cleaver, İngiltere)
- Güç Kaynağı (Cleaver, İngiltere)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik, Türkiye)
- Görüntüleme Cihazı (Translüminatör) (BioRad, Almanya)

#### 4.1.3 ARAÇ-GEREÇLER

- Mikropipetler (1-10  $\mu$ l, 10-100  $\mu$ l, 100-1000  $\mu$ l) (Eppendorf, Almanya)
- Steril filtreli mikropipet uçları (10  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l'lik) (Gilson, Amerika)
- Ependorf tüpler (0,2 ml, 0,5 ml ve 1,5 ml'lik) (Axygen, Kanada)
- Steril Lateks Eldiven (Helmed, Türkiye)
- Tüp standları (0,5 ml ve 1,5 ml'lik) (Isolab, Almanya)
- Erlen Mayer (250 ml) (Isolab, Almanya)
- Mezürler (500 ml ve 1000 ml) (Isolab, Almanya)

#### 4.1.4 SOLÜSYONLAR

- **Çekirdek Lizis Tamponu (pH: 8.2):**
  - 10 mM Tris-HCl (1,576 gr)
  - 400 mM NaCl (23,4 gr)
  - 2 mM Na<sub>2</sub>EDTA (0,7 gr)

Distile su ile çözülerek 1 lt'ye tamamlandı. Çözelti pH'sı, NaOH ile 8,2'ye ayarlandı. Çözelti otoklavlanarak buzdolabında (+4°C) muhafaza edildi.

- **%10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS):**

- SDS 10 gr

Distile su ile çözülerek 100 ml'ye tamamlandı. Membran filtre ile sterilizasyon yapılarak oda sıcaklığında muhafaza edildi.

- **Amonyum asetat:**

- 148 gr

Distile su ile çözülerek 200 ml' ye tamamlandı ve oda sıcaklığında muhafaza edildi.

- **TE tampon çözeltisi (pH: 7.5) :**

- 1 mM Tris-HCl 0,394 gr
- 1 mM Na<sub>2</sub>EDTA 0,093 gr

Distile su ile çözülerek 250 ml'ye tamamlandı ve otoklavlanarak buzdolabında (+4°C) muhafaza edildi.

- **10X Tris Borat Tamponu (TBE):**

- Trizma base 108 gr
- Borik asit 55 gr
- Disodium – EDTA 9,37 gr

\* Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. pH: 8,3 olacak şekilde ayarlanıp otoklavlandı.

- **1X Tris Borat Tamponu (TBE):**

- 100 ml 10XTBE
- 900 ml dH<sub>2</sub>O

- **2 mM dNTP karışımı**

## 4.2 Metot

### 4.2.1 Kan Örneklerinin Eldesi

Çalışmaya Şubat-Eylül 2012 tarihleri arasında Gaziantep bölgesinde bulunan Şehitkamil Devlet Hastanesi Kardiyoloji ABD tarafından MI tanısı konmuş 258 hasta ve kendisi ve birinci derece yakınlarında herhangi bir kalp rahatsızlığı bulunmayan 127 sağlıklı birey olmak üzere toplam 385 birey dahil edilmiştir. Bireylerden yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, vücut kütle indeksi (VKİ), teşhis yaşı, anjiyo, bypass, perkütan koroner girişim (anjioplasti) gibi demografik bilgiler hazırlanarak anketle toplanmıştır. Bireylerden toplanan periferik kan örnekleri steril EDTA'lı tüpler içerisine alınmıştır. Toplanan kanlar DNA izolasyon aşamasına kadar -20°C' de saklanmıştır. Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 14.02.2012 tarih ve 14.02.2012/36 nolu onayı alınarak gerçekleştirilmiştir.

### 4.2.2 DNA İzolasyonu

Toplanan kan örneklerinin DNA'larının izole edilmesi "Tuzla Çöktürme (Salting Out) Yöntemi" kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Joseph ve David, 2001).

#### 4.2.2.1 DNA İzolasyon Aşamaları

- 10 cc kan 50 ml'lik tüplere alınarak üzerine 40 ml soğuk steril distile su eklenmiştir ve eritrositleri patlatmak amacıyla tüpler 1-2 dk aşağı yukarı çarpılmıştır.
- Tüpler 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant atılmıştır ve pelletin üzerine hacim 25 ml'ye tamamlanacak şekilde soğuk steril distile su eklendi, pellet çözülene kadar tüpler çarpılmıştır.
- Örnekler 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant atılmıştır ve pelletin üzerine 3 ml çekirdek lizis tamponu, 200 µl Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) ve 150 µl proteinaz K eklenmiştir ve karışım vorteks ile homojenize edilmiştir.
- Tüpler 37 °C' de 16 saat inkübasyona bırakılmıştır.

- Tüplerin içerisine 2 ml amonyum asetat eklendikten sonra 1 dk sallandı ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir.
- Örnekler 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant toplanarak başka bir tüpe aktarılmıştır ve üzerine toplam örnek hacminin 2 katı kadar etanol eklenmiştir.
- Tüpler yavaşça döndürülerek DNA'nın toparlanması sağlanmıştır.
- DNA 500µl TE (Tris-EDTA) tamponunda çözdürüldükten sonra kullanılacağı zamana kadar -80 °C' de saklanmıştır.

#### **4.2.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

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

- Denatürasyon,
- Primerlerin bağlanması (annealing) ve
- Uzama (extension) basamaklarından oluşur (Joseph ve David., 2001).

Matriks metalloproteinaz gen bölgelerinin çoğaltılması işlemi PCR tekniği ile başarılmıştır.

##### **4.2.3.1 Primer Tasarımı**

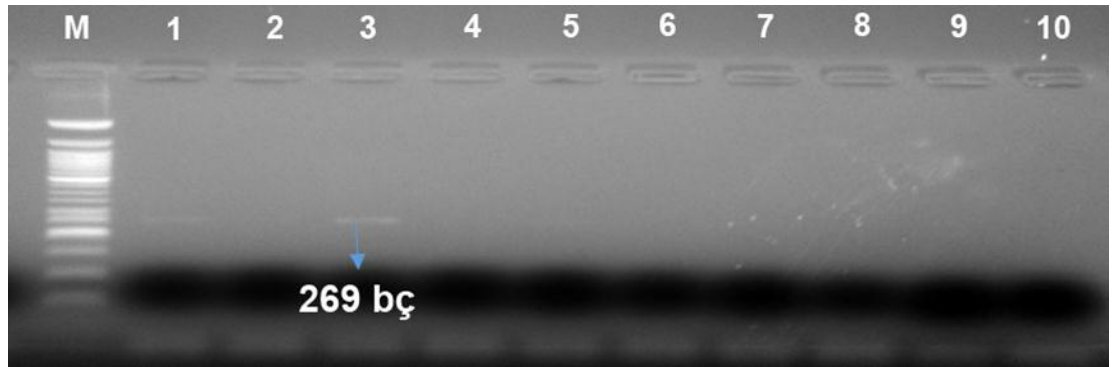
MI geçirmiş hastalarda ve sağlıklı grupta matriks metalloproteinaz gen ailesinden MMP-2 (1575 G/A) ve MMP-9 (1562 C/T) gen bölgelerine ait primer dizileri NCBI veri tabanından ([www.ncbi.nlm.nih.gov.tr](http://www.ncbi.nlm.nih.gov.tr)) elde edilmiştir. Primerlerin ileri ve geri dizilimleri, ürün büyüklüğü ve bu bölgelere ait kesim enzimleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1:** Primerlerin İleri ve Geri Dizilimleri, Ürün Büyüklüğü ve Bu Bölgelere Ait Kesim Enzimleri

Primer Adı		Primer Baz Dizisi	Kesim Enzimi	Ürün Büyüklüğü
MMP2 (1575 G/A)	İleri	5'-ACTGACTCTGGAAAGTCAGAGCA-3'	Tsp45I	269 bç
	Geri	5'-GGCACAGGGTGAGGGGATGG-3'		
MMP9 (1562 C/T)	İleri	5'-GCCTGGCACATAGTAGGCC-3'	SphI	436 bç
	Geri	5'-CTTCCTAGCCAGCCGGCATC-3'		

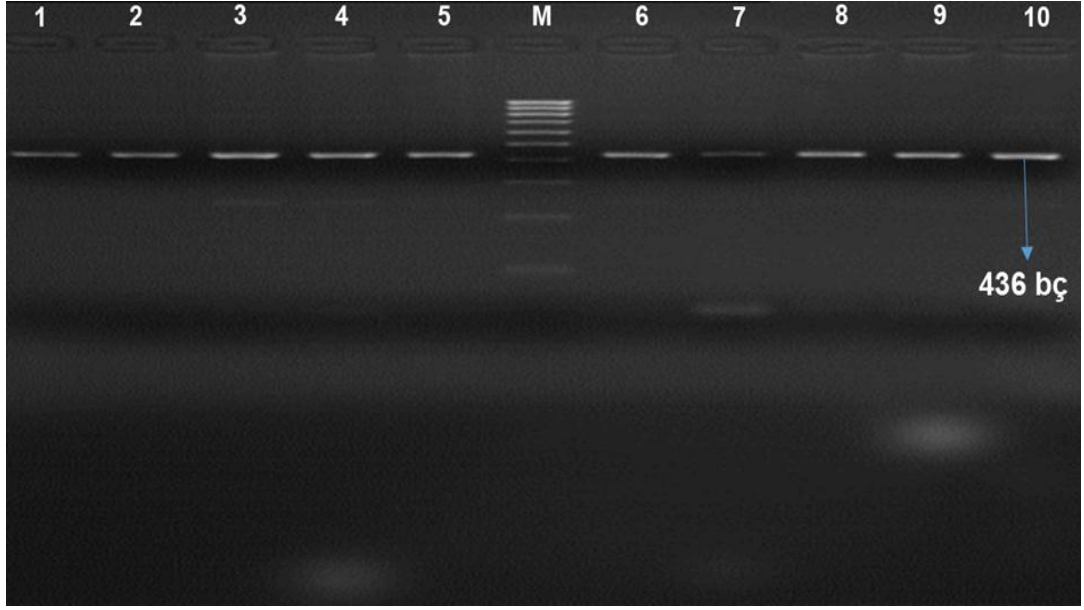
#### 4.2.3.2 PCR Koşullarının Optimizasyonu

PCR tepkimesinde kullanılan primer çiftlerinin en verimli çalışabilecekleri bağlanma sıcaklıklarının tespit edilmesi ve çalışma koşullarının sağlanması amacı ile 450 örnek içerisinde 1 örnek DNA seçilmiş ve 2 çift primer takımı için iyileştirme ve gradiyent PCR yapılmıştır ve 2 ayrı bölge için bu işlem uygulanmıştır. Gradyentli PCR cihazında iki bölgeye ait primerlerin bağlanma sıcaklıkları çalışılıp, optimize edilmiştir (Resim 4.1, 4.2).



**Resim 4.1:** MMP2 (1575 G/A) Bölgesi Gradyent PCR Jel Görüntüsü. (3 numaralı kuyucuktaki ürünün bağlanma sıcaklığı (64°C) bu bölge için standart alınmıştır) (İlk kuyucukta 50 bç'lik DNA büyüklük belirteci kullanılmıştır).





**Resim 4.2:** MMP9 (1562 C/T) Bölgesi Gradyent PCR Jel görüntüsü. (3 numaralı kuyucuktaki ürünün bağlanma sıcaklığı (67°C) bu bölge için standart alınmıştır) (100 bç'lik DNA büyüklük belirteci kullanılmıştır).

Bu bölgelere ait son optimizasyon PCR karışımlarının miktarları ve primerlerin bağlanma sıcaklıkları Tablo 4.2 ve 4.3'de verilmiştir.

**Tablo 4.2:** MMP2 (1575 G/A) ve MMP9 (1562 C/T) Bölgeleri İçin Son Optimizasyon PCR Karışımı

Kimyasallar	Konsantrasyon
ddH <sub>2</sub> O	-
10X Tampon	1X
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1,5-2 mM
dNTP karışımı (2 mM)	0,2 mM (herbiri için)
İleri Primer (Fw)	0,2-0,25 µM
Geri Primer (Rw)	0,2-0,25 µM
Taq Polimeraz (0,5 U)	1,25 U/50 µl
DNA	10 pg-1 µg/50 µl

**Tablo 4.3:** MMP2 (1575 G/A) ve MMP9 (1562 C/T) Bölgelerinin Primer Bağlanma Sıcaklıkları ve Döngü sayısı

<b>Bölge</b>	<b>Primer Bağlanma (Annealing) Sıcaklığı</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü Sayısı</b>
MMP2 (1575 G/A)	64 °C	30 sn	35
MMP9 (1562 C/T)	67 °C	45 sn	35

258 hasta ve 127 sağlıklı olmak üzere 385 örnek için toplam 770 PCR reaksiyonu yapılmıştır. PCR sonunda elde edilen amplifikasyon ürünlerinin kontrol edilmesi için %2–3'lük agaroz jel hazırlanıp 120 voltta (V), 40 dakika (dk) yürütülerek UV ışık altında görüntülenmiştir.

#### **4.2.4 Agaroz Jel Elektforezi**

Hassas terazide tartılan 2 gr agaroz bir erlen içerisine alınmış ve üzerine 100 ml 1XTBE tampon solüsyonu ilave edilmiştir. Agaroz tampon solüsyonu içerisinde tam olarak çözülene kadar mikrodalga fırında 360 Watt'ta 4 dk kaynatılmıştır. Erlen el yakmayacak şekilde yani 50-55°C'ye soğutulduktan sonra 25 µl EtBr ilave edilmiş ve hava kabarcığı kalmayacak şekilde jel tabağına dökülmüştür. Tarak yerleştirildikten sonra jel 40 dk donmaya bırakılmıştır. Jelin donmasını takiben jel elektforez tankına yerleştirilip üzerini örtecek kadar 1XTBE tampon solüsyonu ilave edilmiştir. Her bir kuyucuğa üzerlerine 6X yükleme tamponu eklenen PCR ürünleri ve orta kuyucuğa denk gelecek şekilde 100 bç'lik DNA belirleyici ayrı ayrı yüklenmiştir. Örnekler 120 V'ta 40 dk yürütülmüştür. Ardından UV ışık altında bantların gözlenmesi sağlanmıştır.

İki ayrı bölgeye ait PCR ürünlerinin amplifikasyon sonrası kontrolünün yapılması için %2- 3'lük agaroz jel elektforezinden yararlanılmıştır.

#### 4.2.5 RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) ile Matriks Metalloproteinaz Genine Ait MMP2 (1575 G/A) ve MMP9 (1562 C/T) Polimorfizmlerinin Analizi

PCR amplifikasyonu yapılan ve agaroz jelde görüntülenen örneklerden net bant görülemeyenler için tekrar PCR yapılmıştır. Bant gözlenebilen örnekler kesim (RFLP) reaksiyonuna tabi tutulmuş ve agaroz jel elektroforezinde yürütülerek jel üzerindeki bantlara göre değerlendirme yapılmıştır.

PCR ile çoğaltılan MMP2 ve MMP9 gen bölgeleri özgül restriksiyon endonükleaz enzimlerle üretici firmanın önerdiği koşullarda kesilmiş ve etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Kesim enzimlerinin inkübasyon koşulları ve karışım miktarları Tablo 4.4 ve 4.5’de verilmiştir.

Kesim sonucu oluşan DNA fragmanları agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş, EtBr ile boyanmış ve UV ışık altında görüntülenerek büyüklüklerine göre yorumlanmıştır.

**Tablo 4.4:** MMP2 (1575 G/A) Bölgesi İçin Kesim Karışım Protokolü

Kimyasallar	Miktar (µl)	İnkübasyon Koşulları
PCR ürünü	10 µl	37°C’de 16 saat
10X Tampon	1 µl	
100X BSA	4 µl	
<i>Tsp45I</i>	0,25 µl	
<b>Toplam</b>	<b>15,25 µl</b>	

**Tablo 4.5:** MMP9 (1562 C/T) Bölgesi İçin Kesim Karışım Protokolü

Kimyasallar	Miktar (µl)	İnkübasyon Koşulları
PCR ürünü	10 µl	37°C’de 16 saat
10X Tampon B	1 µl	
ddH <sub>2</sub> O	9 µl	
<i>SphI</i>	0,5 µl	
<b>Toplam</b>	<b>20,5 µl</b>	

#### 4.2.6 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler GraphPad InStat (version 3.05) program kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar standart sapma yada yüzde olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0,05$  olarak alınmış olup, genotip ve allellerinin görülme sıklığının, gruplar arası farklılıklarla beraber değerlendirilmesi için Ki kare testi ( $\chi^2$ ) ve Fisher's exact test kullanılmıştır. Gruplar arası farklar ve anlamlılık sınırları eşlenmemiş Student's t test kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MI ile bu gen polimorfizmleri ilişkisinin ortaya konulmasında risk oranlarını bulabilmek için Odd Ratio (Relatif risk) hesaplanmıştır.

## BÖLÜM 5

### BULGULAR

MI geçirmiş hastalarda matriks metalloproteinaz gen ailesinden MMP2 ve MMP9 genlerinde meydana gelen polimorfizm sıklığının incelendiği bu çalışmada; 258 bireyi kapsayan hasta grubu ve yine 127 bireyi kapsayan kontrol grubu olmak üzere 2 grup oluşturulmuştur. Deney grubunu oluşturan MI geçirmiş hastalar ve kontrol grubu hastalarından toplanan demografik bilgiler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 5.1).

**Tablo 5.1:** Demografik Özellikler

	<b>Kontrol Grubu (n =127)</b>	<b>Hasta Grubu (n=258)</b>	<b>p Değeri</b>
<b>Yaş</b>	49,53±12,44	60,47±12,59	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Boy</b>	165,91±6,85	168,76±8,42	<b>0,001</b>
<b>Kilo</b>	75,68±13,93	76,79±12,54	0,422
<b>Cinsiyet n (E/K, %)</b>	48/79 (37,8/62,2)	176/82 (68,2/31,8)	<b>&lt;0,0001</b>

Ayrıca hasta grubuna ait klinik bilgilerin ise yüzde değerleri bulunarak Tablo 5.2’de verilmiştir.

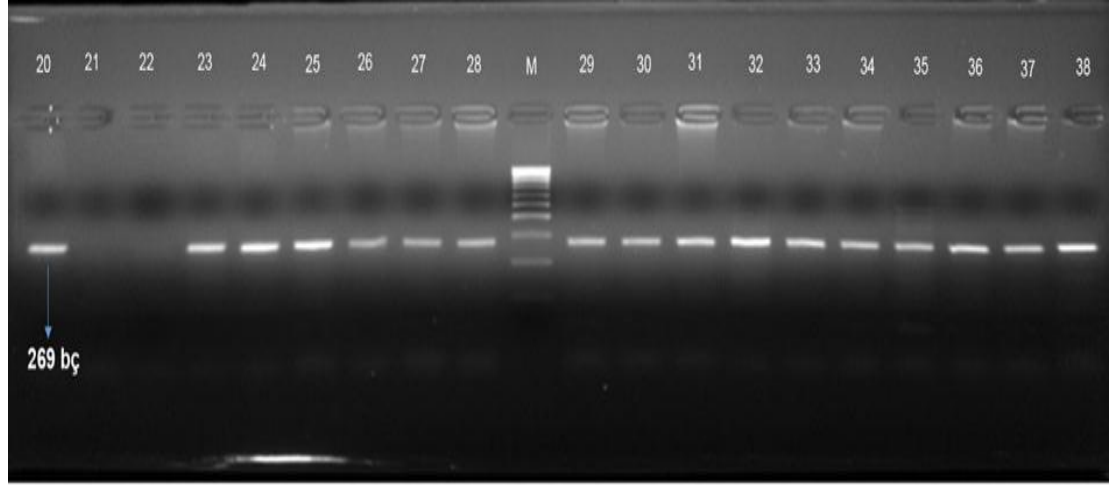
**Tablo 5.2:** Hasta Grubu Klinik Bilgilerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

	<b>Hasta Grubu (n=258)</b>
<b>Sigara n (%)</b>	139 (53,9)
<b>Diabetes mellitus n (%)</b>	96 (37,2)
<b>İnsülin n (%)</b>	45 (17,4)
<b>Hipertansiyon n (%)</b>	128 (49,6)
<b>Anjio n (%)</b>	123 (47,7)
<b>Bypass n (%)</b>	45 (17,4)
<b>Anjioplasti n (%)</b>	62 (24)
<b>Romatizmal Kapak n (%)</b>	22 (8,5)
<b>EF (&lt;50%) n (%)</b>	87 (33,7)

## 5.1 MMP2 Geni 1575 G/A Bölgesi İçin Elde Edilen PCR ve RFLP Sonuçları

### 5.1.1 MMP2 Geni 1575 G/A Bölgesi PCR Ürünü İle İlgili Bulgular

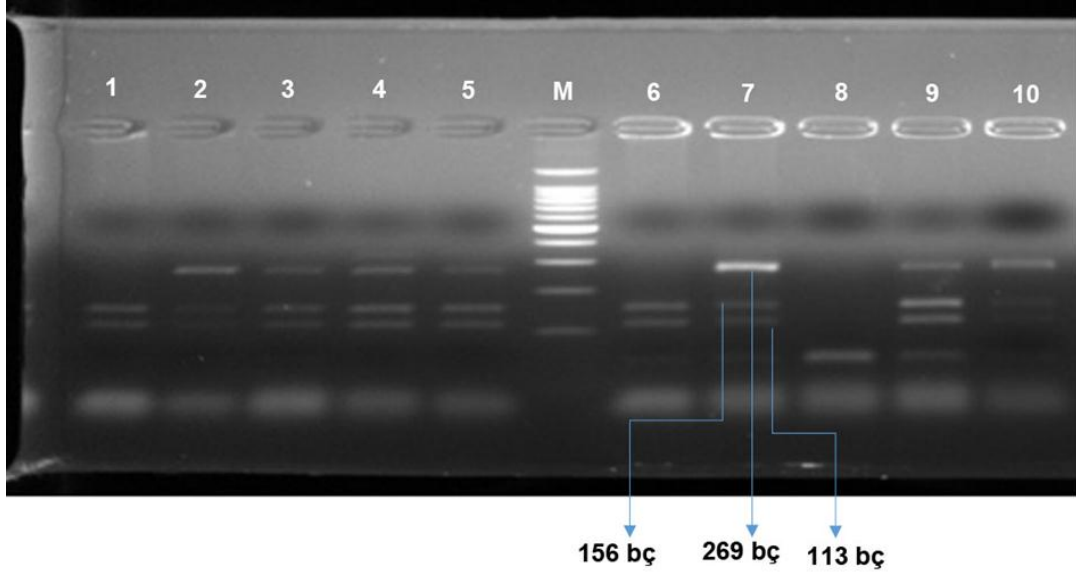
Bu bölgeye ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiş ve 269 bç uzunluğundaki bant UV ışık altında görüntülenmiştir. 10. Kuyucuğa 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci yüklenmiştir (Resim 5.1).



**Resim 5.1:** MMP2 1575 G/A Gen Bölgesi PCR Sonuçlarının Kontrol Edildiği Agaroz Jel Fotoğrafi 10. kuyucuğa 100 bç lik DNA belirleyici yüklenmiştir.

### 5.1.2 MMP2 Geni 1575 G/A Bölgesi PCR Ürünlerinin *Tsp45I* Enzimi İle Kesim Sonuçları

PCR tepkimesi sonrası 269 bç'lik PCR ürünü veren 1575 G/A bölgesi *Tsp45I* (Vasku vd., 2004) restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede guanin (G) içeren allel kesim noktası taşımaktadır. Homozigot G alleli taşıyan bireylerde (yabanıl tip) (GG) enzim bir noktadan kesim yaparak 269 bç olan DNA parçasını 113 bç ve 156 bç olarak 2 parçaya ayırır. Guaninden → Adenine (G→A) bir nükleotit değişimi olması halinde heterozigot bireylerde 269, 156 ve 113 bç uzunluğunda 3 bant oluşur. Homozigot A alleli (mutant tip) taşıyan bireylerde enzimin tanıdığı bölge ortadan kalkmaktadır. Bu bireylerde (AA) 269 bç'lik tek bant gözlenmektedir (Resim 5.2).



**Resim 5.2:** MMP2 Geninin 1575 G/A Bölgesi Polimorfizminin *Tsp45I* Enzimi İle Kesimi Sonucu Oluşan Bantlar (6. Kuyucuğa 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci yüklenmiştir.)

1575 G/A polimorfizmi incelendiğinde hasta grubunda 61 bireyde GG genotipi (%28), 88 bireyde GA genotipi (%40.4), 69 bireyde AA genotipi (%31.6) saptanırken kontrol grubunda 80 bireyde GG genotipi (%83.4), 8 bireyde GA genotipi (%8.3) ve 8 bireyde AA genotipi (%8,3) saptanmıştır. Hasta grubunda G alleli görülme sıklığı %48.2 iken A alleli görülme sıklığı %51.8 olarak bulunmuş; kontrol grubunda ise G alleli görülme sıklığı %87.5 ve A alleli görülme sıklığı %12.5 olarak saptanmıştır (Tablo 5.3).

**Tablo 5.3:** Matriks metalloproteinazgeni MMP2 (1575 G/A) polimorfizminin genotip ve allel dağılımı

Genotipler/ Alleller	Kontrol (n=96) n (%)	MI (n=218) n (%)	P	OR (95% CI)
G/G	80 (83.4)	61 (28)		
G/A	8 (8.3)	88 (40.4)	<0.0001	14.426 (6.502-32.009)
A/A	8 (8.3)	69 (31.6)	<0.0001	11.311 (5.060-25.287)
G	168 (87.5)	210 (48.2)		
A	24 (12.5)	226 (51.8)	<0.0001	7.533 (4.721-12.020)

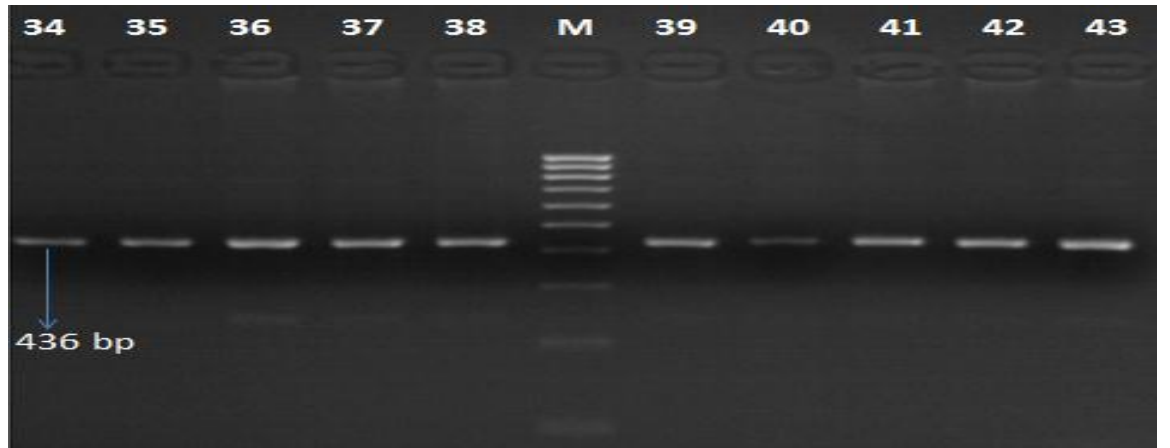
OR: Odds oranı, CI: Güven aralığı

MMP2 1575 G/A bölgesinin polimorfik dağılımları karşılaştırıldığında; hasta ve kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

## 5.2 MMP9 Geni 1562 C/T Bölgesi İçin Elde Edilen PCR ve RFLP Sonuçları

### 5.2.1 MMP9 Geni 1562 C/T Bölgesi PCR Ürünü İle İlgili Bulgular

Bu bölgeye ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiş ve 436 bç uzunluğundaki bant UV ışık altında görüntülenmiştir (Resim 5.3).

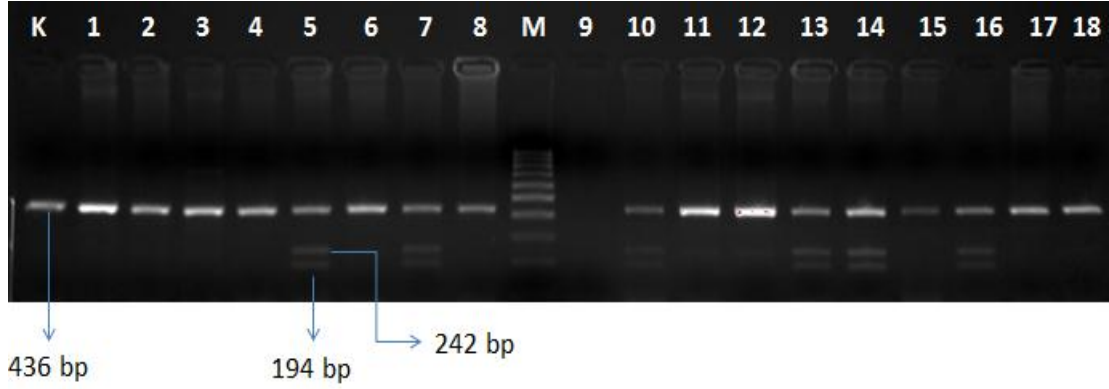


**Resim5.3:** MMP9 1562 C/T Gen Bölgesi PCR Sonuçlarının Kontrol Edildiği Agaroz Jel Fotoğrafı (6. Kuyucuğa 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci yüklenmiştir.)

### 5.2.2 MMP9 Geni 1562 C/T Bölgesi PCR Ürünlerinin *SphI* Enzimi İle Kesim Sonuçları

PCR tepkimesi sonrası 436 bç'lik PCR ürünü veren 1562 C/T bölgesi *SphI* (Morgan vd., 2003) restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede sitozin (C) içeren allel kesim noktası taşımaktadır. Homozigot C alleli (yabani tip) taşıyan bireylerde (CC) enzim bir noktadan kesim yaparak 436 bç olan DNA parçasını 194 bç ve 242 bç olarak 2 parçaya ayırır. Sitozinden→Timine (C→T) bir nükleotit değişimi olması halinde heterozigot bireylerde 436, 242 ve 194 bç uzunluğunda 3 bant oluşur. Homozigot T alleli taşıyan bireylerde (mutant tip) enzimin tanıdığı bölge ortadan kalkmaktadır. Bu bireylerde (TT) 436 bç'lik tek bant gözlenmektedir (Resim 5.4).





**Resim 5.4:** MMP9 Geninin 1562 C/T Bölgesi Polimorfizminin *SphI* Enzimi İle Kesimi Sonucu Oluşan Bantlar (10. Kuyucuğa 100 bç'lik DNA büyüklük belirteci yüklenmiştir.)

1562 C/T gen polimorfizmi incelendiğinde hasta grubunda 194 bireyde CC genotipi (%75.2), 62 bireyde CT genotipi (%24), 2 bireyde TT genotipi (%0.8) saptanırken kontrol grubunda 96 bireyde CC genotipi (%75.6), 28 bireyde CT genotipi (%22) ve 3 bireyde TT genotipi (%2.4) saptanmıştır. Hasta grubunda C alleli görülme sıklığı %87.2 iken T alleli görülme sıklığı %12.8 olarak bulunmuş; kontrol grubunda ise C alleli görülme sıklığı %86.6 ve T alleli görülme sıklığı %13.4 olarak saptanmıştır (Tablo 5.4).

**Tablo 5.4:** Matris metalloproteinazgeni MMP9 (1562 C/T) polimorfizminin genotip ve allel dağılımı

Genotipler/ Alleller	Kontrol (n=127) n(%)	MI (n=258) n(%)	P	OR (95% CI)
C/C	96 (75.6)	194 (75.2)		
C/T	28 (22)	62 (24)	0.797	1.096 (0.659-1.823)
T/T	3 (2.4)	2 (0.8)	0.339	0.330 (0.054-2.008)
C	220 (86.6)	450 (87.2)		
T	34 (13.4)	66 (12.8)	0.820	0.949 (0.609-10.480)

OR: Odds oranı, CI: Güven aralığı

MMP9 (1562 C/T) bölgesinin polimorfik dağılımları karşılaştırıldığında; hasta ve kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

## BÖLÜM 6

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Ateroskleroz ve onun komplikasyonu olan akut MI, dünyanın pek çok ülkesinde ölümün ve yaşam kısıtlanmasının en önemli nedenidir. Ateroskleroza başlatan ve ilerlemesine yol açan biyokimyasal ve hücrel olaylar tümüyle açıklanabilmiş değildir. AMI, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde büyük gelişmelere rağmen, bir çok ülkede kadın ve erkeklerde ölüm nedeni olarak başta gelmekte ve aynı derecede önemli olarak yaşamı kısıtlamaktadır (Endler vd., 2002).

MI'nın etiyojisi oldukça komplekstir ve bu etiyojide çevresel faktörlerle genetik faktörlerin karşılıklı olarak etkileşimine inanılır. Sigara ve diyet gibi yüksek kolesterol ve obeziteye neden olabilen çevresel faktörler kişilerin bu hastalığı neden kazandığı sorusunu kısmen yanıtlayabilirken genetik faktörlerin bu olgulara daha kesin yanıt olabileceği ortadadır.

Matriks metalloproteinaz gen ailesi üyelerinden MMP2 ve MMP9; plak hasarında ve aterosklerozun progresyonunda, kalp yetmezliğini uyaran adımlarda, AMI'dan sonra ventrikül remodeling'inde önemli rol oynayan proteolitik bir enzim ailesinin üyesidir (Kameda vd., 2006). Bu nedenle MMP aktivitesini etkileyebilecek polimorfizmlerin MI üzerine etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma ile Gaziantep ilinde Şubat-Eylül 2012 tarihleri arasında akut MI tanısı konmuş 258 hasta bireyde MMP2 ve MMP9 genlerinde meydana gelen polimorfizm sıklığının incelenmesi ve bu hastaların demografik ve klinik bilgileri ile tespit edilen SNP'ler arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Gaziantep Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin hasta potansiyeli yüksek bir ilidir ve çevre illerden yoğun hasta transferi yapılmaktadır. Dolayısıyla hasta popülasyonumuzu oluşturan grup sadece Gaziantep ilinde yaşayan insanlarla sınırlı kalmamakta aynı zamanda Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin Şanlıurfa, Adıyaman illerini ve Akdeniz Bölgesi'nin Kahramanmaraş ilini de temsil etmektedir.

Çalışmamızın hedef genlerini oluşturan MMP2 ve MMP9'un KAH ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda vaka gruplarının farklılığına dayanan ya da aynı vaka gruplarında etnik köken farklılığına dayanan birbirinden oldukça farklı sonuçlar elde edilmiştir. 2000'li yıllarda başlayan bu çalışmalardan günümüze doğru bir tarihsel sıralamada sonuçları değerlendirecek olursak ilk kez 2001 yılında Pöllänen ve arkadaşları MMP9 genindeki polimorfizmin koroner arter lezyonuyla ilişkili olduğunu; Morgan vd. (2003), MMP9 haplotip analizi sonucunda C-G-C haplotipinin ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir. 2005 yılı sonrası sıklığı artan bu çalışmaların bazılarında MMP9 (1562 C/T) SNP ile KAH vakalarının ilişkili olduğu rapor edilirken tam aksine sonuçların da olduğu bildirilmiştir. Ye ve ark. (2006) tarafından matriks metalloproteinaz gen ailesinden MMP2 ve MMP9'un da aralarında olduğu yedi üyenin arteriyel sertlik ve abdominal aort anevrizması (AAA) ile ilişkili olduğu; yine aynı yılda Jones ve ark. tarafından yapılan çalışmada da MMP9 genindeki değişikliğin AAA ile anlamlı derecede ilişkili olduğu saptanmıştır. Yasmin vd. (2006), aort sertliği ve elastaz aktivitesindeki değişikliğin MMP9 gen polimorfizmiyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Hlatky vd. (2007) KAH'lı hastalarda MMP9 gen polimorfizminin MI ile ilişkisinin olduğunu belirterek bu çalışmayla örtüşmeyen bir sonuç bulmuşlardır. MMP9'un farklı şekilde transkripsiyona yol açmasının neoplastik ve damar hastalığına duyarlılığı arttırdığı vurgulanmış (Feng Tu vd., 2007) ve damar hastalığı ile ilgili yapılmış bir diğer çalışmada MMP9 (1562 C/T) bölgesinin kalp-damar hastalıkları ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu gende T alleli taşıyıcılarında kardiyak mortalitenin ve kalp krizi geçirme oranının yüksek olduğu vurgulanmıştır (Rybakowski, 2009). Ayrıca 2010 yılında yayınlanan farklı bir çalışmada onarılmış fallot tetralojisi olan hastalarda MMP9'un aort sertliği ve aort kökü genişlemesi üzerinde oransal etkisinin bulunduğu belirtilmiştir (Cheung vd., 2010). Yine sonuçları önceki bahsedilen çalışmalarla paralellik gösteren 2011 yılında Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada KAH'a yatkınlıkta MMP1 ve MMP2'nin rolü olmadığını fakat alt grup analiz sonuçlarına bakıldığında özellikle Asya popülasyonunda MMP3 ve MMP9'un rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Buna benzer bir sonuç Wang vd. (2011) tarafından da Uygur Çin popülasyonunda akut koroner sendrom ile MMP9 gen polimorfizminin önemli derecede ilişkili olduğu vurgulanmıştır. İran popülasyonun da ise MMP9 polimorfizminin erken tanı koroner arter hastalıklı (EKAH) bireylerde risk faktörü olduğu belirtilmiş ve T alleli taşıyan bireylerin genç yaşta MI ve KAH geçirme

olasılıklarının yüksek olduğu tespit edilmiştir (Saedi vd., 2011). Çok yakın zamanda yapılan çalışmalara baktığımızda da Niu vd. (2012) MMP3 ve MMP9 polimorfizmlerinin KAH için risk faktörü oluşturduğunu; Setianto vd., (2012) ST elevasyonlu MI hastalarında MMP9 serum seviyesinin ST elevasyonsuz MI'lı hastalara göre daha yüksek olduğu ve yüksek serum MMP9 düzeyinin MMP9 polimorfizmi ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir.

MMP9 geni ile KAH arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren bu çalışmaların yanında herhangi bir ilişki bulunmadığını gösteren makaleler de mevcuttur (Eriksson vd., (2005), Ogata vd., (2005), Park vd., (2005), Tang vd., (2007), Alp vd. (2009), Sczudlik vd. (2010), Obstad (2011), Velho vd., (2011), Faria vd. (2013), Sakowicz vd., (2013)). AAA genişlemesinde MMP2, MMP3, MMP9 ve MMP12 polimorfizmlerinin hiçbir etkisinin olmadığını Eriksson vd. (2005) yaptıkları çalışma ile bildirmişlerdir. Ogata vd. (2005), AAA'da 13 farklı aday gende 14 farklı gen polimorfizmlerini incelemişlerdir. Bu aday genlerden biri olan MMP9'daki polimorfizmi ile AAA arasında bir ilişki bulamadıklarını rapor etmişlerdir. Kawasaki hastalığında MMP3 ve MMP9 serum düzeylerinin diğer hastalıklara oranla önemli ölçüde yüksek olduğunu rapor eden Park vd. (2005), Kawasaki hastalığında koroner arter lezyon (KAL) oluşumu için MMP9 polimorfizminin allel ve genotip dağılımları açısından anlamlı bir fark oluşturmadığını belirtmişlerdir. İdiyopatik dilate kardiyomiyopati (IDCM)'li hastalarda yapılan bir çalışmada IDCM ile MMP9 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Tang vd., 2007). Takip eden yıllarda Alp vd. (2009), KAH ile MMP9, Glu298Asp ve -786Tk polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı rapor etmişler; Sczudlik vd. (2010) ise Polonya popülasyonunda serebrovasküler hastalıklar ile de MMP9 arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Obstad (2011), 1562 C/T ve 6R279Q bölgelerinin gen ve protein ekspresyonu üzerindeki genetik varyasyonun KAH ile ilişkisinin olmadığını belirtirken R279Q varyant allelinin hipertansiyon ile önemli derecede ilişkisinin olduğunu vurgulamıştır. Yine aynı yıl yapılan bir başka çalışmada da kalp yetmezliğinde MMP9 1562 C/T polimorfizminin istatistiksel açıdan önem taşımadığı vurgulanmıştır (Velho vd., 2011). Faria vd. (2013) ise MMP9 gen polimorfizminin miyokard perfüzyonunda önemli bir etkisinin olmadığını belirtmiştir. Bizim çalışmamızda da MMP9 (1562 C/T) SNP ile MI arasında herhangi bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır ( $p>0.05$ ). Literatürde

MMP9 ile KAH arasında herhangi bir ilişki olmadığını gösteren bu çalışmaların yanında bu konuda en son yapılan çalışmada Sakowicz vd. (2013) tarafından 45 yaşın altındaki MI hastalarında MMP9 polimorfizmi araştırılmış ve yine sonuçta MMP9'un MI ile ilişkili olmadığı vurgulanmıştır. Çalışmamızın sonuçları aynı hastalık grubu hedef alınarak farklı bir etnik grupta yapılan bu son çalışmayla da paralellik göstermektedir.

Çalışmamızın diğer hedef geni olan MMP2'nin (1575 G/A) bölgesinin polimorfik dağılımları karşılaştırıldığında; hasta ve kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,0001$ ) ve bu bölgedeki G allelinden A allele tek nükleotit polimorfizminin MI riskini 14 kat arttırdığı sonucuna varılmıştır. MMP2 ile KAH ilişkisinin ortaya konmaya çalışıldığı araştırmalarda genel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır (Yihong vd. (2009), Yıldırım (2009), Alp vd. (2011) ). 2004 yılında Vasku vd. MMP2'nin koroner üç damar hastalığı ile ilişkili olmadığını rapor etmişlerdir. Yihong vd. (2009), MMP2'nin sistolik kalp yetmezliği ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisinin olmadığını; yine Yıldırım (2009), MMP2'nin sistolik kalp yetmezliği ile ilişkili olmadığını ayrıca bu genotipin proMMP2 plazma düzeyi üzerine hiçbir etkisinin olmadığını belirtmiştir. Daha yakın tarihlerde yapılan bir diğer çalışmada Alp vd. (2011), MMP2 polimorfizminin KAH ve MI ile ilişkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Fakat, 2012 yılında Bahrehand vd. tarafından yapılan çalışmada MMP2 polimorfizminin lupus ile ilişkili olduğu ve KAH gelişimi ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunduğu rapor edilmiştir. 2012 yılında yapılan bir diğer çalışma ise MMP2 geni 1575 G/A bölgesinin Meksikalı hastalarda MI gelişiminde risk faktörü olduğunu belirtmiştir (Hernandez vd., 2012). Hlatky vd. (2007), KAH'lı bireylerde MMP2 geni 1575 G/A polimorfizminin AMI için risk faktörü olduğunu belirterek yine bizim çalışmamızın sonucuna paralel bir sonuç bulmuşlardır. Çalışmamızda MI ile MMP2 genindeki polimorfik değişikliğin oldukça anlamlı bulunması bu son literatür çalışmasıyla desteklenmiştir ve MMP2 geninin MI için prognostik bir faktör olabileceği işaretini vermiştir.

Sonuç olarak; MMP2 ve MMP9 genlerindeki SNP'lerin MI ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada yalnızca MMP2 geninin 1575 G/A bölgesindeki SNP'nin MI ile oldukça ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Literatürde MMP2 ve MMP9 geniyle ilgili çelişkili sonuçların bulunması vaka gruplarının farklılığına ve etnik kökene

bağlanabilir. KAH ve MI ile ilişkili olduğu düşünölen MMP2 geni için daha geniş popöasyonlarda ve bu değişikliğin gen ifadesi seviyeleri üzerine etkili olup olmadığı hakkında yeni çalışmaların planlanması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

Akbulut N. (2006). Akut Miyokard İnfarktüsülü Hastalarda Ortalama Trombosit Hacmi ve Trombosit Sayısının Değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Allure R. (2003). Basement membranes: Structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer*.**3**, 422- 433.

Amano S., Akutsu N., Matsunaga Y., Nishiyama T., Champliand M.F., Burgeson R.E., Adachi E. (2001). Importance of balance between extracellular matrix synthesis and degradation in basement membrane formation. *Experimental Cell Research*, **10**, 249-271.

Apple F.S., Wu A.H., Mair J., Ravkilde J., Panteghini M., Tate J., Pagani F., Christenson R.H., Mockel M., Danne O. Jaffe A.S. (2005). Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the IFCC.: Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clinic Chemistry*. **51**, 810-834.

Bahrehmand F., Raygani A., Kiani A., Rahimi Z., Tavilani H., Navabi S., Shakiba E., Hassanzadeh N., Pourmotabbed T. (2012). Matrix metalloproteinase-2 functional promoter polymorphism G1575A is associated with elevated circulatory MMP-2 levels and increased risk of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. **21**, 616–624.

Burke A.P., Farb A., Malcom G.T. (1998). Effect of risk factors on the mechanism of acute thrombosis and sudden coronary death in women. *Circulation*. **97**, 2110-2116.

Baret-Conner EL., Cohn BA., Wingard DL., Edelstein SL. (1991). Why is diabetes mellitus is stronger risk faktör for fatal ischemic heart disease in women than in men? The Rancho Bernardo study. *JAMA*. **265**, 627-630.

Bottcher M, Falk E. (1999). Pathology of the coronary arteries in smoker and nonsmokers. *Cardiovascular Risk*. **6**, 299-302.

Carmeliet P. (2003). Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine*. **9**, 653-660.

Castelli WP. (1992). Epidemiology of triglycerides. A view from Framingham. *American Journal Cardiol*. **70**, 3-9.

Celermajer D.S., Sorenson K.E., Georgakopoulos D. (1993). Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endotheliumdependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. **88**, 2149-2155.

Ceylan C. (2005). Akut Miyokard İnfarktüsünde Serum NT-proBNP Düzeyi ve Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu ilişkisi. *Uzmanlık Tezi*. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü. İstanbul.

Clark ER, Hirschler WJ, Kirby-Smith HT, Rex RO, Smith JH. (1931). General observations on the in growth of new blood vessels into standardized chambers in the rabbit ear, and the subsequent changes in the newly grown vessels over a period of months. *Anatomical Record*. **50**, 129-68.

Crawford MH. (2004). Atherosclerosis and prevention, *Cardiology*. Spain.

Cheung Y., Hong W., Chan K., Wong S. (2011). Modulating effects of matrix metalloproteinase-3 and -9 polymorphisms on aortic stiffness and aortic root dilation in patients after tetralogy of Fallot repair. *International Journal of Cardiology*. **151**, 214-217.

Creemers E.E., Cleutjens J.P., Smits J.F., Daemen M.J. (2001). Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure?. *Circulation Research*. **89**, 201-208.

Davies M.J. ( 2001). Pathology of Coronary Atherosclerosis. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, editors. Hurst's The Heart. 10th ed. USA. *International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division*. **36**, 1095-1105.



- Davies M.J. (1997). The composition of coronary artery plaques (editorial). *New England Journal of Medicine*. **336**, 1312-1314.
- De Souza A.P., Line S.R.P. (2002). The biology of matrix metalloproteinases. *FOB*, 10-16.
- Dibbens JA, Miller DL, Damert A. (1999). Hypoxic regulations of vascular endothelial growth factor mRNA stability requires the cooperation multiple RNA elements. *Molecular Biology of the Cell*. **10**, 907-919.
- Donahue R.P., Abbot R.D., Blo1om E., Reed D.M., Yano K. (1987). Central Obesity and coronary heart disease in men. *Lancet*. **1**, 821-824.
- Dvorak HF. (2003). How tumors make bad blood vessels and stroma. *American Journal Patho*. **162**, 1747–1757.
- Endler G., Klimesch A., Sunder-Plassmann H., Schillinger M., Exner M., Mannhalter C., Jordanova N., Christ G., Thalhammer R., Huber K. Sunder-Plassmann R. (2002). Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. *British Journal of Haematology*. **117**, 399-404.
- Eriksson P.,Pettersson J., Brady A., Deguchi H., Hamsten A., Powell J. (2005). Genotype–phenotype relationships in an investigation of the role of proteases in abdominal aortic aneurysm expansion. *British Journal of Surgery*. **92**, 1372–1376.
- Ersöz N. (2008). Transkripsiyon faktörü MEF2A gen mutasyonlarının Türk toplumundaki koroner arter hastalarında taranması. *Yüksek Lisans Tezi*. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Konya.
- Falk E., Fuster V. (2001). Atherogenesis and its DeterMINants. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, editors. Hurst. S. The Heart. 10th ed. USA. *International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division*. **35**, 1065-1093.
- Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*. **9**, 669–676.

Ferrara N, Henzel WJ. (1989). Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* **161**, 851-855.

Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G. (1971b). Isolation of tumor fraction responsible for angiogenesis. *Journal Experimental Medicine.* **133**,275-288.

Folkman J. (1971a). Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New England Journal Medicine.* **285**, 1182-1186.

Francke, S., Manraj, M., Lacquemant, C., Lecoœur, C., Lepretre, F., Passa, P., Hebe, A., Corset, L., Yan, S. L., Lahmidi, S., Jankee, S., Gunness, T. K., Ramjuttun, U. S., Balgobin, V., Dina, C., Froguel, P. (2001). A genome-wide scan for coronary heart disease suggests in Indo-Mauritians a susceptibility locus on chromosome 16p13 and replicates linkage with the metabolic syndrome on 3q27. *Human Molecular Genetics.* **10**, 2751–2765.

Franklin S.S., Khan S.A., Wong N.D. (1999). Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The FraMIngham Heart Study. *Circulation.* **100**, 354-360.

Fuster V. (1994). Mechanisms leading to myocardial infarction. Insights from studies of vascular biology. *Circulation.* **90**, 2126-2146.

Faria A., Costa D., Criado B., Albuquerque A., Escórcio C. (2013). Phenotypes of myocardial blood perfusion related to the genetic variations of metalloproteinases 3 (MMP3) and 9 (MMP9). *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering: Imaging & Visualization.* **1**, 119-129.

Galis Z.S., Khatri J.J. (2002). Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circulation Research.* **90**, 251-313.

Genest J., Cohn J.S. (1995). Clustering of cardiovascular risk factors: Targeting high-risk individuals. *American Journal Cardiology.* **76**, 8-20.

Genest J., Jenner L., Mcnamara J.R. (1991). Prevalance of lipoprotein(a), Lp(a) excess in coronary artery disease. *American Journal Cardiology*. **67**, 1039-1145.

Goldman E. (1907). The growth of malignant disease in man and the lower animals with special reference to the vascular system. *Lancet*. **2**, 1236-1240.

Gonzales P, Castro MG, Reguero JR, Batalla A, Ordonez AG, Palop RL, Lozano I, Montes M, Alvarez V., Coto E. (2006). The Pro279Leu variant in the transcription factor MEF2A is associated with myocardial infarction, *Journal of Medical Genetics*. **43**, 167–169.

Goodsell DS. (2003).The moleculer perspective: VEGF and angiogenesis. *Stem Cells*. **21**, 118–119.

Gordon D.J., Probstfield J.L., Garrison R.J. (1989). High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*. **79**, 8-15.

Gök H. (1996). İskemik Kalp Hastalıkları. Klinik Kardiyoloji. Ankara. Nobel Tıp Kitabevi. 97-172.

Grines C.L., Topol E.J., O.neill W. (1995). Effect of cigarette smoking on outcome after thrombolytic therapy for myocardial infarction. *Circulation* .**91**, 298-303.

Grundy S.M., Wilhelmsen L., Rose G. (1990). Coronary heart disease in high-risk populations: Lessons from Finland. *Eur. Heart J*. **11**, 462-471.

Güleç Ş. (2006). Miyosit Enhancer Faktör 2A (MEF2A) Gen Varyantlarının Erken Miyokard Enfarktüsülü Hastalarda İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü.

Güzel S. (2008). Akut Miyokard infarktüsünde Serum Matriks Metalloproteinaz-9 Düzeyleri. *Uzmanlık Tezi*. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya. İstanbul.

Haroon ZA, Peters KG, Greenberg CS. (1999). Angiogenesis and Oxygen Transport in Solid Tumors. *Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy*. Totowa, Humana Press. 3- 21.

Hernandez N., Alarcon G., Rodriguez N., Rios M., Duque M., Diaz A., Acosta B., Romero C., Perez A. (2012). The Matriks Metalloproteinase 2 -1575 Gen Polymorphism is Associated with the risk of developing myocardial infraction in Mexican Patients. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. **19**, 718-727.

Hertig AT. (1935). Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the macacque monkey. *Contrib Embryol*. **25**, 39-81.

Hlatky M., Ashley E., Quertermous T., Boothroyd D., Ridker P., Southwick A., Myers R., Iribaren C., Fortmann S. (2007). Matrix metalloproteinase circulating levels, genetic polymorphisms, and susceptibility to acute myocardial infarction among patients with coronary artery disease. *American Heart Journal*. **154**, 1043-1051.

Hubert H.B., Feinleib M., McNamara P.M., Castelli W.P. (1983). Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: A 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. **67**, 968-977.

Hudlicka O. (1984). Development of microcirculation: Capillary growth and adaptation. the Cardiovascular system Vol IV, part 1, microcirculation. Baltimore, Bethesta. p165-216.a.

Hudlicka O. (1984). Growth of vessels – Historical review. *Prog Appl microcirc*. 4:1-8.b.

Hudlicka, O, Brown M, Egginton S. (1992). Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev*. **72**, 369-417.

Hurst J.W. (1990). Atherosclerotic coronary heart disease, factors influencing atherogenesis, *The Heart*. America.

Joseph S, David W. R. (2001). Molecular Cloning. 2. Edition: 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.

Jones C.B., Sane D.C., Herrington D.M. (2003). Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovascular Research*. **59**, 812-835.

Kameda K., Matsunaga T., Abe N., Fujiwara T., Hanada H., Fukui K., Fukuda I., Osanai T., Okumura K. (2006). Increased pericardial fluid level of matrix metalloproteinase-9 activity in patients with acute myocardial infarction: possible role in the development of cardiac rupture. *Circulation Journal*. **70**, 673-681.

Kerbel RS. (2000). Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis*. **21**, 505-515.

Kety SS. (1951). The theory and applications of the exchange of inert gas at the lungs and tissues. *Pharmacol Rev.* **3**, 1-41.

Kristensen S.D. (1992). The platelet-vessel wall interaction in experimental atherosclerosis and ischaemic heart disease with special reference to thrombopoiesis. *Danish Medical Bulletin Journal*. **39**, 110-127.

Kumar V., Robins S. (2003). Temel Patoloji, Nobel Kitap Evi.

Lawrence WT, Diegelmann RF. (1994). Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol*. **12**, 157-169.

Li Tang J., Chen X., Zhu M., Jiang J., Lu X., Du Y., Wang B., Fang C., Xue Y., Shen W. (2007). Matrix metalloproteinase-1, -3, and -9 gene polymorphisms and the risk of idiopathic dilated cardiomyopathy in a Chinese Han population. *Clinical Biochemistry*. **40**, 1427-1430.

Leung DW., Cachianes G., Kuang WJ. (1989). Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic tiogen. *Science*. **246**, 1306-1309.

Libby P. (2000). Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis, and stabilization. *Am. J. Cardiol*. **86(8B)**:3J-8J.

- Li M., Jingpu S., Lingyu F., Hailong W., Zhou B., Wu X. (2012). Genetic polymorphism of MMP family and coronary disease susceptibility: A meta-analysis. *Gene*. **495**, 36-41.
- Lijnen H.R. (2002). Extracellular proteolysis in the development and progression of atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*. **30**, 163-170.
- Maciag T, Mehلمان T, Friesel R, Schreiber AM. (1984). Heparin binds endothelial cell growth factor, the principal cell mitogen in bovine brain. *Science*. **225**, 932-935.
- Manson J.E., Tostesan H., Ridker P.M., Satterfield S., Hebert P., Connor G.T., Buring J.E., Hennekens C.H. (1992). The Primary Prevention of Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine*. **326**, 1406-1416.
- Morgan A., Tapper B., Collins A., Ye S. (2003). Haplotypic analysis of the MMP-9 gene in relation to coronary artery disease. *J Molecular Medical*. **81**, 321-326.
- Murabi T., JM, Evans, JC, Larson, MG. (2003). The ankle-brachial index in the elderly and risk of stroke coronary disease and death: the Framingham Study. *Arch Intern Med*. **163**, 1939-1942.
- Murphy G., Knäuper V., Atkinson S., Butler G., English W., Hutton M., Stracke J., Clark I. (2003). Matrix metalloproteinases in arthritic disease. *Arthritis Research & Therapy*. **5**, 1022-1024.
- Montfort I., Pérez-Tamayo R. (1975). The distribution of collagenase in normal rat tissues. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. **23**, 910-913.
- Moreno P.R., Leon M.N., Vyalkov V.A. (1998). Coronary plaque composition and tissue factor in cigarette smokers. *Circulation*. **98**, 145.
- Neaton J.D., Wentworth D. (1992). Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking and death coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316099 white man.

Niu W., Qi Y. (2012). Matrix metalloproteinase family gene polymorphisms and risk for coronary artery disease: systematic review and meta-analysis. *Heart*. **98**, 1483-1491.

Ogata T., Shibamura H., Tromp G., Sinha M., Goddard K., Sakalihasan N., Limet R., MacKean G., Arthur C., Sueda T., Land S., Kuivaniemi H. (2005). Genetic analysis of polymorphisms in biologically relevant candidate genes in patients with abdominal aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery*. **41**, 1036-1042.

Opstad T, Pettersen A. R., Weiss T, Åkra S, Øvstebø R, Arnesen H., Seljeflot I. (2012). Genetic variation, gene-expression and circulating levels of matrix metalloproteinase-9 in patients with stable coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta*. **413**, 113-120.

Opdenakker G., Van den Sten P.E., Dubois B., Nelissen I., Coillie E.V., Masure S., Proost P., Damme J.V. (2001). Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *Journal of Leukocyte Biology*. **69**, 851-859.

Pöllänen P., Karhunen P., Mikkelsen J., Laippala P., Perola M., Penttilä A., Mattila M., Koivula T., Lehtimäki T. (2001). Coronary Artery Complicated Lesion Area Is Related to Functional Polymorphism of *Matrix Metalloproteinase 9* Gene. *Arterioscler Thrombosis and Vascular Biology*. **21**, 1446-1450.

Park J., Shin K., Kim Y. (2005). Polymorphism of Matrix Metalloproteinase-3 Promoter Gene as a Risk Factor for Coronary Artery Lesions in Kawasaki Disease. *The Korean Academy of Medical Sciences*. **20**, 607-618.

Ribatti D, Vacca A, Presta M. (2002). The discovery of angiogenic factors: A historical review. *Gen Pharmacol*. **35**, 227-231.

Roald H.E., Orvim U., Bakken I.J. (1994). Modulation of thrombotic responses in moderately stenosed arteries by cigarette smoking and aspirin ingestion. *Arterioscler Thromb*. **14**, 617- 621.

- Roberts WC. (1995). Preventing and arresting coronary atherosclerosis. *Am. Heart. Journal.* **130**, 580-600.
- Ross R. (1999). Atherosclerosis: An inflammatory disease. *N. Eng. J. Med.* **340**, 115-126.
- Rundhaug JE. (2005). Matrix metalloproteinases and angiogenesis, *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* **9**, 267-282.
- Rudd J , Daavies J, Weisberg P. Topol Textbook of Cardiovascular Medicine. 3th Ed., Lipincott Williams Wilkins, (2008). 32.
- Rybakowski J. (2009). Matrixmetalloproteinase-9 (MMP9) amediating enzyme in cardiovascular disease, cancer, and neuropsychiatric disorders. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology.* **10**, 1-7.
- Sakowicz A.,Fendler W., Lelonek M., Sakowicz B., Pietrucha T. (2013). Genetic Polymorphisms and the Risk of Myocardial Infarction in Patients Under 45 Years of Age. *Biochem Genet.* **51**, 230–242.
- Scanu A.M. (1998). Atherothrombogenicity of lipoprotein (a): *The debate.* *Am. J. Cardiol.* **82**, 260-330.
- Saedi M., Raygani A., Khaghani S., Sharifabrizi A., Rezaie M., Pasalar P., Rahimi Z., Pourmotabbed T. (2012). Matrix metalloproteinase-9 functional promoter polymorphism 1562C>T increased risk of early-onset coronary artery disease. *Mol Biol Rep.* **39**, 555–562.
- Szczudlik P., Borratyńska A. (2010). Association between the –1562 C/T MMP-9 polymorphism and cerebrovascular disease in a Polish population. *Neurologia i Neurochirurgia Polska.* **44**, 350-357.
- Smallwood L, Allcock R, van Bockxmeer F, Warrington N, Palmer LJ, Iacopetta B, Golledge J, Norman PE. (2008). Polymorphisms of the matrix metalloproteinase 9 gene and abdominal aortic aneurysm. *British Journal of Surgery.* **95**, 1239-1244.



Sobin SS, Tremer HM. (1977). Three-dimensional organization of microvascular beds as related to function. In: Kaley G and Altura BM, editör. Microcirculation. Baltimore, MD: University Park. **1**, 43-67.

Sümbül Z. (2010). Koroner arter hastalığında CD 34, VEGF, Homosistein ve Lipoprotein A Düzeylerinin Koroner Kollateral Gelişimi ile İlişkisi. *Uzmanlık Tezi*. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı. Adana.

Milliyet Blog. Kalp krizinden ani ölüm. <http://blog.milliyet.com.tr/kalp-krizinden-ani-olum-/Blog/?BlogNo=152405>. 27/12/2008.

Tıgılı H. (2009). Anjiyogenez ile ilgili Trombospondin-1, HIF-1 Ve CA9 Moleküllerinin Böbrek Kanserli Hastalarda Araştırılması. *Uzmanlık Tezi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı.

Ufacık O. (2008). Akut İ inferior Miyokard infarktüsülü Hastaların İzleminde Osteoprotegerinin Prognostik değeri. *Uzmanlık Tezi*. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı. Edirne.

Vasku A., Goldbergova M., Holla L. I., Siskova L., Groch L., Beranek M., Tschoplova S., Znojil V., Vacha J. (2004). A Haplotype constituted of four MMP-2 promoter polymorphisms (-1575G/A, -1306C/T, -790T/G and -735C/T) is associated with coronary triple-vessel disease. *Matrix Biology*. **22**, 585-591.

Vassalli G, Winkelmann BR (2004). Molecular genetics of myocardial infarction: many genes, more questions than answers. *European Heart Journal*. **25**, 451-453.

Visse R., Nagase H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*. **92**, 827-839.

Velho F., Cohen C., Santos K., Silvello D., Martinelli N., Biolo A., Clausell N., Rohde L. (2011). Polymorphisms of Matrix Metalloproteinases in Systolic Heart Failure: Role on Disease Susceptibility, Phenotypic Characteristics, and Prognosis. *Journal of Cardiac Failure*. **17**, 115-121.

Vu H., Werb Z. (2000). Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes And Development*. **14**, 2123-2133.

Wilson PW. (1994). Established risk factors and coronary artery disease: The Framingham study. *Am JHypertens*. **7**, 7-12.

Woessner F. (1991). Jr.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. **5**, 2145-2152.

Wood D., Backer G.D., Faergeman O. (1998). Prevention of coronary heart disease in clinical practice: Recommendations of the Second Joint Task Force of European and Other Societies on Coronary Prevention. *Eur Heart J*. **19**, 1434-1503.

Yasmin C., McEniery M., Kevin O., Harnett P., Arshad A., Wallace S., Petaja K., McDonnell B., Ashby M., Brown J., Cockcroft J., Wilkinson B. (2006). Variation in the Human Matrix Metalloproteinase-9 Gene Is Associated With Arterial Stiffness in Healthy Individuals. *Arterioscler Thrombosis and Vascular Biology*. **26**, 1799-1805.

Ye S. (2006). Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome. *Cardiovascular Research*. **69**, 636-645.

Yildirim N. (2009). Polymorphisms of MMP-2 gene are associated with systolic heart failure prognosis. *Clinica Chimica Acta*. **404**, 119-123.