



T. C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALIĞINDA FAKTÖR 13 VE
PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖRÜ-1 GEN
POLİMORFİZMİNİN KLİNİK VE ANGIOGRAFİK
BULGULARLA İLİŞKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. NİHAT KALAY

KAYSERİ-2006



T. C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALIĞINDA FAKTÖR 13 VE
PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖRÜ-1 GEN
POLİMORFİZMİNİN KLİNİK VE ANGIOGRAFİK
BULGULARLA İLİŞKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. NİHAT KALAY

Danışman
Doç. Dr. RAMAZAN TOPSAKAL

KAYSERİ-2006

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

KISALTMALAR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
HASTALAR VE YÖNTEM.....	16
BULGULAR.....	22
TARTIŞMA	30
SONUÇLAR.....	37
KAYNAKLAR.....	39
TEZ ONAY SAYFASI.....	47

KISALTMALAR

KAH	: Koroner arter hastalığı
MI	: Miyokard infarktüsü
USAP	: İng. Anstabil angina pectoris
SAP	: İng. Stabil angina pectoris
AKS	: Akut koroner sendrom
ADP	: Adenozin difosfat
TxA2	: Tromboxan A2
vWF	: Von Willebrand Faktör
GP	: Glikoprotein
F	: Faktör
HMWK	: İng. Yüksek molekül ağırlıklı kininojen
Ca	: Kalsiyum
PL	: İng. Fosfolipit
V	: Valin
L	: Lösin
t-PA	: İng. Doku plazminojen aktivatörü
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
CK	: Kreatin Kinaz
CK-MB	: Kreatin Kinaz MB izoformu
AD	: İstatistiksel olarak anlamlı değil
V34L	: Valin 34 Lösin gen polimorfizmi

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Hastaların temel klinik özellikleri.....	23
Tablo 2: F13 ve PAI-1 gen polimorfizm sıklığı.....	25
Tablo 3: SAP ve AKS gruplarında F13 ve PAI-1 gen polimorfizmleri.....	25
Tablo 4: F13 genetik tiplerinde hastaların klinik özellikleri.....	26
Tablo 5: F 13 genetik tiplerinde hastaların angiografik özellikleri.....	27
Tablo 6: PAI-1 genetik tiplerinde hastaların klinik özellikleri.....	28
Tablo 7: PAI-1 genetik tiplerinde hastaların angiografik özellikleri.....	29

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Pıhtılaşma esnasında trombositlerdeki şekil değişikliği.....	8
Şekil 2: Koagülasyon sisteminin aktivasyonundaki yollar.....	9
Şekil 3: Faktör 13 A subünitinin dimer yapısı.....	10
Şekil 4: Faktör 13 V34L gen polimorfizmi ile fibrin oluşumu arasındaki ilişki	11
Şekil 5: Fibrinolitik yolların aktivasyonu ve inhibisyonu.....	12
Şekil 6: Plazminojen aktivatör inhibitörü-1' in yapısı.....	13
Şekil 7: Faktör 13 Valin34Lösin ve PAI-1 gen polimorfizminin genetik analizi.....	20
Şekil 8: Faktör 13 Valin34Lösin ve PAI-1 gen polimorfizminin genetik analizi.....	20
Şekil 9: F13 ve PAI 1 genotipinin belirlenmesi	21
Şekil 10: Çalışma grubundaki F13 gen polimorfizm sıklığı.....	23
Şekil 11: Çalışma grubundaki PAI-1 gen polimorfizm sıklığı.....	24
Şekil 12: PAI-1 gen polimorfizmi ile SAP ve AKS arasındaki ilişki.....	28

ÖZET

Amaç: Faktör 13 (F13) ve Plasminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) koagulasyon ve fibrinolizis aşamalarında önemli rol oynayan hemostatik faktörlerdir. Plasminojen aktivatör inhibitörü-1 koroner arter hastalığı (KAH) için bir risk faktörü olarak da kabul edilmektedir. Faktör 13 ve PAI-1' in plazma düzeyi gen polimorfizmiyle ilişkilidir. Çalışmamızda F13 ve PAI-1 polimorfizm sıklıklarını ve bu polimorfizmlerin KAH' lı hastaların klinik ve angiografik bulgularıyla ilişkisini araştırdık.

Materyal ve metot: Çalışmaya hastanemize başvuran akut miyokard infarktüs (MI) 23, unstabil angina pektorisli (USAP) 22 ve stabil angina pektorisli (SAP) 23 hasta alındı. Gen polimorfizmi CVD StripAssay yöntemiyle belirlendi. Koroner aterosklerozun angiografik şiddetinin ve yaygınlığının değerlendirilmesinde Gensini ve Extent skoru kullanıldı.

Bulgular: Çalışma grubundaki hastalarda F13 gen polimorfizminin; % 85.2' si normal, % 13.6' sı heterozigot ve % 1.2' si homozigot yapıdaydı. Faktör 13' ün normal genetik yapı sıklığı SAP, USAP ve MI' lı hastalarda benzerdi. Heterozigot genetik yapı MI ve USAP grubunda daha yüksek orandaydı. Faktör 13 genotipi normal olan hastalarda hastalıklı damar sayısı ve Extent skoru anlamlı olarak daha yüksekti. Tüm çalışma grubunun % 59.3' ünde 4G/5G, % 27.7' ünde 5G/5G ve % 13.0' ünde 4G/4G genetik polimorfizmi vardı. Akut MI' lı hastalarda 4G/5G

polimorfizmi SAP' lı hastalara göre daha yüksek oranda bulundu (sırasıyla; % 73.3' e karşı 43.8, $p>0.05$). 4G/5G genetik yapısına sahip olan hastaların % 75.9' unda MI veya USAP, 24.1' inde SAP vardı ($p=0.04$). Plasminojen aktivatör inhibitörü-1 için heterozigot olan hastalarda AKS gelişme riskinin 1.6 kat artığı tespit edildi.

Sonuç: Faktör 13 V34L polimorfizmi akut koroner sendromla ilişkili bir faktör olabilir. Normal genetik yapıya sahip hastalarda ateroskleroz daha yaygın olmaktadır. Plasminojen aktivatör inhibitörü-1 4G/5G polimorfizmi MI ve USAP gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilebilir.

ABSTRACT

Aim: Factor (F) 13 and Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) have important roles in coagulation and fibrinolysis. Plasminogen activator inhibitor -1 is a risk factor for coronary artery disease. Plasma levels of F13 and PAI-1 are associated with genetic polymorphism of these factors. In our study, we investigated the frequencies of F13 and PAI-1 genetic polymorphism and those relationship between genetic polymorphisms and clinic and angiographic result of patients with coronary artery disease.

Material and method: We enrolled 68 patients [myocardial infarction (MI):23, untabl angina pectoris (USAP):22, stable angina pectoris (SAP):23]. Genetic polymorphism was detected with CVD StripAssay method. Gensini and Extent score were used to evaluate severity and intensity of atherosclerosis.

Results: The genotype frequencies in all patients for F13 were normal 85.2%, heterozigot 13.6% and homozigot 1.2 %. The frequency of normal genetic polymorphism (Valin 34 Valin) was similar in patients with SAP, USAP and MI. Heterozigot polymorphism (Valin 34 Lösın) was higher in patients with MI and USAP. The number of diseased vessel and Extent score was higher in patients who had F13 Valin 34 Valin polymorphism.

The genotype frequencies in all patients for PAI-1 were 4G/5G 59.3 %, 5G/5G 27.8 % and 4G/4G 13.0 %. The frequency of 4G/5G genetic polymorphism was higher in patients with MI than patients with SAP (respectively. %73.3 vs. %43.8 $p>0.05$). In patients with 4G/5G polymorphism, while frequency of MI or USAP was % 75.9, diagnosis of SAP was % 24.1 ($p=0.04$). PAI-1 4G/5G polymorphism causes 1.6 fold increase the risk of acute coronary syndrome.

Conclusion: It seems that polymorphism of F13V34L is associated with acute coronary syndrome. Severity of atherosclerosis was higher in F13 V34V. PAI-1 4G/5G might be a risk factor for development of MI and USAP

GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner arter hastalığı (KAH) tüm dünyadaki en önemli sağlık sorunlarından biridir. Koroner arter hastalığının en önemli sebebi ise ateroskleroz olarak kabul edilmektedir. Aterosklerozun gelişmesinde ve progresyonunda hiperlipidemi, sigara içimi, diabetes mellitus ve hipertansiyon gibi klasik risk faktörleriyle birlikte özellikle genç hastalarda genetik risk faktörleri önemli rol oynayabilmektedir. Genetik faktörlerin KAH gelişiminde rolü % 20-60' dır.

Akut koroner sendrom (AKS) oluşumunda en önemli patofizyolojik mekanizma aterosklerotik plağın rüptürüdür. Aterosklerotik plağın rüptüründen sonra hemostas ve koagülasyon sistemlerinin yanı sıra doğal fibrinolitik sistem klinik tablosunun oluşmasında belirleyici olmaktadır.

Faktör (F) 13 75 kDa ağırlığında aktif A subünitesinden ve 80 kDa ağırlığındaki B subünitinden oluşur. A subünitesi aktive fibrin monomerleri arasındaki çapraz reaksiyonu katalize eder. Bu sayede oluşan trombüsün mekanik direnci artarken, trombüs fibrinolizise karşı daha dirençli hale dönüşür.

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) 379 aminoasitten oluşan tek zincirli 52 kDa ağırlığında bir glikoproteindir ve doğal fibrinolitik sistemin endojen bir

inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 koroner arter hastalığı gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Ayrıca miyokard infarktüs yada anstabil anginada PAI-1 düzeylerinde artma tespit edilmiştir.

Hem F13 hem de PAI-1 gen polimorfizmi KAH oluşmasında, hastalığın progresyonunda ve özellikle AKS klinik tablosunun oluşmasında önemli rol oynayabilir. Fibrin oluşumu ve fibrinolitik sistem arasındaki ilişki düşünüldüğünde F13 ve PAI-1 birbiri ile yakın ilişki içerisindedir. Faktör 13 gen polimorfizmi hassas plak rüptüründen sonra oluşan tıkaçıcı pıhtıyı daha rijit hale getirerek fibrinolitik ajanlara karşı daha dirençli olmasına neden olurken; PAI-1 ise fibrinolitik sistemi inhibe etmektedir. Hem F13 hem de PAI-1 moleküllerinin genetik yapısı bu faktörlerin plazma düzeyini etkileyebilmektedir. Bu nedenle genetik polimorfizm ateroskleroz ve AKS kliniği üzerinde etkili olabilir.

Faktör 13' ün en sık Valin34Lösin polimorfizmi tanımlanırken; PAI-1 ile ilgili ise 4G/5G gen polimorfizmi en sık görülen polimorfizmdir. Çalışmamızda hastanemize başvuran ve KAH tespit edilen hastalarda PAI-1 4G/5G ve F13 Valin34Lösin gen polimorfizm sıklığını, gen polimorfizmlerin KAH kliniği ve koroner anjiyografi bulgularıyla ilişkisini araştırdık.

GENEL BİLGİLER

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünya önemli sağlık problemlerinden biri olup tüm ölümlerin yaklaşık % 30' undan sorumludur. Kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölümlerin % 50' si KAH' a bağlıdır (1,2).

Koroner arter hastalığı genellikle ateroskleroz sonucunda gelişmektedir (3). Ateroskleroz; inflamasyon, hücre proliferasyonu ve lipit metabolizma bozukluğunu içeren multifaktöriyel bir süreç olarak kabul edilmektedir (4). Aterosklerozun gelişimiyle ilgili olarak endotel hasarı ve lipit infiltrasyon teorileri olmak üzere iki hipotez vardır.

Endotel hasar teorisine göre; birçok faktör (shear stresi, homosistein, immünolojik ve toksik faktörler) endotel tabakasında hasara yol açarak subendotelyal dokuyu açığa çıkarır. Subendotelyal bölgeye toplanan monosit-makrofajlar dolaşımdan kolesterolü alarak köpük hücrelerine dönüşürler. Hasara uğrayan bölgelere toplanan trombositler büyüme faktörlerini salgılayarak düz kas hücreleri üzerine mitojenik etkisiyle ateroskleroza katkıda bulunur.

Lipit infiltrasyon teorisine göre; aterosklerozun sebebi hiperlipidemidir. Özellikle düşük yoğunluklu lipoproteinler, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler ve lipoprotein (a) ateroskleroz gelişiminde ve progresyonunda önemli rol oynarlar.

Patogenez: Aterosklerozun patogenezinde rol oynayan faktörler;

- ✓ Lipit metabolizması bozuklukları
- ✓ Endotel fonksiyon bozukluğu
- ✓ İnflamatuar ve immünolojik faktörler
- ✓ Sigara içimi
- ✓ Hipertansiyon
- ✓ Diabetes mellitus
- ✓ Homosistein düzeyinin artması
- ✓ Östrojen
- ✓ Fibrinojen
- ✓ Fibrinolizisin bozulması
- ✓ Trombosit aktivasyonunun artması

Endotel fonksiyonları birçok ekzojen ve endojen faktörden etkilenebilmektedir. Aterojenik etkiler sonucu endotel yapı ve fonksiyonları ile birlikte aterosklerozun gelişimi ve progresyonu da etkilenir (5).

Yağlı çizgiler: Ateroskleroz hayatın ilk yıllarında başlar, yavaş bir şekilde ilerler ve orta ve ileri yaşlarda KAH şeklinde ortaya çıkar (6,7). Aterosklerotik ilk lezyonlar, çocukluk çağlarında intimanın derinliklerinde ortaya çıkan lipitten zengin makrofajların birikmesi sonucu oluşur (köpük hücreleri). Bu yapılara morfolojik yapısından dolayı yağlı çizgiler adı verilir. Erken çocukluk döneminde koroner arterlerde görülen yağlı çizgilerin aterosklerozun öncüsü olduğu kabul edilmektedir (8). Yağlı çizgiler intimada fokal kalınlaşma ile birlikte düz kas hücresi ve hücre dışı matriks artışıyla karakterizedir. İntima içindeki düz kas hücreleri buldukları bölgeden hem göç ederler hem de çoğalırlar. Bu olayı hücre içi ve dışı lipit birikimi takip eder ve yağlı çizgiler oluşur.

Aterosklerozun ilerlemiş lezyonları genellikle yağlı çizgilerle aynı bölgede oluşur. Daha önceden meydana gelen intimal kalınlaşmanın üzerine eklenen küçük bir yağlı çizginin semptomatik lezyonlara ilerleyebileceği kabul edilmektedir. Düz kas hücrelerinin göçü ve proliferasyonu, lokal ve sistemik inflamasyon, aterosklerotik lipit birikimi, genetik faktörler bu süreçte önemli rol oynamaktadır.

Fibröz plak: Fibröz plaklar yağlı çizgilerle birlikte bağ dokusu artışı ve lipitten zengin düz kas hücrelerinden oluşur. Hem lümene, hem de media tabakasına uzanan lezyonlar revaskülarizasyon ile birlikte lipitten zengin nekrotik kısımlar içerirler. Nekrotik bölgeler daha sonra kalsifiye olarak aterom plaklarını oluştururlar (9). Aterosklerotik plaklar zaman içerisinde progresyon göstererek lümen daralmasına ve klinik belirtilere neden olurlar. Aterosklerotik lezyonlar sıklığı ergenlik çağından başlayarak gittikçe artar ve 40 yaşından itibaren insanların yaklaşık % 30' unda görülür (9).

Duyarlı plak: Aterosklerotik lezyonların ilerlemesiyle oluşan duyarlı plaklar lümen trombozuna yol açarak AKS' e neden olabilirler.

Duyarlı plakların yırtılması sonucu;

1. ST elevasyonlu, ST elevasyonsuz miyokard infarktüsü (MI)
2. Stabil angina pectoris (SAP), Anstabil angina pectoris (USAP)
3. Ani kardiyak ölüm
4. İnme
5. Periferik arter tıkanıkları

Plak yırtılma riski plak büyüklüğünden ziyade plak içeriğine bağlıdır. Lipitten zengin ve yumuşak plaklar kollejenden zengin ve sert plaklara göre daha hassas ve yırtılmaya daha yatkındırlar (10). Ayrıca plak yırtılmasından sonra plak üzerinde trombüs oluşma eğilimi vardır (11). Aterosklerotik plağın yırtılmaya hassas olmasında üç ana faktör rol oynar.

- 1- Lipitten zengin çekirdeğin büyüklüğü,
- 2- İnflamasyon,
- 3- Düz kas hücrelerinin az olması

Duyarlı plağın özellikleri;

- ✓ Fibröz kapsülü incedir
- ✓ Düz kas hücreleri, elastin, kollejen ve proteoglikandan fakirdir
- ✓ Lipit çekirdeği büyüktür
- ✓ İnflamasyon vardır ve trombojenitesi yüksektir.

Diğer taraftan plağın yaralanmasına neden olan iç ve dış etkenler;

- ✓ Plağın yapısı
- ✓ Fibröz kapsüldeki gerilim
- ✓ Plağın sıkışması, shear stres
- ✓ Plağın sürekli kıvrılması ve esnemesi

Komplike Plaklar: Lümen trombozu ve plakta kanama varsa plak komplikedir. Trombüs ve kanamadan dolayı aterosklerotik lezyonlar hızla ilerler (12). Komplike plaklar seri angiografik incelemelerde saptanabilen akut koroner sendromdan (AKS) sorumlu en önemli sebeplerdir.

Plak yırtılması: Akut koroner sendrom oluşumunda en önemli patofizyolojik mekanizma aterosklerotik plağın rüptürüdür. Aterosklerotik plak rüptürünün sebebi kesin olarak bilinmemektedir. Plak oluşumunda rol oynayan makrofajlarda salınan matriks metalloproteinazlarının plak rüptürüne yol açabileceği düşünülmektedir (13,14). Otopsi verilerine göre sağlıklı bireylerin % 9' u koroner arterlerde yırtılmış plak taşırken (trombüs içermeden) bu oran diyabet ve hipertansiyonu olanlarda % 22' ye yükselmektedir (15). Ölümcül KAH' ı olanlarda hastaların koroner arterlerde genellikle üzerine trombüs eklenen veya eklenmeyen birden fazla yırtık bulunur (16).

Lümen Trombozu: Plak yırtılmasının en önemli komplikasyonu arterin trombotik tıkanmasıdır. Akut koroner sendromlardan sorumlu trombüslerin çoğu plak yırtılması sonrası oldukça trombojenik olan plak içeriğinin kan ile temasıyla oluşurken, az bir kısmı ise belirgin bir parçalanma olmadan yüzeysel plak erozyonu vardır (17).

Plak yırtılmasına trombotik cevabın belirlenmesinde;

- ✓ Trombositlerdeki içerik
- ✓ Lokal kan akımı bozuklukları
- ✓ Sistemik trombotik eğilimi önemli rol oynar.

İnflamatuar hücreler olarak bilinen bölgesel plak makrofajları ve sistemik kan monositlerinden salınan doku faktörleri plak yırtılmasına trombojenik cevapta önemli rol oynarlar (18). Stenotik lezyonlardaki kan akımının engellenmesinde başlangıçta trombosit kümelenmesi önemli rol oynarken, trombosit zengin trombüsün sağlanmasında fibrin önemlidir. Dolayısıyla meydana gelen koroner trombüsün gelişiminde trombositler ve fibrinin ikisi de yer alır (17).

Trombositlerin rolü: Erozyona uğrayan plaklarda mural trombüs oluşmasını takiben trombosit kaynaklı büyüme faktörleri düz kas hücresi proliferasyonunu artırabilir. Stabil bir plağın anstabil bir lezyona dönüşmesinde trombositler temel bir rol oynamaktadır. Aterosklerotik plak rüptüründen yada ülserasyonundan sonra subendotelyal matriks (kollagen, doku faktörü) ve çeşitli mediatörler (ADP, Serotonin, TxA2) kan dolaşımına katılmaktadır. Aterosklerotik plak rüptüründen sonra trombositler primer hemostasin oluşmasına neden olur. Primer hemostasda ilk basamak subendotelyal tabakanın açığa çıkması subendotelyumda bulunan vWF ve kollejenin trombosit yüzeyindeki GP IA/IIA ve GP IB ile birleşmesi sonucu trombosit adezyonunun gerçekleşmesidir. Trombosit adezyonu aşamasından sonra trombositlerde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olur (Şekil 1). Alfa ve yoğun granüller degranülasyona uğrayarak serotonin, TxA2 ve ADP gibi trombosit agregasyonunu sağlayacak çeşitli mediatörler salınır. Daha sonra fibrinojene bağlanacak GP IIB/IIIA reseptörleri trombosit yüzeyinde birikmeye başlar.

Adezyondan sonraki aşama trombosit agregasyonudur. Bu aşamada fibrinojen aktive olmuş iki trombosit yüzeyindeki GP IIB/IIIA reseptörüne yapışarak agregasyon gerçekleşir ve trombosit tıkaçı oluşur.

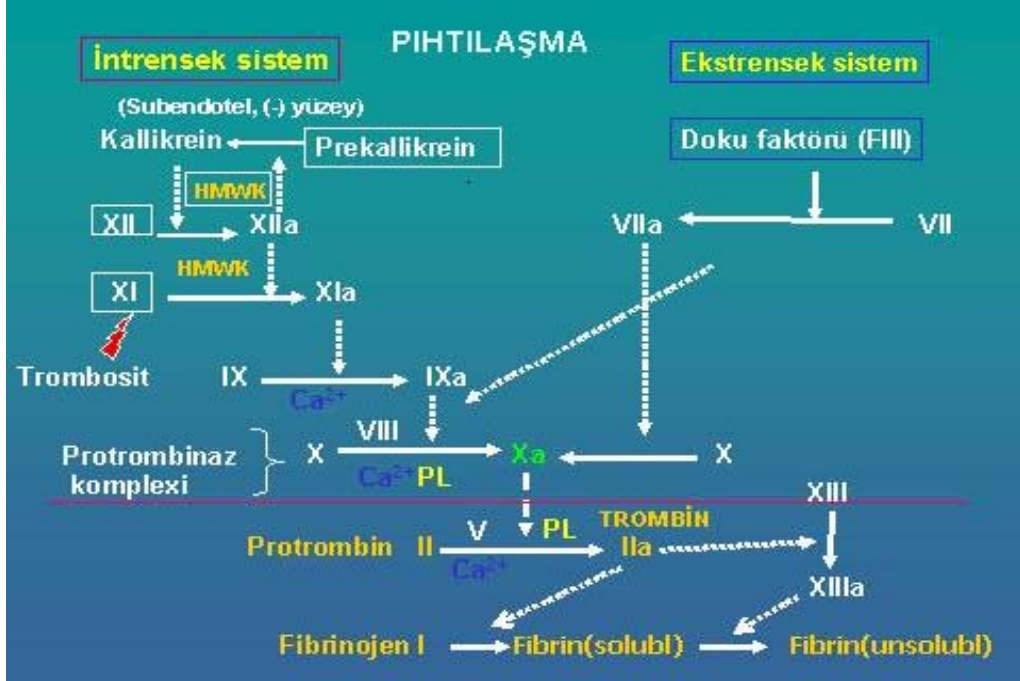


Şekil 1. Pıhtılaşma esnasında trombositlerdeki şekil değişikliği

Koagulasyon: Primer hemostasin oluşmasıyla eş zamanlı olarak plazma koagulasyon sistemi aktive olur. Koagulasyon sisteminin aktivasyonu birbiriyle ilişkili iki farklı yolla olabilmektedir.

İntrensek yol Faktör 12 ile başlar, antijen-antikor bileşikleri, aktive olmuş trombositler, ekstrakorporal dolaşım ve yabancı yüzeyle kan temasıyla intrinsek sistem tetiklenir. Faktör 12 negatif yüklü bir yüzeyle karşılaştığı zaman yüzeye bağlanarak yapısal değişikliğe uğrar. İlk olarak prekallikreinden kallikrein oluştur, Kallikrein ise feedback yolla F12' yi daha çok aktive eder. Aktif F12 zimojen formdaki F11' i enzimatik forma dönüştürür. Aktif F11 ise F9' un aktivasyonuna yol açar. Aktive olmuş F9, F11, F8, negatif yüklü fosfolipitler ve kalsiyum iyonu doğrudan F10' u aktive eder. Aktif F10 ise diğer faktörlerle birlikte primer hemostasin en önemli noktası olan protrombinden trombin oluşumuna aracılık eder (Şekil 2).

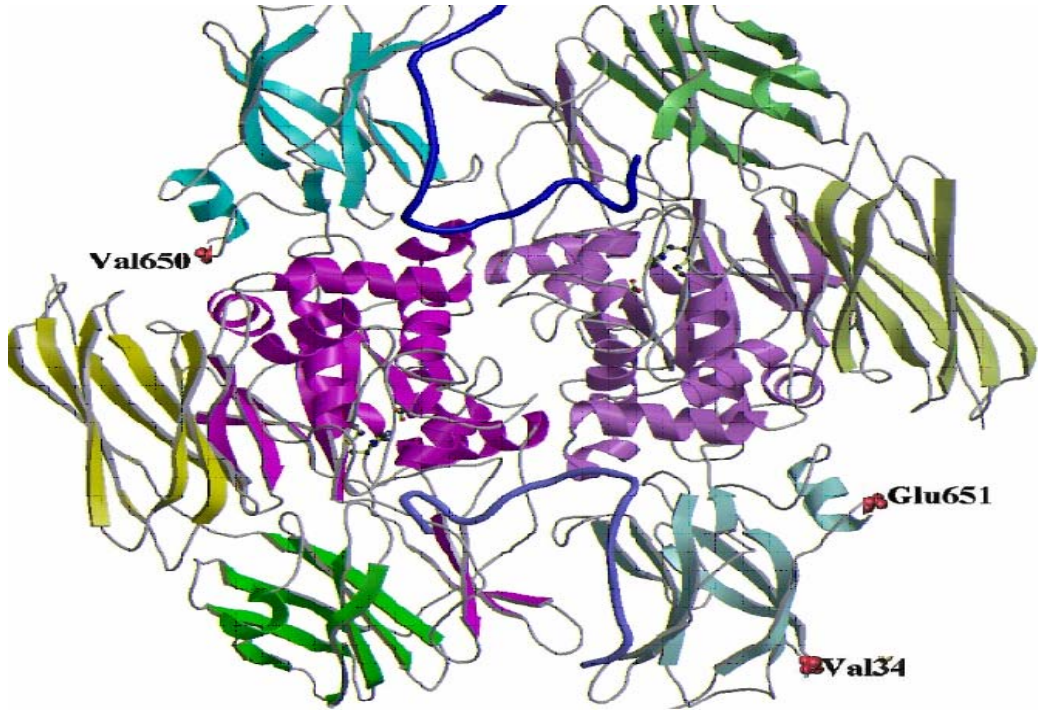
Ekstrensek yol doku hasarını takiben dokudan salınan doku tromboplastini ve doku faktörünün salınmasıyla başlar. Doku faktörü ile F7 ile birleşerek F7' nin aktivasyonuna neden olur. Aktif F7 ve doku faktörü bileşiği hem F10' u hem de F9 ve F11' i aktive eder. Bu sayede intrinsek ve ekstrensek yol birleşerek protrombinden trombin oluşumu gerçekleşir (Şekil 2).



Şekil 2. Koagulasyon sisteminin aktivasyonu. HMWK: Yüksek molekül ağırlıklı kininojen, Ca: Kalsiyum, PL: Fosfolipit

Fibrinojen disülfid köprüleriyle bir arada tutulan büyük bir ikili moleküldür. Trombin fibrinojendeki arjinin-glisin bağına kırarak fibrin monomerlerinin oluşmasına neden olur. Fibrin monomerleride bir araya gelerek fibrin polimerlerini oluşturur. Oluşan bu fibrin jeli trombüsün iskeletini oluşturur ve yüzeyinde kırmızı ve beyaz kan hücrelerini tutar. Fibrin ağının sağlamlığı çapraz bağlarla sağlanır. Trombin kalsiyum varlığında lizin yan zincirleri arasında peptid bağları oluşturacak olan bir transglutaminaz olan F13'ü etkinleştirir. Böylece lizin çapraz bağının oluşması ile trombüs trombolize karşı daha dirençli hale gelir. Koagulasyon sisteminin son enzimi olan F13 sayesinde fibrin fibrinolizise karşı daha dirençli bir forma dönüşmektedir.

Faktör 13: Faktör 13 75 kDa ağırlığındaki aktif A subünitesinden ve 80 kDa ağırlığındaki B subünitinden oluşur (19) (Şekil 3) A subünitesi aktive fibrin monomerleri arasındaki crosslinking reaksiyonu katalize eder. Bu sayede oluşan trombüsün mekanik direnci artarken, trombüs fibrinolizise karşı daha dirençli hale dönüşür. Faktör 13 fibrin molekülleri arasındaki reaksiyon dışında fibronektin, vitronektin, kollagen ve lipoprotein arasındaki bağlantıları da katalize edebilir (20).

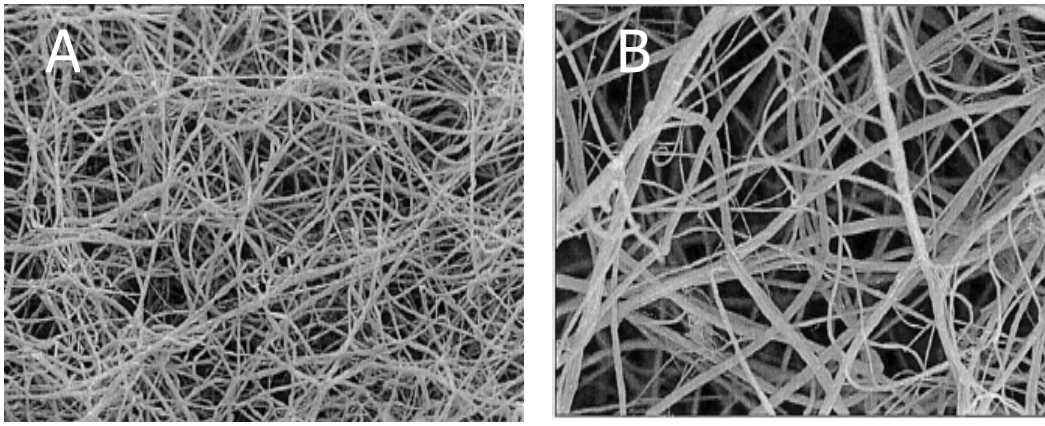


Şekil 3. Faktör 13 A subünitinin dimer yapısı. Faktör 13 kalsiyum bağımlı transglutaminazdır. A ve B subünitlerinden oluşur

Hemostasin devamı için esansiyel bir faktör olan F13 eksikliğinde ciddi kanamalar oluşabilir (21). Konjenital F13 eksikliği spontan kanamalarla karakterize, nadir görülen, otozomal resesif bir koagülasyon bozukluğudur (19,22). Faktör 13 gen polimorfizminin KAH ve koagülasyon anormallikleriyle ilişkili olduğunu gösteren klinik ve epidemiyolojik çalışmalar bulunmamaktadır.

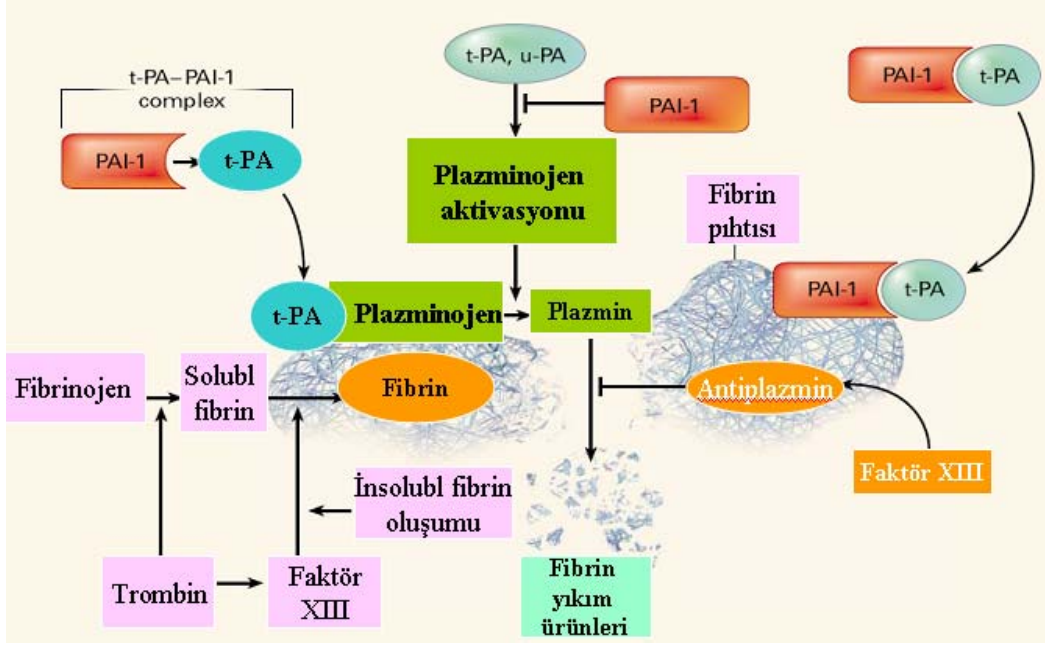
Faktör 13 ile ilgili birçok genetik polimorfizmi tanımlanmıştır (23), Daha önceki çalışmalarda en çok F13 A subünitesindeki genetik polimorfizm araştırılmıştır. Faktör 13-A subünitindeki exon 2 bölgesindeki 34. kodondaki G→T polimorfizmi Valinin (GTG) Lösin' e (TTG) dönüşümüne neden olur (24). Faktör 13-A Valin34Lösin polimorfizmle ilgili 3 farklı genetik yapı tanımlanmıştır (25,26). Valin/Valin yapısı Wild-tip, Valin/Lösin heterozigot ve Lösin/Lösin yapısı ise homozigot olarak belirtilmektedir. Faktör 13-A subünitindeki genetik polimorfizmi toplumlar arasında büyük farklılık göstermektedir. Lösin 34 allel sıklığı batı toplumlarında daha yüksek oranda bulunmuştur.

Faktör 13-A subünitindeki genetik farklılık F13' ün plazma seviyesini ve F13 aktivitesini etkileyebilmektedir (26,27). Lösün varyantı F13' ün transglutaminaz aktivitesini değiştirmekte; daha yüksek enzim aktivitesine neden olmaktadır. Heterozigot taşıyıcılarda orta derecede enzim aktivitesi ile karakterizedir (26). Plazma F13 artışı yeterli miktarda plazmin oluşumunu engelleyerek daha rigid yapıda fibrin oluşturmakta, fibrinin fibrinolitik etkilere karşı daha dirençli olmasına neden olmaktadır. Lösün 34 varyantının MI riskini artırdığını gösteren çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (28). (Şekil 4).



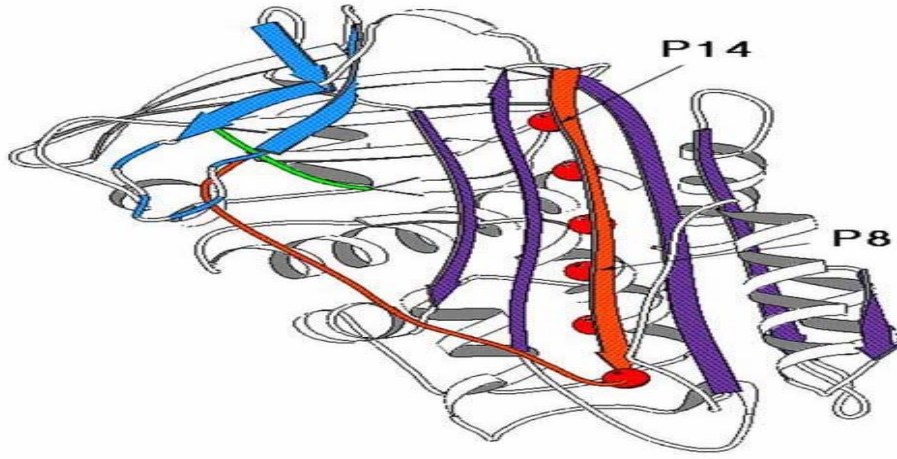
Şekil 4. Faktör 13 V34L gen polimorfizmi ile fibrin oluşumu arasındaki ilişki. A: 34 Lösün varyantı B:34 Valin varyantı

Fibrinolitik sistemin düzenlenmesi: Hemostas ve koagulasyon sistemlerinin yanı sıra doğal fibrinolitik mekanizmalar bulunmaktadır. Plazminojen kan dolaşımında bulunan fibrinolitik sistemin bir üyesidir. Çeşitli ajanlar tarafından Arjinin-Valin bağının kırılmasıyla aktif formu olan plazmine dönüştürülür. Plazmin ise fibrinolitik yoldaki en önemli son üründür. Plazminin aktivasyonunda ve inhibisyonunda çeşitli mediatörler etkilidir. En önemli plazminojen aktifleştirici ajan doku plazminojen aktivatörüdür (t-PA). Doku plazminojen aktivatörü vasküler endotel hücreleri tarafından sentezlenip kan dolaşıma salınır ve fibrinolizisin başlamasında önemli rol üstlenmektedir. Plazmin fibrin, fibrinojen, F5 ve F8' i parçalar. Doku plazminojen aktivatörü üzerindeki bölgeler fibrine bağlanmada, fibrine özgü plazminojenin aktifleştirilmesinde endotele bağlanmada rol oynar. Fibrin varlığında t-PA' nın plazminojen etkinleştirici özelliği belirgin bir şekilde artar. Dolaşımdaki t-PA (PAI-1) tarafından inhibe edilmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. Fibrinolitik yolların aktivasyonu ve inhibisyonu.

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1: Kan dolaşımında fibrinolitik sisteminin endojen inhibitörleri bulunmaktadır (Şekil 5). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 fibrinolizisin güçlü bir inhibitörüdür. İnsanlarda doku plazminojen etkinleştirici (t-PA) ajanlara karşı 2 farklı plazminojen inhibitörü bulunmuştur (29). Bu iki molekül serin protez ailesini üyesidir. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 379 aminoasitten oluşan tek zincirli 52 kDA ağırlığında bir glikoproteindir ve endotel, düz kas, trombositler plasenta gibi bir çok dokuda bulunmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 doğal fibrinolitik sistemin endojen bir inhibitörü olarak görev yapmaktadır (Şekil 6).



Şekil 6. Plasminojen aktivator inhibitörü-1' in yapısı

Fibrinolizisin bozulması t-PA, ürokinaz tipi plazminojen aktivatör ve PAI-1 arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. Plasminojen aktivator inhibitörü-1'in zirve plazma düzeyi sabah saatlerinde yükselirken PAI-1' in sabahın erken saatlerinde artması MI' in sabah saatlerinde sık görülmesiyle ilişkilendirilebilir (30). Visseral obezite PAI-1' i artırabilir. Bu durum fibrinolizisin bozulmasına yol açarak şişmanlarda daha sık görülen koroner aterosklerozu açıklayabilir. Yüksek PAI-1 seviyeleri ayrıca insulin direnci ile ilişkili bulunmuştur.

Fibrinoliz damar duvarından t-PA ve PAI-1 sentez ve salgılanmasının artırılması yada azaltılması ve bu moleküllerin eliminasyon hızına bağlıdır (31). Venöz tromboemboli, obezite, sepsis, KAH ve akut MI gibi trombotik hastalıklarda PAI-1 seviyesinin arttığı ve bunun neticesinde fibrinolitik kapasitenin azaldığı gösterilmiştir (32,33). Koroner arter hastalığı olan hastalarda artmış lokal yada sistemik PAI-1 düzeylerinin hastalığın patofizyolojisi ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir. Miyokard infarktüs yada USAP' da yüksek PAI-1 düzeyleri tespit edilmiş (33). Angina pectorisli hastalarda yüksek PAI seviyesi yüksek kardiyak olaylarla ilişkili bulunmuştur (34).

Plasminojen aktivator inhibitörü-1 4G/5G gen polimorfizmi PAI-1 geninin promoter bölgesindeki 675. baz çiftindeki tek bir nükleotiddeki insersiyon/delesyon sonucunda ortaya çıkan sık görülen bir polimorfizmdir (35-37). Polimorfizm 4 ya da 5 Guanin nükleotidi oluşumu ile sonuçlanır. Hem 4G hem de 5G bölgesi transkripsiyon

aktivasyonu için bağlayıcı bölgeye sahiptir. 5G alleli ayrıca represör için bağlayıcı bir bölgeye sahiptir. Bu bölge PAI-1' in daha az transkripsiyonu ve daha az PAI-1 aktivitesi ile sonuçlanır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gen polimorfizmi ile plazma PAI-1 konsantrasyonu arasında yakın ilişki oldu gösterilmiştir. 4G alleli için homozigot olan kişilerde plazma PAI-1 konsantrasyonunun 5G için homozigot olan bireylere göre % 25 oranında daha fazla olabileceği gösterilmiştir (38).

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gen polimorfizmi ile KAH arasında ilişki olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (39). Dokuz klinik çalışmanın metaanalizinde 4G/4G genotipinin MI için % 20 oranında bir risk artışına neden olabileceği gösterilmiştir. Aterosklerotik koroner lezyonlar ile PAI-1 gen polimorfizmi arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda araştırılmış; bununla birlikte KAH için yüksek riskli gruplarda ilişki olduğu gösterilmesine rağmen bazı çalışmalarda bu ilişki tespit edilmemiştir (40).

Hem F13 hem de PAI-1 gen polimorfizmi KAH oluşmasında, hastalığının progresyonunda ve özellikle AKS klinik tablosunun oluşmasında önemli rol oynayabilir. Fibrin oluşumu ve fibrinolitik sistem arasındaki ilişki düşünüldüğünde F13 ve PAI-1 birbiri ile yakın ilişki içerisindedir. Faktör 13 gen polimorfizmi hassas plak rüptüründen sonra oluşun tıkaçıcı pıhtıyı daha rijit hale getirerek trombüsün hem doğal hem de medikal fibrinolitik ajanlara karşı daha dirençli olmasına neden olmaktadır. ST yükseklği olan MI da trombolitik tedavi için trombüs oluşumundan sonraki ilk 3 saatinin en uygun zaman olması oluşun fibrinin geç dönemde daha stabil hale gelmesi ve fibrinolitiklere karşı daha dirençli olmasının bir sonucudur. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1' in önemi ise özellikle spontan fibrinoliziste daha belirgindir. Koroner arterlerde oluşan tıkaçıcı trombüsün doğal fibrinolitik yollarla ortadan kaldırılması miyokardiyal kanlanmanın tekrar sağlanması için çok önemli doğal bir savunma mekanizmasıdır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gen polimorfizmi direkt olarak plazma PAI-1 düzeylerini etkileyerek doğal fibrinolitik sistem üzerinde belirleyici olmaktadır.

Koroner arter hastalığının tanısında kullanılan koroner anjiyografi yöntemi ile ateroskleroz şiddeti ve yaygınlığı, aterosklerotik lezyonların morfolojik özellikleri

hakkında fikir sahibi olmak mümkündür. Hem PAI-1 hem de F13 aterosklerozun son dönemini özellikle tıkaçıcı trombus oluşumunda ve bu trombusun ortadan kaldırılması aşamasında çok önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle PAI-1 ve F13 gen polimorfizminin koroner anjiyografi bulgularında değişiklik yapabileceği beklenebilir. Literatürde PAI-1 ve F13 gen polimorfizmleriyle KAH' lı hastaların angiografik bulguları arasındaki ilişkiyi araştıran yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 ve F 13 gen polimorfizmlerinin AKS gelişimi ile ilgili çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur. Gen polimorfizmlerin MI, serebrovasküler olay ve trombus gelişimi için risk faktörü olabileceği bildirilmesine rağmen etnik ve bireysel faktörler bu konuda belirleyici olmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 ve F13 gen polimorfizm sıklığı belirgin etnik ve farklılık göstermesinden dolayı iki gen polimorfizminin biyolojik ve epidemiolojik etkileri de toplumlar arasında farklılık gösterebilir. Türk toplumunda ve bölgemizde PAI-1 ve F13 gen polimorfizmlerin sıklığı, koroner arter hastalığının klinik özellikleri üzerindeki etkisi bilinmemektedir.

Çalışmamızda hastanemize başvuran ve KAH tespit edilen hastalarda PAI-1 ve F13 gen polimorfizm sıklığını, gen polimorfizminin KAH kliniği üzerindeki etkisini ve koroner anjiyografi bulgularıyla ilişkisini araştırdık.

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji bölümüne 2005 haziran ve kasım tarihleri arasında başvuran akut miyokard infarktüsü (MI) 23, anstabil angina pektorisli (USAP) 22 ve stabil angina pektorisli (SAP) 23 hasta alındı. Koroner arter hastalığı tanısı klinik bulgular, laboratuvar testleri ve elektrokardiyografiyle konuldu. Hastaneye yatışta hastaların öyküleri alındı, fizik muayeneleri yapıldı.

Daha önceden KAH tanısı alan, perkutan koroner girişim uygulanmış hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hastalardan genetik polimorfizmi tespit etmek amacıyla ve kan lipit profilinin tayin edilmesi için yatışının ilk 24 saatinden sonra 12 saat açlık kan örnekleri alındı.

Akut koroner sendromların ve akut miyokard infarktüsünün tanısı

Kararsız Angina tanısı; 20 dakikadan daha uzun süren tipik istirahat ağrısı, son iki ay içinde yeni başlayan tipik göğüs ağrısı veya daha önceki tipik göğüs ağrısının şiddetinde artmasıyla birlikte miyokard enzimlerinde yükselme olmamasına rağmen troponin değerlerinde yükselme olmasıyla konuldu.

ST segment yükselmesi olan miyokard infarktüs tanısı; 30 dakikadan fazla süren tipik göğüs ağrısı, elektrokardiyografide komşu iki derivasyonda yada daha fazla derivasyonda ST segment yüksekliği (göğüs derivasyonlarında 2 mm, ekstremitelerde derivasyonlarında 1 mm) ile birlikte miyokard enzimlerinde ve troponinde yükselme olmasıyla konuldu.

ST segment yükselmesi olmayan miyokard infarktüs tanısı; 30 dakikadan daha fazla süren tipik göğüs ağrısı, ST segment depresyonu ve T dalga negatifliğine kardiyak enzim yüksekliğinin ve troponin pozitifliğinin eşlik etmesiyle konuldu.

Kararlı angina tanısı; son 60 gün içinde sıklığı, süresi ve şiddetinde değişiklik olmayan tipik göğüs ağrısıyla beraber ağrının süresinin 10 dakikanın altında olması, eforla yada emosyonel stresle ortaya çıkması, istirahat yada dil altı nitrogliserin verilmesiyle ağrının hafiflemesiyle tanı konuldu.

Koroner anjiyografi:

Hastalara standart pozlarda Philips marka INTEGRIS H 5000 monoplan kardiyak anjiyografi cihazıyla koroner anjiyografi yapıldı. Hastalara sağ veya sol femoral yaklaşımla, Judkins tekniği ile 6F veya 7F kateterler kullanılarak selektif koroner anjiyografi yapıldı. Opak madde olarak Iopromide (Ultravist-370) veya Iohexol (Omnipaque 350 mg/ml) kullanıldı. Her bir poz için ortalama 6-8 ml opak maddenin manuel olarak enjekte edilmesiyle koroner arterler sağ ve sol oblik pozisyonlarda kranyal ve kaudal açılındırmalar kullanılarak görüntülendi.

Koroner aterosklerozun angiografik olarak değerlendirilmesi:

Koroner aterosklerozun şiddetinin ve yaygınlığının değerlendirilmesinde Gensini ve Extent skoru kullanıldı. Hastalıklı koroner damar sayısı iki şekilde hesaplandı. Birincisi yöntemde koroner damarlarda herhangi bir tıkaçıcı lezyonun olması hastalıklı damar olarak kabul edilerek 1 ile 3 arasında skorlama yapıldı. Diğer damarlarda herhangi bir lezyon olmadan sol ana koronerde lezyon tespit edilemesi 2 damar hastalığı olarak kabul edildi. Diğer yöntemde koroner arterin hastalıklı olarak

kabul edilmesi için tıkaçıcı lezyonun \geq % 50 fazla olması şartı arandı. Ana koronerde % 50 den fazla olması 2 damar hastalığı olarak kabul edildi.

Gensini skoru: Aterosklerotik lezyonlardaki stenoz şiddetinin belirlenmesinde Gensini skorunu kullandık (41,42). Gensini skoru ile aterosklerotik lezyonların yaygınlığından daha çok stenotik lezyonların şiddetini değerlendirmeyi amaçladık. Bu skorlamada koroner vasküler yatak 8 segmente ayrıldı (Sol ana koroner, sol anterior descending, ana diyagonal dal, 1. septal dal, sol sirkumfleks arter, obtus marjinal ve posterolateral arter, sağ koroner arter ve posterior descending arter). Her segmentteki tıkaçıcı lezyona darlık şiddetine göre 1 ile 4 arasında puan verildi. Lümen daralması % 1 ile 49 ise 1, % 50 ile 74 daralmaya: 2, % 75 ile 99 daralmaya: 3, % 100 oklüzyona 4 puan verildi. Böylece her hasta için 0–32 arasında puan elde edildi.

Extent skoru: Ateroskleroz şiddetini değerlendirmek için Extent skorunu kullandık (43). Extent skoru ile stenoz şiddetinden bağımsız olarak aterosklerotik plak miktarını değerlendirmeyi amaçladık. Bu skorlamada koroner vasküler yatak 8 segmente ayrıldı. Her segmentteki plak miktarına plağın total segmentteki oranına göre puan verildi. Sekiz segmentin total puanlaması şu şekilde yapıldı; sol ana koroner: 5, Sol anterior descending: 20, ana diyagonal dal: 10, 1. septal dal: 5, sol sirkumfleks arter: 10, obtus marjinal: 10, posterolateral arter: 10, sağ koroner arter: 20 ve posterior descending arter: 10. Buna göre tüm koroner yatağa plak yüzdesine göre 0 ile 100 arasında puan verildi. Total oklüzyonlarda kolleteral doluşa göre değerlendirme yapıldı. Eğer kolleteral yok ise diğer damarlardaki ortalama puan o segmente verildi.

Aterosklerotik lezyonların morfolojik özelliklerinin değerlendirilmesi

Aterosklerotik lezyonların morfolojik özelliklerini koroner angiografik olarak değerlendirdik. Angiografik olarak tespit edilen lezyonlarda trombüs, kalsifikasyon, koroner ektazi, yavaş koroner akım sıklığı araştırıldı. Ayrıca tüm lezyonlar ACC/AHA lezyon klasifikasyonuna göre sınıflandırıldı (44,45). Tip A, B ve C

lezyon sıklığı araştırılarak lezyon morfolojisi ile genetik polimorfizm arasındaki ilişki araştırıldı.

Biyokimyasal Parametreler

Miyokard enzimleri ve kan lipitleri kreatin kinaz (CK), CK-MB, Total kolesterol, HDL kolesterol ve LDL kolesterole özgü Thermo kitleriyle Konelab 60I[®] cihazıyla (Thermo Clinical Labssystem[®]) çalışıldı. Kreatin kinaz için referans aralığı 40–226 U/I, CK-MB için 2–20 U/I, Total kolesterol için 70–220 mg/dl, HDL kolesterol için 30–70 mg/dl, LDL kolesterol için 60–170 mg/dl, alındı. Troponin I ise Biomérieux[®] Vidas[®] cihazında monoklonal antikorların kullanıldığı one-step immunoassay sandwich metoduyla (ELFA) çalışıldı.

Genetik polimorfizmin belirlenmesi:

Hastaların F13 ve PAI -1 gen polimorfizmi için genetik yapıları CVD StripAssay yöntemi ile belirlendi. Genetik yapının belirlenmesi 5 aşamada gerçekleştirildi.

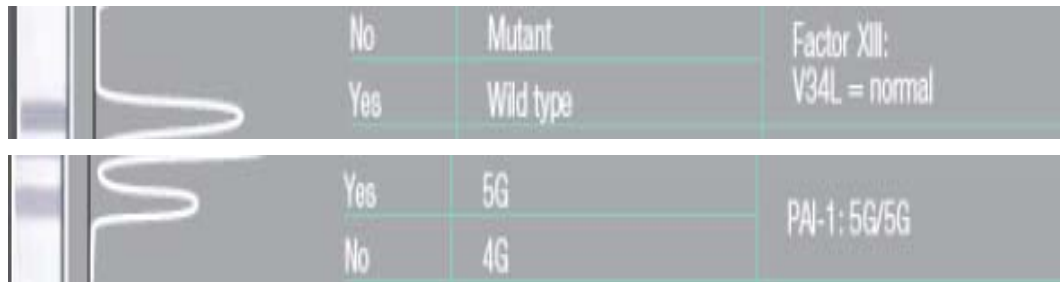
1. DNA izolasyonu
2. İn vitro amplifikasyon (PCR; Her örnek için 2 ayrı reaksiyon)
3. Hibritizasyon (45°C)
4. Yoğun yıkama (45°C)
5. Renk geliştirme (Oda sıcaklığında)

Tüm hastalardan DNA izolasyonu amacıyla EDTA' lı tüplere 6 ml periferik kan örneği alındı. DNA elde edilmesinde bu kan örneğindeki lökositler kullanıldı. 100 ul kan örneği mikro tüp içerisinde 1ml lisis solüsyonu ile çeşitli defalar karıştırıldı. 200 ul GEN^xTRACT resin eklenerek inkübasyon ve santrifüg edildi. DNA, çeşitli işlemlerden sonra etanol ile karıştırılarak presipite edildi. Genotip tayini DNA dizilerinin in vitro amplifikasyon tekniği olan PCR yöntemiyle yapıldı. PCR' ın ilk aşamasında DNA' ya 94°C' de 2 dakika, 94°C'15 dakika ve 72 °C 3 dakikalık işlemler uygulandı. İkinci aşamada 65°C' de primerlerin yapışması ve son aşamamada 72°C' de gerçekleşen sentez basamaklarından oluştu. Bu şekilde 3

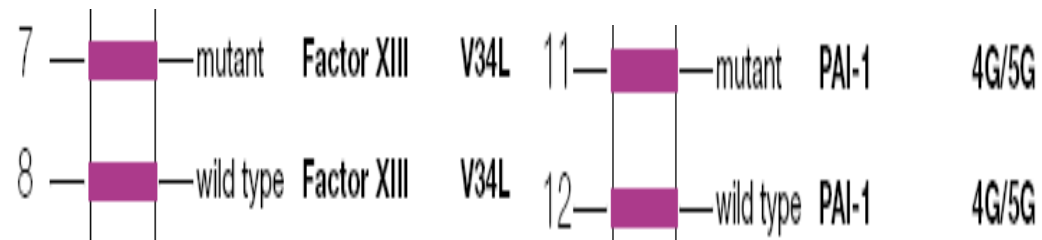
aşamadan oluşan siklus yaklaşık 30 kez tekrarlanarak amplifikasyon tamamlandı (46-48).

PCR materyali % 2' lik agaroz jele yüklenerek bir saat elektroforez uygulandı. Elektroforez sonrasında jelin fotoğrafı çekildi. Bir örneğin genetik yapısı Collector™ plaka kullanılarak yapıldı. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 ve F13 için genetik yapı mutant yada wild tipin görülmesine göre belirlendi. Şekil (7-9). Genetik yapıyı belirleyen araştırmacı hastaların klinik bulguları hakkında bilgi sahibi değildi.

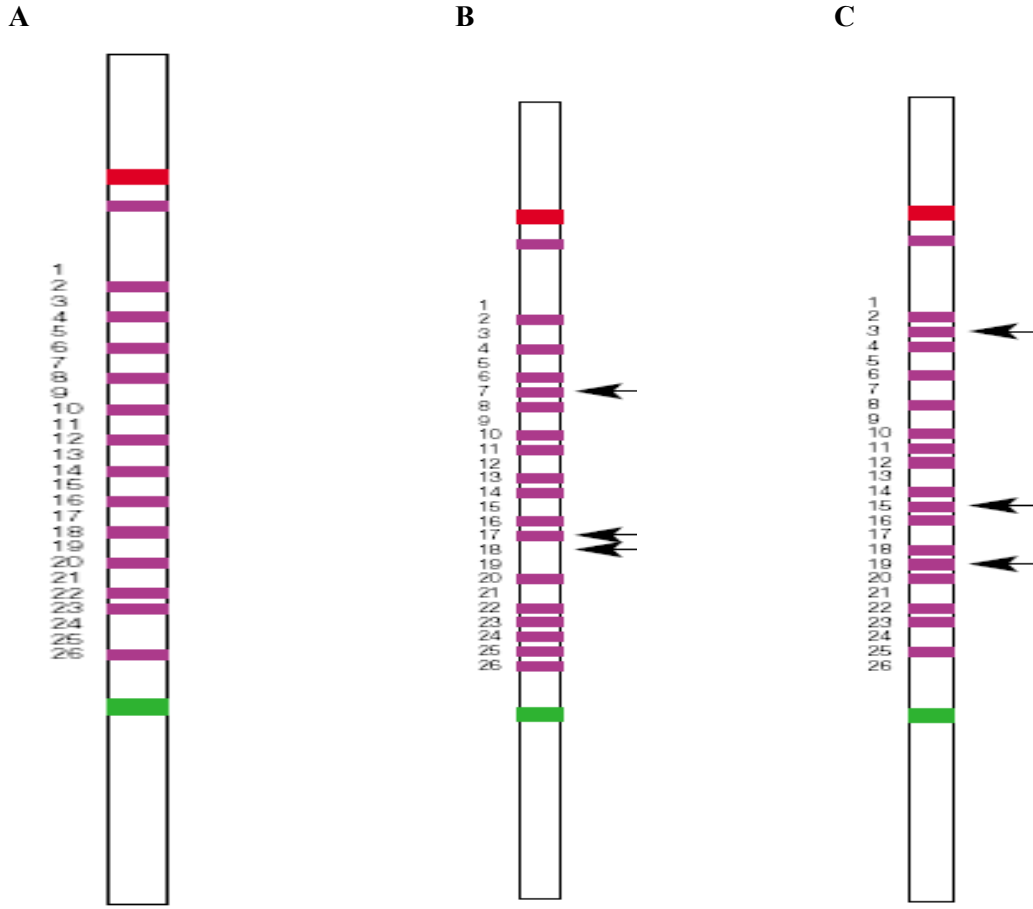
Sonuç olarak F13 için normal (Wild tip), heterozigot ve homozigot, PAI-1 için ise 4G/4G, 4G/5G, 5G/5G olmak üzere 3 farklı genetik yapı belirlendi.



Şekil 7. Faktör 13 Valin34Lösin ve PAI-1 gen polimorfizminin genetik analizi



Şekil 8. Faktör 13 Valin34Lösin ve PAI-1 gen polimorfizminin genetik analizi



Şekil 9. F13 ve PAI 1 genotipinin belirlenmesi A: F13; Normal PAI-1; 4G/4G, B: F13; Heterozigot PAI-1; 5G/5G, C: F13; Normal PAI-1; 4G/5G,

İstatistiksel analiz:

Çalışmada kullanılan sürekli değişkenler normal dağılım gösterdiğinden ve örnek büyüklükleri de yeterli olduğundan dolayı, F13 ve PAI-1 genotip grupları arasındaki karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Student-t testi kullanıldı. Kategorik değişkenler yönünden karşılaştırmalarda Ki-Kare Testi (beklenen değer en az bir gözde 5’den küçük bulunduğu Fisher Kesin Ki-Kare Testi) kullanıldı, sayı ve yüzde ile gösterildi. Plazminojen aktivatör inhibitörü-12 in AKS gelişimi için bir risk faktörü olup olmadığının incelenmesinde univariate analiz yapıldı. Tüm karşılaştırmalarda p değerinin 0.05’ in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm hesaplamalar istatistik paket programı ile yapıldı (SPSS 11.5 demo SPSS inc. Chicago, Illinois).

BULGULAR

TEMEL KLİNİK ÖZELLİKLER

Hastaların temel klinik özellikleri Tablo 1' de gösterilmiştir. Çalışmaya SAP tanısı olan 23 hasta (11 erkek, 12 kadın), USAP yada ST yükselmesiz MI tanısı olan 22 hasta (12 erkek, 10 kadın), ST yükselmesi olan MI tanısı olan ve trombolitik tedavi uygulanan 23 hasta (13 erkek, 10 kadın) alındı. Gruplar arasında cinsiyet, yaş, sigara içimi DM ve HT sıklığı kan lipit profilleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Stabil anginalı hastalarda HT sıklığı daha fazla iken, MI tanısı olan hastalarda sigara içimi daha fazlaydı. Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

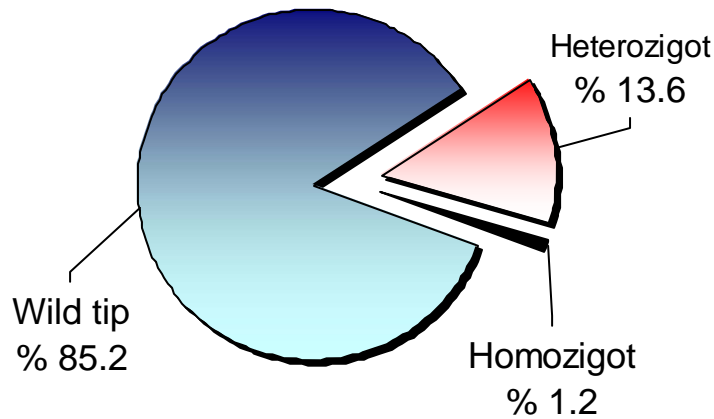
Tablo 1. Hastaların temel klinik özellikleri

	SAP (n:23)	USAP / Non Q (n:22)	Akut MI (n:23)	p
Yaş (yıl)	59,33±11,81	59,51±11,05	57,70±11,83	AD
Cins (erkek/kadın) n	11/12	12/10	13/10	AD
Diabetes Mellitus	%19.4	%25.6	% 22.2	AD
Hipertansiyon	%31.5	%23.1	%26.1	AD
Sigara	%29.7	%30.1	%35.9	AD
Aile öyküsü	%26.1	%31.6	%24.3	AD
Total Kol. (mg/dl)	187.3±46.2	174.7±31.7	173.7±47.1	AD
LDL Kol. (mg/dl)	111.1±38.9	113.7±25.5	110.1±37.6	AD
HDL Kol. (mg/dl)	48.4±17.7	47.0±13.1	46.0±11.8	AD

Sonuçlar ortalama±SS yada yüzde olarak ifade edildi. SAP: Stabil angina pektoris, USAP: Anstabil angina pektoris, MI: Miyokard infarktüsü, AD:Anlamli değil

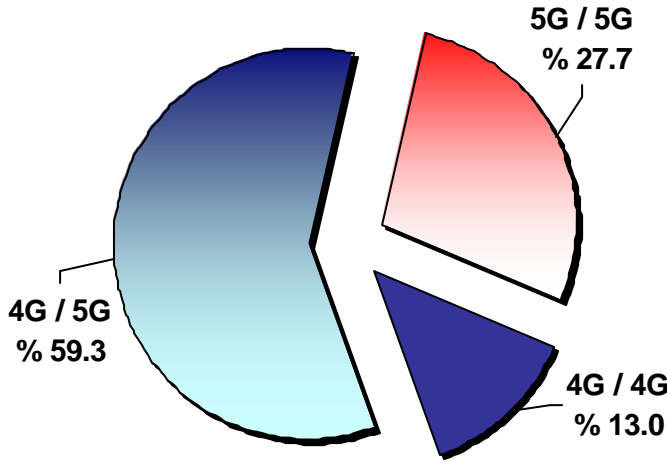
GRUPLARDAKİ FAKTÖR 13 VE PAI-1 GEN POLİMORFİZM SIKLIĞI

Genetik polimorfizm sıklığı tüm hasta grubunda incelendiginde; F13 için hastaların % 85.2 normal, % 13.6 heterozigot ve % 1.2 homozigottu (Şekil 10).



Şekil 10. Tüm hasta grubundaki F13 gen polimorfizm sıklığı

Plazminojen aktivator inhibitörü-1 için genetik yapı incelendiğinde; tüm çalışma popülasyonunun % 59.3' ünde 4G/5G, % 27.7' ünde 5G/5G ve % 13.0' ünde 4G/4G gen polimorfizmi vardı (Şekil 11).



Şekil 11. Tüm hasta grubundaki PAI-1 gen polimorfizm sıklığı

Gruplar arası F13 genetik polimorfizm sıklığı incelendiğinde her 3 gruptaki hastaların ortalama % 80' i normal genetik yapıya sahipti (sırasıyla; SAP: %82.6, USAP: %84.2, akut MI: %78.3). Heterozigot genetik yapı MI ve USAP grubunda daha yüksek oranda olmasına rağmen bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi (SAP: %13.0, USAP: %15.8, MI: %21.7, $p>0.05$). Tüm hastalar arasında sadece SAP grubunda bir hasta homozigot genetik yapı vardı.

Gruplar arası PAI-1 gen polimorfizm sıklığı incelendiğinde en sık görülen genetik yapı olan 4G/5G genotipi MI ve USAP grubunda SAP grubuna göre daha yüksekti. Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlılık kazanmadı (SAP: % 43.8, USAP: % 72.7, MI: % 73.7). 5G/5G genotipi ise SAP grubunda daha yüksekti. Gruplardaki F13 ve PAI-1 gen polimorfizm sıklığı Tablo 2. de gösterilmektedir.

Tablo 2. F13 ve PAI-1 gen polimorfizm sıklığı

	SAP (n:23)	USAP (n:22)	Akut MI (n:23)	p
Faktör 13				
Normal n(%)	19(82.6)	16(84.2)	18(78.3)	AD
Heterozigot n(%)	3(13.0)	3(15.8)	5(21.7)	AD
Homozigot n(%)	1(4.3)	-	-	
PAI -1				
4G/5G n(%)	7(43.8)	8(72.7)	14(73.7)	AD
5G/5G n(%)	7(43.8)	1(9.1)	4(21.1)	AD
4G/4G n(%)	2 (12.5)	2(18.2)	1(5.3)	AD

Sonuçlar yüzde olarak ifade edildi. SAP: Stabil angina pektoris, USAP: Anstabil angina pektoris, MI: Miyokard infarktüsü, AD: Anlamlı değil

Hastalar stabil angina pektoris ve AKS olmak üzere iki gruba ayrılarak genetik inceleme yapıldığında F13 için heterozigot polimorfizme sahip hastalar AKS grubunda daha yüksek oranda bulundu. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlılık kazanmadı (SAP: %13.0' e karşı AKS: %19.0). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 4G/5G genotipi AKS grubunda daha yüksek bulunurken (% 43.8' e karşı 73.3); 5G/5G genotipi SAP grubunda daha yüksek bulundu (% 43.8' e karşı 16.7). Bu değerler istatistiksel olarak anlam kazanmadı (p>0.05) (Tablo 3).

Tablo 3. SAP ve AKS gruplarında F13 ve PAI-1 gen polimorfizmi

	SAP (n:23)	AKS (n:45)	p
Faktör 13			
Normal n(%)	19(82.6)	34(81.0)	AD
Heterozigot n(%)	3(13.0)	8(19.0)	AD
Homozigot n(%)	1(4.7)	0	-
PAI-1			
4G/5G n(%)	7(43.8)	22(73.3)	AD
5G/5G n(%)	7(43.8)	5(16.7)	AD
4G/4G n(%)	2(12.5)	3(10)	AD

Sonuçlar yüzde olarak ifade edildi. SAP: Stabil angina pektoris, AKS: Akut koroner sendrom AD: Anlamlı değil

FAKTÖR 13 GEN POLİMORFİZMİNİN KLİNİK VE ANGIOGRAFİK BULGULARLA İLİŞKİSİ

Hastaların genetik özellikleri normal ve homozigot/heterozigot olarak sınıflandırıldığında klinik özelliklerin iki grup arasındaki karşılaştırılması Tablo 4' te gösterilmektedir. Gruplar arasında SAP, USAP ve akut MI sıklığı açısından anlamlı fark yoktu. Diabetes mellitus, HT, aile hikayesi ve sigara içimi sıklığı 2 grupta da benzerdi.

Tablo 4. Faktör 13 genetik tiplerinde hastaların klinik özellikleri

	F13 Normal (53)	F13 Homozigot + Heterozigot (12)	p
Yaş (yıl)	58,43±12,41	59,63±14,81	AD
Cinsiyet (erkek/kadın) n	52/48	58/42	AD
DM	% 23.2	% 21.6	AD
Sigara	% 31.2	% 34.3	AD
HT	% 24.1	% 31.7	AD
Aile hikayesi	% 23.6	% 24.7	AD
SAP	% 35.8	% 33.3	AD
USAP	% 30.2	% 25.0	AD
MI	% 34.0	% 41.7	AD

Sonuçlar ortalama±SS yada yüzde olarak ifade edildi. DM: Diabetes Mellitus, HT: Hipertansiyon, SAP: Stabil angina pektoris, USAP: Anstabil angina pektoris, MI: Miyokard infarktüsü, AD:Anlamlı değil

Faktör 13 genetik farklılığı ile tüm hasta grubunun angiografik özelliklerin karşılaştırılması Tablo 5' te gösterilmektedir. Faktör 13 genotipi normal olan hastalarda hastalıklı damar sayısı ve Extent skoru anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Tip C lezyon oranı yine F13 polimorfizmi normal olan hastalarda daha yüksek bulundu. Gensini skoru, kritik lezyon sayısı, tip A ve B lezyon oranları total oklüzyon, trombus sıklığı iki grupta da benzerdi.

Tablo 5. F 13 genetik tiplerinin angiografik bulguları

	F13 Normal (53)	F13 Homozigot + Heterozigot (12)	p
Hastalıklı damar sayısı (> % 0)	2.3±.7	1.7±1.0	0.03
Hastalıklı damar sayısı (> %50)	1.6±1.0	1.2±.9	AD
Extent Skoru	15.7±12.2	9.1±8.3	0.03
Gensini skoru	6.7±3.9	4.8±3.7	AD
Kritik lezyon sayısı	1.9±1.4	1.3±1.0	0.04
Tipe A lezyon oranı	% 10.7	% 7.2	AD
Tipe B lezyon oranı	% 63.1	% 76	AD
Tipe C lezyon oranı	%26.2	%16.8	0.05
LMCA	%1.9	0	-
Total oklüzyon	%26.4	%8.3	AD
Ektazi	%1.9	0	-
Trombüs	%9.4	%8.3	AD
Kalsifikasyon	%1.9	0	-

Sonuçlar ortalama±SS yada yüzde olarak ifade edildi. LMCA: Sol ana koroner arter, p<0.05;İstatistiksel olarak anlamlı, AD: Anlamlı değil

PAI-1 GEN POLİMORFİZMİNİN KLİNİK VE ANGIOGRAFİK BULGULARLA İLİŞKİSİ

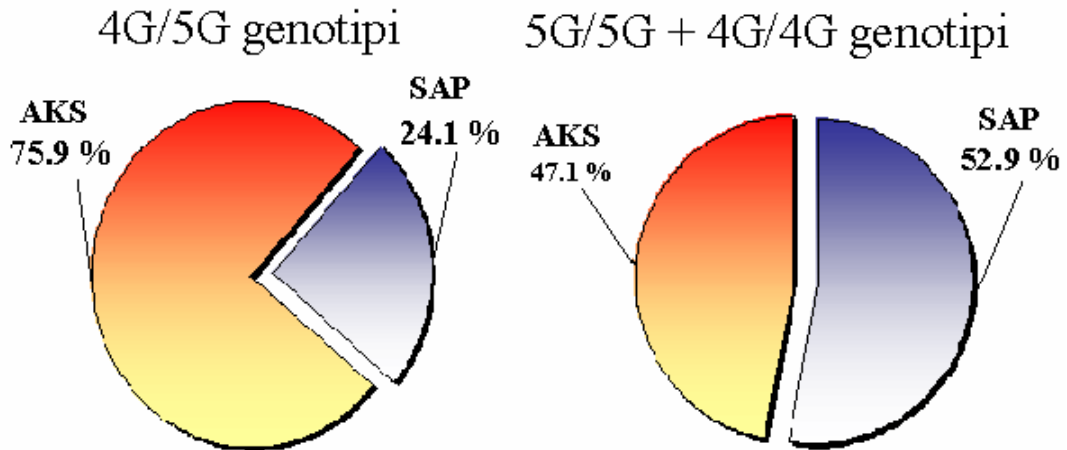
Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gen polimorfizmi ile hastalara ait klinik özelliklerin karşılaştırılması Tablo 6' da gösterilmektedir. Normal populasyonda en sık görülen polimorfizm tipi olan 4G/5G genotipine sahip hastalarda DM sıklığı daha fazla bulundu (%21'e karşı %15.6). Fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca 5G/5G +4G/4G genotipi olan hastalarda SAP sıklığı daha fazlaydı (% 24.1'e karşı % 52.9, p=0.07).

Tablo 6. PAI-1 genetik tiplerinde hastaların klinik özellikleri

	4G/5G (29)	5G/5G+4G/4G (17)	p
Yaş (yıl)	57,16±11,61	58,53±13,52	AD
Cinsiyet (erkek/kadın) n	% 55/48	%58/42	AD
DM	% 21.0	% 15.6	AD
Sigara	% 33.4	% 34.1	AD
HT	% 31.5	% 30.9	AD
Aile hikayesi	% 24.1	% 25.6	AD
SAP	% 24.1	% 52.9	0.07
USAP	% 27.6	% 17.6	AD
MI	% 48.3	% 29.4	0.07

Sonuçlar ortalama±SS yada yüzde olarak ifade edildi. DM: Diabetes Mellitus, HT: Hipertansiyon, SAP: Stabil angina pektoris, USAP: Anstabil angina pektoris, MI: Miyokard infarktüsü, p<0.05; İstatistiksel olarak anlamlı AD:Anlamlı değil

Hastalar SAP ve AKS olarak gruplandırıldığında 4G/5G genetik yapısı olan hastaların % 24.1' inde SAP, % 75.9' unda AKS tanısı mevcuttu (**p=0.04**) (Şekil 12).



Şekil 12. PAI-1 gen polimorfizmi ile SAP ve AKS arasındaki ilişki (**p=0.04**) AKS: Akut soroner sendrom, SAP: Stabil angina pektoris

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 genetik tiplerinin, AKS için bir belirleyicisi olup olmadığını univariate analizi ile incelendi. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 için heterozigot olan hastalarda AKS gelişme riskinin 1.6 kat arttığı görüldü (Odds ratio=1.65, %95 güvenilirlilik aralığı 0.93-2.78, **p<0.04**).

Genetik yapısı 5G/5G+4G/4G olan hastaların angiografik olarak tespit edilen hasta damar sayısı ve Extent skoru anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Diğer angiografik sonuçlarla PAI-1 gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki tespit edilmedi (Tablo 7).

Tablo 7. PAI-1 genetik tiplerinde hastaların angiografik özellikleri

	4G/5G (29)	5G/5G+4G/4G (17)	p
Hastalıklı damar sayısı (>%0)	2.1±0.8	2.5±0.6	0.03
Hastalıklı damar sayısı (>%50)	1.4±1.0	1.6±0.7	AD
Extent Skoru	15.1±12.3	16.4±13.3	0.03
Gensini skoru	6.2±3.8	7.2±4.1	AD
Kritik lezyon sayısı	1.6±1.4	2.1±1.5	AD
Tipe A lezyon %	% 18	% 4	AD
Tipe B lezyon %	% 63	% 71	AD
Tipe C lezyon %	% 19	% 25	AD
LMCA %	0	%5.6	-
Total oklüzyon %	%20.7	%22.2	AD
Trombüs %	%10.3	%5.6	AD

Sonuçlar ortalama±SS yada yüzde olarak ifade edildi. LMCA: Sol ana koroner arter
p<0.05;İstatistiksel olarak anlamlı, AD:Anlamlı değil

TARTIŞMA

Aterosklerozun gelişmesinde ve progresyonunda hiperlipidemi, sigara içimi, DM ve HT gibi klasik risk faktörleriyle birlikte homosisteinemi, fibrinojen ve PAI-1 gibi faktörler güncel risk faktörü olarak kabul edilmektedir (49-50). Genetik faktörlerin KAH gelişiminde rolü % 20-60' dır (51). Bu oran özellikle genç hastalarda daha yüksek olmaktadır. Akut koroner sendrom oluşumunda en önemli patofizyolojik mekanizma aterosklerotik plağın rüptürüdür. Akut koroner sendromlardan sorumlu trombüslerin yaklaşık % 75' i plak yırtılmasıyla açığa çıkan trombojenik plak içeriğinin kanla temasıyla meydana gelir (17). Trombüsün sağlamlaşmasında ve trombolitiklere karşı daha dirençli olmasında fibrin önemli rol üstlenir. Dolayısıyla meydana gelen koroner trombüsün gelişiminde trombositler ve fibrin yer alır (52). Trombosit tıkaçının oluşmasıyla eş zamanlı olarak plazma koagülasyon sistemi aktive olur ve koagülasyon sisteminin son ürünü olan F13 fibrin monomerleri arasındaki bağı güçlendirerek fibrininin daha dirençli hale gelmesine neden olur. Bu nedenle F13, KAH ve AKS oluşmasında, fibrinolitik tedavinin başarısında önemli role sahiptir.

Faktör 13 gen polimorfizminin KAH ve koagülasyon anormallikleriyle ilişkili olduğu klinik ve epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir (53-58). Faktör 13' le ilgili birçok gen polimorfizmi tanımlanmıştır (59, 60). Daha önceki çalışmalarda en sık F13-A Val34L gen polimorfizminin görüldüğü bildirilmiştir. Faktör 13 A subunitindeki değişiklikler F13'ün plazma seviyesini ve aktivitesini

etkileyebilmektedir. Lösin varyantı F13' ün transglutaminaz aktivitesini değiştirmekte; daha yüksek enzim aktivitesine neden olmaktadır (27). Faktör 13 için heterozigot taşıyıcı olanlarda orta derecede enzim aktivitesinin olduğu bilinmektedir. Lösin 34 varyantının MI riskini artırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (28). Faktör 13' ün plazmadaki yüksekliği yeterli miktarda plazmin oluşumunu engelleyerek daha rijit yapıda fibrin oluşumuna neden olmakta; bu durum fibrinin fibrinolitik etkilere karşı daha dirençli olmasıyla sonuçlanmaktadır. Daha önce yapılan akut MI' da reperfüzyon ile F13 V34L polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada Lösin 34 alleleline sahip kişilerde fibrinolitik tedavi etkinliğini azaldığı gösterilmiştir (61). Bu etkilerinden dolayı F13 gen polimorfizminin tespiti klinik açıdan önemli olabilir.

Faktör 13-A V34L gen polimorfizmi değişik toplumlarda araştırılmış ve bu gen polimorfizmin toplumlar arasında büyük farklılık gösterdiği saptanmıştır. Lösin 34 allel sıklığı batı toplumlarında daha yüksek oranda bulunmaktadır. Lösin insidansı İngiltere'de % 51, Amerika'da % 45, İtalya'da % 43, Macaristan'da % 45.1 Fransa'da % 50.2, Brezilya'da 28.9, Japon toplumunda ise %0-2.5 arasında bulunmuştur (25,62-68). Faktör 13 polimorfizmi etnik ve bölgesel farklılık göstermesine rağmen bölgemizdeki KAH' a sahip hastalarda F13 genetik polimorfizm sıklığı bilinmemekteydi. Çalışmamızın sonuçlarına göre tüm hasta popülasyonumuzda normal F13 genotipi % 85.2, heterozigot genotip % 13.6 ve homozigot genotip % 1.2 hastada görüldü. Daha önce Türk toplumunda yapılan bir çalışmada F13 gen polimorfizmi sıklığı bizim çalışmamızla benzer şekilde bulunmuştur (20).

Faktör 13 V34L genotipinin ateroskleroz ve AKS gelişimi arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar olmasına rağmen etnik ve bölgesel büyük farklılıklar göstermesinden dolayı F 13 V34L gen polimorfizminin klinik etkileri de farklılık gösterebilmektedir (69). Hasta gruplarımız arasında F13 polimorfizmi sıklığına baktığımızda SAP, USAP ve akut MI' lı hastalar arasında polimorfizm sıklığı açısından fark yoktu. Stabil anginalı hastaların %82' si, USAP' lı hastaların %84' ünde ve akut MI' lı hastaların % 78' i F13 için normal genetik yapıya sahipti. Plazma F13 düzeyinin en yüksek olduğu düşünülen polimorfizm olan F13

homozigot genotipi USAP ve akut MI' lı hastalarda bulunmazken SAP' lı sadece bir hastada tespit edildi. Stabil anginanın ve AKS' nin farklı patofizyolojik mekanizmalarla ortaya çıktığını göz önünde bulundurarak iki grup arasındaki genetik farklılığı incelediğimizde AKS tanısı olan hastaların % 19'unda, SAP' lı hastaların % 13'ünde faktör 13 heterozigot yapıdaydı. Heterozigot genotip AKS grubunda daha yüksek olmasına rağmen farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızdaki hasta sayısının sınırlı olması bu farkın anlamlılık kazanmamasının nedeni olabilir. Faktör 13 V34L gen polimorfizmi olan hastalarda sistemik inflamatuvar markerlerin daha yüksek olduğu gösterilmiş, polimorfizme bağlı interlökin-6 ve doku faktörü gibi inflamatuvar ürünlerin artışının AKS gelişiminde rol oynayabileceği bildirilmiştir (70). Daha önceki çalışmalarda KAH grupları arasındaki F13 genetik farklılığını araştırılmış ancak bu çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur. Lösin 34 polimorfizm sıklığını MI' lı hastalarda araştıran bir çalışmada, akut MI grubundaki hastalarda polimorfizm sıklığı %16 kontrol grubunda % 27 oranında bulunmuş ve Lösin geninin MI için koruyucu bir faktör olabileceği, risk azalmasının olası nedeninin Lösin 34 enzim aktivitesinin trombin aktivitesini etkilemesi sonucu olabileceği ifade edilmiştir (71,72). Faktör 13 gen polimorfizminin MI riskini düşürdüğü ve intrakranial kanama riskini artırdığını gösteren çalışmaların yanı sıra (72-75), Lösin 34 alleli ile MI arasında herhangi bir ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (76,77). Faktör 13 Lösin polimorfizmi olanlarda daha yüksek F13 aktivitesinin bulunduğu ve yüksek F13 aktivitesinin daha rigid fibrin oluşumu ve fibrinojen gibi plak rüptürünü artıran inflamatuvar sitokinlerin artışı ile ilişkili olduğu düşünüldüğünde Lösin polimorfizmine sahip kişilerde kardiyoprotektif etkinin görülebileceği düşüncesinin patofizyolojik izahı tam olarak yapılamamaktadır. Balogh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada F13 V34L polimorfizminin venöz trombus için koruyucu bir faktör olmadığı; üstelik bazı faktörlerin varlığında F13 V34L polimorfizminin akut MI için bir risk faktörü olabileceği bildirilmiştir Bu çalışmada F13 alleli protrombin 20210 alleli ile birlikte olduğunda sinerjik etki ile MI riskinin 12 kat artabileceği belirtilmiştir (21). Bununla birlikte Akdeniz popülasyonunda yapılan bir çalışmada F13 Lösin polimorfizminin kardiyoprotektif etkisinin olmadığı gibi Lösin/Lösin homozigot olanlarda 35 yaşından önce MI geçirme riskinin artabileceği gösterilmiştir (78). Çalışmamızın sonuçları bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı olamamakla birlikte F13 34 Lösin gen polimorfizminin AKS gelişimi ile ilişkili bir risk faktörü olabileceğini düşünüyoruz.

Daha önceki çalışmalara benzer şekilde AKS' li hastalarda Lösin polimorfizminin ve normal genotipe sahip hastalarda ateroskleroz şiddetinin daha fazla olması, Lösin polimorfizmine sahip kişilerde aterosklerotik plak rüptürüne bağlı AKS kliniğinin daha erken geliştiğini düşündürmektedir.

Diabetes mellitus, HT sigara gibi klasik risk faktörleri değişik mekanizmalarla aterosklerotik süreci ve aterosklerotik lezyonların angiografik görünümü etkileyebilmektedir. Özellikle sigara içimi DM hikayesi olanlarda angiografik olarak görülen ateroskleroz şiddeti daha fazla olmaktadır. Hemostasla ilgili genetik faktörler KAH için risk faktörü olarak kabul edilmesine rağmen bu faktörlerin KAH' daki angiografik sonuçları nasıl etkilediği bilinmemektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre F13' ün Wild tip polimorfizme sahip olan hastalarda hastalıklı damar sayısı, Extent skoru ve morfolojik olarak tip C lezyon sayısı daha fazla bulundu. Çalışmamızdaki hastalarda herhangi bir stenotik lezyonun bulunduğu damarı, hastalıklı damar olarak kabul ettiğimizden dolayı hem Extent skoru hem de hastalıklı damar sayısı bize aterosklerozun erken dönemi hakkında bilgi verebileceği düşünülebilir. Faktör 13'ün teorik olarak aterosklerotik sürecin son safhasında aterosklerotik plağın rüptüründen sonra trombüsün rijit hale gelmesinde rol oynadığı düşünüldüğünde F13 gen polimorfizmiyle Extent skoru ve hastalıklı damar sayısı arasında ilişki tespit etmemiz daha önceden bildirilmeyen ilginç bir sonuçtur. Aterosklerotik plak rüptürünün ateroskleroz şiddetinden bağımsız olabileceği ve aterosklerozun erken safhalarında bile plak rüptürünün olabileceği göz önünde bulundurulduğunda; Lösin polimorfizmine sahip hastalarda koagülasyon aktivitesinin artmasından dolayı aterosklerozun erken dönemde plak rüptürünün olması ve fibrinolizise dirençli pıhtının oluşması olası bir sonuçtur. Roldan ve arkadaşlarının yaptıkları hastalıklı damar sayısı ile ateroskleroz şiddetinin değerlendirildiği bir çalışmada F13 gen polimorfizmiyle ateroskleroz şiddeti arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (78). Çalışmamızın sonuçlarına göre F13 V34V polimorfizmine sahip hastalarda aterosklerotik plakların daha stabil olduğunu, KAH kliniğinin aterosklerozun daha geç dönemlerinde ortaya çıktığını, bu nedenle

bu polimorfizme sahip olan hastalardaki aterosklerozun, L6sin polimorfizmi olan hastalara g6re daha Őiddetli olabileceğini d6Őunmekteyiz. Bu bulgu plak b6y6kl6Đ6n6n ya da darlık Şiddetinin plak hassasiyetini belirlemediğini bir g6stergesi olarak da kabul edilebilir.

Çalışmamızda sıklığını ve aterosklerozla ilişkisini incelediğimiz diğer genetik yapı PAI-1 gen polimorfizmidir. Daha 6nceki çalışmalarda en sık g6r6len PAI-1 gen polimorfizminin 4G/5G polimorfizmi olduğu g6sterilmiŐtir. Çalışma grubumuzda en sık 4G/5G gen polimorfizmi tespit ettik. Hastaların % 60' ında 4G/5G, % 27' sinde 5G/5G, % 13' 6nde 4G/4G gen polimorfizmi saptandı.

Plazminojen aktivat6r inhibit6r6-1 gen polimorfizminin KAH grupları arasındaki sıklığını incelediğimizde 4G/5G polimorfizmi MI grubunda % 73.7, SAP' lı hastalarda % 43.8' di. Stabil angina pektoris ve MI' ın geliŐmesindeki patofizyolojik mekanizmaların farklı olmasından dolayı çalışmamızdaki hastaları SAP ve AKS olarak gruplara ayırıp PAI-1 gen polimorfizminin gruplar arasında dağılımını incelediğimizde; 4G/5G genotipi olan hastaların % 75.9' u AKS' li % 24.1 SAP' lıydı. Akut koroner sendromlu hastalarda 4G/5G polimorfizminin daha fazla olması 4G/5G polimorfizmi olan hastaların çoğunda AKS tanısının olması AKS ile 4G/5G polimorfizmi arasında ilişki olabileceğini d6Ő6nd6rmektedir. Plazminojen aktivat6r inhibit6r6-1 ile KAH arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda oldukça farklı sonuçların elde edilmiştir. Az sayıda hastanın dahil edildiği bir çalışmada 4G alleli ve 4G/4G polimorfizmi AKS gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (79). Bazı çalışmalarda ise PAI-1 genotipinin t6m hasta grubunda ateroma varlığıyla ve y6ksek riskli olgularda ateroma Şiddetiyle ilgili olduğu belirtilmesine rağmen, PAI-1 genotipiyle MI 6yk6s6 arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı g6sterilmiŐtir (80). Bu sonuçlardan farklı olarak 4G/4G polimorfizminin strok geliŐimini ve tromb6s oluşumunu engellediği ve ayrıca bu polimorfizmin kardiyak risk azalmasıyla ilişkili olduğunu g6steren çalışmalar da bulunmaktadır (81). 4G/4G polimorfizminde PAI-1 seviyesinin y6ksek olmasına rağmen strok ve MI için risk azalmasının g6r6lmesi paradoks bir sonuç olarak ifade edilmekte bu durum y6ksek PAI-1' in matriks proteazlarını inhibe ederek, plak stabilitesini artırarak klinik olayları 6nleyebileceği Şeklinde açıklanmaktadır. (81).

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 gen polimorfizminin KAH üzerindeki etkisinin farklılık göstermesinin sebebi PAI-1 geniyle diğer faktörler arasındaki etkileşim olabilir. Faktör V1691 G-A geni, düşük molekül ağırlıklı lipoprotein geni, F V34L geni, insulin, glikoz, proinsulin benzeri moleküller PAI-1 gen ekspresyonunu dolayısı ile plazma PAI-1 seviyesini etkileyerek klinik sonuçları değiştirebilir. Çalışma sonuçlarımıza göre PAI-1 gen polimorfizmi AKS için 1.6 kat risk artışı yapmaktadır. Buna göre KAH'lı hastalarda PAI-1 polimorfizminin saptanması hastada gelişebilecek klinik tablonun öngörülmesi bakımından önemli klinik yarar sağlayabilir. Genetik analiz sonucuna göre yüksek riskli gruplarda olumsuz klinik olayları engellemek için tedavide ve hasta takibinde değişiklik yapılabilir.

Koroner anjiyografi bulgularıyla PAI-1 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırdığımızda 4G/5G polimorfizmi olmayan hastalarda hastalıklı damar sayısı ve Extent skoru daha fazlaydı. Gensini skoru ve kritik lezyon sayısı 5G/5G ve 4G/4G polimorfizmi olan hastalarda daha fazla olmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Literatürde koroner aterosklerozun şiddetiyle PAI-1 gen polimorfizmini arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Boght ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada PAI-1 gen polimorfizmi ile ateroskleroz arasında ilişki tespit edilmemiştir (40). Koroner anjiyografi sonuçları incelenen 2565 hastada 4G/4G polimorfizmi ateroskleroz varlığıyla ilişkili bulunmuştur (80). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 seviyesi aterosklerozla ilişkili bir risk faktörü olması ve genetik yapının plazma PAI-1 düzeylerini etkilemesinden dolayı polimorfizm ile ateroskleroz arasında ilişki olması beklenen bir sonuçtur. Etnik ve bölgesel farklılıklar PAI-1 ile ateroskleroz arasındaki ilişkide belirleyici faktör olabilir. Çalışmamızın sonuçlarına göre 5G/5G ve 4G/4G polimorfizmlerine sahip olan hastalarda ateroskleroz şiddeti ve yaygınlığı daha fazla olma eğilimindedir.

Çalışmamızın en önemli kısıtlayıcısı olan hasta sayısı genetik polimorfizm sıklığının belirlenmesini, bulgularımızın değerlendirilmesini ve yorumlanmasını güçleştirmektedir. Daha çok sayıda hastada yapılacak genetik çalışma toplumumuzda F13 ve PAI-1 gibi hemostatik faktörlerin gen polimorfizmiyle

ateroskleroz ve KAH arasındaki ilişkinin tam olarak ortaya konulmasında yardımcı olacaktır.

Faktör 13 ve PAI-1 plazma düzeylerinin bir çok faktörden etkilenebildiği, genetik polimorfizmin aterosklerozu bu iki faktörün plazma düzeyini değiştirerek etkilediği göz önünde bulundurulursa, hastalarımızdaki F13 ve PAI-1 plazma düzeylerinin ölçülmemesi çalışmamızdaki diğer kısıtlayıcı faktörlerdir

SONUÇLAR

Çalışmamızın sonucunda Faktör 13 gen polimorfizminin bölgemizdeki sıklığı tespit edildi. Faktör 13 Wild tip polimorfizm sıklığı (Valin/Valin) % 85.2, Hasta popülasyonumuzda heterozigot yapı % 13.6 homozigot yapı % 1.2 bulundu.

Wild tip polimorfizm sıklığı SAP, USAP ve akut MI'lı hastalarda benzerdi. Heterozigot polimorfizm akut MI grubunda daha fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Faktör 13 normal genotipe sahip olan hastalarda hastalıklı damar sayısı, Extent skoru, kritik lezyon sayısı ve tip C lezyon daha fazlaydı.

Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 4G/5G polimorfizmi hastaların % 59.3' ünde saptandı. Akut koroner sendromlu hastalarda 4G/5G polimorfizmi stabil anginalı hastalara göre daha yüksekti. Stabil anginası olanlarda 5G/5G polimorfizmi daha fazlaydı.

4G/5G genetik yapısına sahip hastaların % 75.9' unda AKS, % 24.1' inde stabil angina pektoris vardı. 4G/5G polimorfizmine sahip olmanın AKS gelişimi için bir risk faktörü olduğu tespit edildi.

4G/5G genotipine sahip olmayan hastalarda ise ateroskleroz yaygınlığı daha fazlaydı. Aterosklerotik lezyonların morfolojik özellikleriyle PAI-1 polimorfizmi arasında ilişki saptanmadı.

KAYNAKLAR

1. Yusuf S The global problem of cardiovascular disease. *Int J Clin Pract Suppl.* 1998;94:3-6.
2. Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1269-1276
3. Napoli C, Glass CK, Witztum JL, et al. Influence of maternal hypercholesterolemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *Lancet* 1999;354:1234–1241.
4. Dittrich R, Dragonas C, Mueller A, et al. Endothelial Chlamydia pneumoniae infection promotes oxidation of LDL. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004;319:501–505
5. Kaperonis EA, Liapis CD, Kakisis JD, Dimitroulis D, Papavassiliou VG. Inflammation and Chlamydia pneumoniae Infection Correlate with the Severity of Peripheral Arterial Disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;5:509-515
6. Olson RE. Atherogenesis in children: implications for the prevention of atherosclerosis. *Adv Pediatr.* 2000;47:55-78.
7. McGill HC Jr. George Lyman Duff memorial lecture: Persistent problems in the pathogenesis of atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1984;4:443-451
8. Stary HC, Candler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis: A report from the committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1994;89:2462-2478
9. van Oostrom O, Velema E, Schoneveld AH, et al. Age-related changes in plaque composition: a study in patients suffering from carotid artery stenosis. *Cardiovasc Pathol.* 2005;3:126-134.
10. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-671

11. Ross R. Atherosclerosis:An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126
12. Mann J, Davies MJ. Mechanisms of progression in native coronary artery disease:Role of healed plaque disruption. *Heart* 1999;82:265-268
13. Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88:8154-8158.
14. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;94:2493-2503.
15. Davies MJ, Bland JM, Hangartner JRV, et al. Factors influencing the presence or absence of acute coronary artery thrombi in sudden cardiac ischaemic death. *Eur Heart J* 1989;10:203-208
16. Davies MJ, Thomas A. Thrombosis and acute coronary artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med* 1984;310:1137-1140
17. Falk E. Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronarythrombosis: *Br Heart J* 1983;50:127-134
18. Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaque. *Circulation* 1997;95:594-599
19. Taniguchi M, Ayabe T, Ashida T, Fujimoto Y, Kohgo Y. Genetic and phenotypic polymorphisms of the A subunit of Coagulation factor XIII in Japanese population. *Biochem Genet.* 2002;9-10:339-349.
20. Diz-Kucukkaya R, Hancer VS, Inanc M ve ark. Factor XIII Val34Leu polymorphism does not contribute to the prevention of thrombotic complications in patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2004;1:32-35.
21. Balogh I, Szoke G, Karpati L, et al. Val34Leu polymorphism of plasma factor XIII: biochemistry and epidemiology in familial thrombophilia. *Blood.* 2000;7:2479-2486.
22. Aslam S, Poon MC, Yee VC, Bowen DJ, Standen GR. Factor XIII A Calgary: a candidate missense mutation (Leu667Pro) in the beta barrel 2 domain of the factor XIII A subunit. *Br J Haematol.* 1995;2:452-457.

23. Suzuki K, Henke J, Iwata M, et al. Novel polymorphisms and haplotypes in the human coagulation factor XIII A-subunit gene. *Hum Genet.* 1996;98:393-395.
24. Mikkola H, Syrjala M, Rasi V, et al. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. *Blood.* 1994;84:517-525.
25. Heng CK, Lal S, Saha N, Low PS, Kamboh MI. The impact of factor XIIIa V34L polymorphism on plasma factor XIII activity in the Chinese and Asian Indians from Singapore. *Hum Genet.* 2004;114:186-191.
26. Anwar R, Gallivan L, Edmonds SD, Markham AF. Genotype/phenotype correlations for coagulation factor XIII: specific normal polymorphisms are associated with high or low factor XIII specific activity. *Blood.* 1999;93:897-905.
27. Kangsadalampai S, Board PG. The Val34Leu polymorphism in the A subunit of coagulation factor XIII contributes to the large normal range in activity and demonstrates that the activation peptide plays a role in catalytic activity. *Blood.* 1998;92:2766-2770.
28. Marin F, Gonzalez-Conejero R, Lee KW, et al. A pharmacogenetic effect of factor XIII valine 34 leucine polymorphism on fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:25-29.
29. Irigoyen JP, Munoz-Canoves P, Montero L, Koziczak M, Nagamine Y. The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci.* 1999;56:104-132.
30. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92:1851-1855.
31. Lahlou-Laforet K, Alhenc-Gelas M, Pornin M, et al. Relation of depressive mood to plasminogen activator inhibitor, tissue plasminogen activator, and fibrinogen levels in patients with versus without coronary heart disease. *Am J Cardiol.* 2006;97:1287-1291.
32. Lijnen HR. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *J Thromb Haemost.* 2005;3:35-45.

33. Hamsten A, Wiman B, de Faire U, Blombäck M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985;313:1557-1563.
34. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, et al. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation*. 1996;94:2057-2063.
35. Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S. Genetic variation at the plasminogen activator-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb* 1991;11:183-190.
36. Klinger KW, Winqvist R, Riccio A, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21.3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:8548-8552.
37. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993;268:10739-10745.
38. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:1851-1855.
39. Ossei-Gerning N, Mansfield MW, Stickland MH, Wilson IJ, Grant PJ. Plasminogen activator inhibitor-1 promoter 4G/5G genotype and plasma levels in relation to a history of myocardial infarction in patients characterized by coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:33-37.
40. Ter Bogt NC, Hoekstra T, Roest M, Van De Vijver LP, Verhoef P. The 4G-allele of the PAI-1 gene is not consistently associated with a higher prevalence of coronary stenosis. *J Thromb Haemost*. 2004;9:1668-1670.
41. Gensini GG, Kelly AE. Incidence and progression of coronary artery disease. *Arch Intern Med* 1972;129:814-823
42. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51:606-607.

43. Sullivan DR, Marwick TH, Freedman SB. A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors. *Am Heart J* 1990;119:1262–12627.
44. Zaacks SM, Allen JE, Calvin JE, et al. Value of The American College of Cardiology/American Heart Association Stenosis Morphology Classification for Coronary Interventions in the Late 1990s *Am J Cardiol* 1998;82:43–49
45. Markis JE, Joffe CD, Cohn PF, et al. Clinical significance of coronary arterial ectasia. *Am J Cardiol.* 1976;37:217-222.
46. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:1215.
47. Mikkola H, Syrjala M, Rasi V, et al. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. *Blood.* 1994;84:517-525.
48. Endler G, Funk M, Haering D, et al. Is the factor XIII 34Val/Leu polymorphism a protective factor for cerebrovascular disease? *Br J Haematol.* 2003;120:310-314.
49. Misra A. Risk factors for atherosclerosis in young individuals. *J Cardiovasc Risk.* 2000;7:215-229.
50. Mehta JL, Saldeen TG, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:1217-1225.
51. Nordlie MA, Wold LE, Kloner RA. Genetic contributors toward increased risk for ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;39:667-679.
52. Renner W, Koppel H, Hoffmann C, et al. Prothrombin G20210A, factor V Leiden, and factor XIII Val34Leu: common mutations of blood coagulation factors and deep vein thrombosis in Austria. *Thromb Res.* 2000;99:35-39.
53. Barbosa HC, Carvalho EC, Barini R, et al. Tyr204Phe and Val34Leu polymorphisms in two Brazilian ethnic groups and in patients with recurrent miscarriages. *Fertil Steril.* 2004;82:1455-1457.
54. Eshghi P, Abolghasemi H, Sanei-Moghaddam E, et al. Factor XIII deficiency in south-east Iran. *Haemophilia.* 2004;10:470-472.

55. Renner W, Brodmann M, Pabst E, Stanger O, Wascher TC, Pilger E, The V34L polymorphism of factor XIII and peripheral arterial disease. *Int Angiol.* 2002 ;21:53-57.
56. Aleksic N, Ahn C, Wang YW, Juneja H, et al. Factor XIII Val34Leu polymorphism does not predict risk of coronary heart disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:348-352.
57. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Iniesta JA, Rivera J, Martinez C, Vicente V. The FXIII Val34Leu polymorphism in venous and arterial thromboembolism. *Haematologica.* 2000;85:293-297.
58. Hefler L, Jirecek S, Heim K, et al. Genetic polymorphisms associated with thrombophilia and vascular disease in women with unexplained late intrauterine fetal death: a multicenter study. *J Soc Gynecol Investig.* 2004;11:42-44.
59. Wartiovaara U, Perola M, Mikkola H, et al. A. Association of FXIII Val34Leu with decreased risk of myocardial infarction in Finnish males. *Atherosclerosis.* 1999;142:295-300.
60. Kobbervig C, Williams E. FXIII polymorphisms, fibrin clot structure and thrombotic risk. *Biophys Chem.* 2004;112:223-228.
61. Marin F, Gonzalez-Conejero R, Lee KW, et al. A pharmacogenetic effect of factor XIII valine 34 leucine polymorphism on fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:25-29.
62. Komitopoulou A, Platokouki H, Kapsimali Z, Pergantou H, Adamtziki E, Aronis S. Mutations and Polymorphisms in Genes Affecting Hemostasis Proteins and Homocysteine Metabolism in Children with Arterial Ischemic Stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2006;22:13-20.
63. Reiner AP, Frank MB, Schwartz SM, et al. Coagulation factor XIII polymorphisms and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women. *Br J Haematol* 2002;116:376–382.
64. Gemmati D, Serino ML, Ongaro A, et al. A Common Mutation in the Gene for Coagulation Factor XIII-A (Val34Leu): A Risk Factor for Primary Intracerebral Hemorrhage Is Protective Against Atherothrombotic Diseases. *Am J Hematol* 2001;67:183–188.

65. Catto AJ, Kohler HP, Coore J, Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. *Blood* 1999;93:906–908.
66. Wartiovaara U, Perola M, Mikkola H, et al. Association of factor XIIIVal34Leu with decreased risk of myocardial infarction in Finnish males. *Atherosclerosis* 1999;142:295–300.
67. Attie-Castro FA, Zago MA, Lavinha J, et al. Ethnic heterogeneity of the factor XIIIVal34Leu polymorphism. *Thromb Haemost* 2000;86:601– 603.
68. Cho K, Kim B, Kim M, Shin B. No association of factor XIIIVal34Leu polymorphism with primary intracerebral hemorrhage and healthy controls in Korean population. *J Korean Med Sci* 2002;17:249–253.
69. Attie-Castro FA, Zago MA, Lavinha J, et al. Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism. *Thromb Haemost*. 2000;84:601-603.
70. Marin F, Corral J, Roldan V, et al. Factor XIII Val34Leu polymorphism modulates the prothrombotic and inflammatory state associated with atrial fibrillation. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;37:699-704
71. Kakko S, Elo T, Tapanainen JM, Huikuri HV, Savolainen MJ. Polymorphisms of genes affecting thrombosis and risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*. 2002;32:643-648.
72. Franco RF, Pazin-Filho A, Tavella MH, et al. Factor XIII val34leu and the risk of myocardial infarction. *Haematologica*. 2000;85:67-71.
73. Kohler HP, Stickland MH, Ossei-Gerning N, et al. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction. *Thromb Haemost*. 1998 ;79:8-13.
74. Catto AJ, Kohler HP, Bannan S, Stickland M, Carter A, Grant PJ. Factor XIII Val 34 Leu: a novel association with primary intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 1998;29:813-816.
75. Hancer VS, Diz-Kucukkayca R, Bilge AK, et al. The association between factor XIII Val34Leu polymorphism and early myocardial infarction. *Circ J*. 2006;70:239-242.
76. Canavy I, Henry M, Morange PE (2000) Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the south of France. *Thromb Haemost* 2000;83:212–216

77. Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Italian Study Group (2003) No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. *Circulation* 2003;107:1117–1122
78. Roldan V, Corral J, Marin F, et al. Role of factor XIII Val34Leu polymorphism in patients <45 years of age with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003;91:1242–1245.
79. Iwai N, Shimoike H, Nakamura Y, et al. The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor gene is associated with the time course of progression to acute coronary syndromes. *Atherosclerosis* 1998;136:109-114.
80. Gardemann A, Lohre J, Katz N, et al. The 4G/4G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. *Thromb Haemost.* 1999;82:1121-1126.
81. Hoekstra T, Geleijnse JM, Kluft C, et al. Schouten EG. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduced risk of stroke in elderly. *Stroke.* 2003;34:2822-2828.

TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Nihat Kalay' a ait "KORONER ARTER HASTALIĞINDA FAKTÖR 13 VE PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖRÜ-1 GEN POLİMORFİZMİNİN KLİNİK VE ANGIOGRAFIK BULGULARLA İLİŞKİSİ" adlı çalışma, jürimiz tarafından Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza

Başkan.....İmza

Üye.....İmza

Üye.....İmza

Üye.....İmza

Üye.....İmza