



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA FAKTÖR V,  
PROTROMBİN, FAKTÖR XIII,  $\beta$ -FİBRİNOJEN, PAI-1,  
HPA-1, MTHFR, ACE, APO-B ve APO-E GEN  
MUTASYONLARININ SIKLIĞI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gülşah DURMUŞ**

Samsun  
Temmuz-2016





ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA FAKTÖR V,  
PROTROMBİN, FAKTÖR XIII,  $\beta$ -FİBRİNOJEN, PAI-1,  
HPA-1, MTHFR, ACE, APO-B ve APO-E GEN  
MUTASYONLARININ SIKLIĞI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gülşah DURMUŞ**

**Danışman  
Prof. Dr. Nurten KARA  
II. Danışman  
Doç.Dr. Nevin KARAKUŞ**

**Samsun  
Temmuz-2016**

## **TEŐEKKÖR**

Tez çalıŐmalarımı yÖrÖttÖğÖm zorlu yolculukta bana olan gÖven ve inançlarını asla yitirmeden bÖyÖk bir sabırla bana yol gÖsteren ve ufkumu geliŐtiren değeri danışman hocalarım Prof. Dr. Nurten KARA ve Doç.Dr. Nevin Karakuş ve çalıŐmam boyunca desteklerini esirgemeyen aileme teŐekkÖr ederim.

Bu alıŐma Ondokuz Mayıs Öniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından PYO.TIP.1904.12.001 kodlu proje ile desteklenmiştir.



## ÖZET

### KORONER ARTER HASTALARINDA FAKTÖR V, PROTROMBİN, FAKTÖR XIII, Beta-FİBRİNOJEN, PAI-1, HPA1, MTHFR, ACE, APO-B ve APO-E GEN MUTASYONLARININ SIKLIĞI

**Amaç:** Koroner arter hastalarında *FV*, *Protrombin*, *Faktör XIII*, *Beta-Fibrinojen*, *PAI-1*, *HPA1*, *MTHFR*, *ACE*, *ApoB* ve *ApoE* gen mutasyonlarının sıklığının belirlenmesidir.

**Materyal ve Metot:** Bu çalışma 52 koroner arter hastası ve 39 sağlıklı kontrol üzerinde gerçekleştirildi. Kan örneklerinden DNA izolasyonunu takiben ilgili genlerin mutant bölgelerini içeren PZR ürünlerine biotinle işaretli proplarla hibridizasyon yapılmıştır.

**Bulgular:** *MTHFR A1298C* mutasyonu için AA: AC+CC genotipleri, *ACE I/D* mutasyonu için DD: II+ID genotipleri hasta ve kontroller arasında karşılaştırıldığında sırasıyla mutant genotipler ve KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır [ $p=0,06$ , %95, OR=0,205 (0,0421-1,001)] ve [ $p=0,89$ , OR= 1,089 (0,346-3,42)]. Çalışılan diğer genlerden *FVL*, *FV1299H/A*, *Protrombin*, *Faktör XIII*, *Beta Fibrinojen*, *HPA-1*'de homozigot mutant genotipler gözlenmemiştir. *PAI-1* ve *MTHFR C677T* genlerinde ise tüm genotipler gözlenmiştir. Bu sekiz gen için hasta ve kontroller arasında yüzde dağılımları açısından farklılık vardır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bileşik genotipler oranı ikili genotip *ACE ID* ve *MTHFR A1298C* %56, üçlü genotip *PAI-1*, *MTHFR A1298C* ve *ACE ID* %53, dördü genotip *PAI-1*, *MTHFR A1298C*, *HPA-1*, *ACE ID* %33'dür. Bileşik genotip taşıyan KAH hastalarında kolesterol, tıkanık damar sayısı ve sigara kullanımının yüksek oranda olduğu saptanmıştır.

**Sonuç:** İncelenen genlere ait gözlenen mutasyonların hasta ve kontrollerde yüzde dağılımları açısından farklılık gözlenmesine rağmen hasta ve kontrol grubunda *ACE* ve *MTHFR* geni hariç sayısal eşleşme olmadığı için anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak bileşik genotiplerin gözlendiği hasta grubunda, mutant genotipler ve çevresel faktörlerin kümülatif etkisi, KAH için tetikleyici olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Ateroskleroz; gen mutasyonu; koroner arter hastalığı

Gülşah DURMUŞ, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Temmuz-2016

**ABSTRACT**  
**FREQUENCY OF GENE MUTATIONS FACTOR V, PROTHROMBIN,  
FACTOR XIII, BETA-FIBRINOGEN, PAI-1, HPA1, ACE, APO-B AND APO-E  
IN CORONARY ARTERY PATIENTS**

**Aim:** In the coronary artery patients is determined the frequency of gene mutations *FV*, *prothrombin*, *factor XIII*, *beta-fibrinogen*, *PAI-1*, *HPA1*, *MTHFR*, *ACE*, *ApoB* and *ApoE*.

**Material and Method:** This study was performed on with 52 coronary artery patients and 39 healthy controls. DNA isolation was performed from blood samples, and hybridization was performed with biotin marked probes to PCR products that containing the mutant genes of related region.

**Results:** AA: AC + CC genotypes for *MTHFR A1298C* mutation and DD: II+ID genotypes for ACE mutations were compared with patients and healthy controls and no correlation was found between the mutant genotypes and CAD, respectively [p=0.06, %95, OR=0.205 (0.0421-1.001)] and [p=0.89, OR= 1.089 (0.346-3.42)]. Homozygous mutant genotypes weren't observed for the other genes that *FVL*, *FV1299H/A*, *Prothrombin*, *Factor XIII*, *Beta Fibrinogen* and *HPA-1*. Also, all the genotypes were observed in *PAI-1* and *MTHFR C677T* gene. There are differences in the percentage distribution between patients and controls for the eight genes but not statistically significant. The rate of compound genotypes that dual genotype *ACE ID* and *MTHFR A1298C* is 56%, triple genotype *PAI-1*, *MTHFR A1298C* and *ACE ID* is 53%, four genotypes of *PAI-1*, *MTHFR A1298C*, *HPA-1* and *ACE ID* is 33%. High cholesterol, the number of clogged arteries and smoking rates is high in CAD patients with compound genotypes.

**Conclusion:** There were differences in percentace distrubition for the studied gene mutations of patients and controls but a significant correlation could not be found in the patient and control groups because of the numerical match except, *ACE* and *MTHFR A1298C*. Cumulative effects of the mutant genotype and environmental factors may be trigger for CAD in group of patients with the combined genotype.

**Keywords:** Atherosclerosis; coronary artery disease; gene mutation

**Gülşah DURMUS, Master Thesis**  
**Ondokuz Mayıs University - Samsun, July-2016**

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>5,10- metil THE</b>	:5,10 metil tetrahidrofolat
<b>5,10- metilen THE</b>	:5,10 metilen tetrahidrofolat
<b>A</b>	:Adenin
<b>ACE</b>	:Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
<b>Ala</b>	:Alanin
<b>APC</b>	:Aktif Protein C
<b>APO B</b>	:Apolipoprotein B
<b>Apo E</b>	:Apolipoprotein E
<b>Arg</b>	:Arjinin
<b>BKİ</b>	:Beden Kitle İndeksi
<b>Cys</b>	:Sistein
<b>DM</b>	:Diabetes Mellitus
<b>ECTİM</b>	:Etude Cas Temoinde Infarctus du Myocardec
<b>FVL</b>	:Faktör V Leiden
<b>G</b>	:Guanin
<b>Gln</b>	:Glutamin
<b>Gly</b>	:Glisin
<b>HDL</b>	:Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>HDL-K</b>	:Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
<b>His</b>	:Histidin
<b>HMG-KoA</b>	:Hidroksi Metil Glutaril- Koenzim A
<b>IDL</b>	:Orta Yoğunluklu Lipoprotein
<b>KAH</b>	:Koroner Arter Hastalığı
<b>KDH</b>	:Kalp Damar Hastalıkları
<b>LDL</b>	:Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
<b>LDL-K</b>	:Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
<b>MI</b>	:Miyokard Enfarktüs
<b>MTHFR</b>	:Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
<b>Non-HDL-C</b>	:Yüksek Olmayan HDL Kolesterol Düzeyi
<b>PAI-1</b>	:Plazminojen Aktivatör İnhibitör -1
<b>PZR</b>	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu

<b>RAS</b>	:Renin Anjiotensin Sistemi
<b>S</b>	:Sitozin
<b>T</b>	:Timin
<b>TEKHARF</b>	:Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
<b>T-Kol</b>	:Total Kolesterol
<b>t-PA</b>	:Doku Plazminojen Aktivatör
<b>Trp</b>	:Tryptofan
<b>Val</b>	:Valin
<b>VLDL</b>	:Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
<b>VTE</b>	:Venöz Tromboembolizm
<b>vWf</b>	:Von Willebrand Faktör



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	v
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vii
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	4
2.1.Koroner Arterlerin Histolojisi.....	4
2.1.1.İntima .....	4
2.1.2.Media .....	4
2.1.3. Adventisya .....	4
2.2.ATEROSKLEROZUN HİSTOPATOLOJİSİ .....	5
2.3.Koroner Arter Risk Faktörleri.....	8
2.3.1.Lipoproteinler .....	8
2.3.2.Diyet.....	12
2.3.3.Hipertansiyon.....	13
2.3.4.Diyabet.....	14
2.3.5. Sigara .....	15
2.3.6.Cinsiyet .....	16
2.3.7.Yaş .....	16
2.3.8.Aile Öyküsü .....	17
2.3.9.Fiziksel İnaktivite .....	17
2.4.KAH'da Genetik Etkenler .....	18
2.4.1.ACE insersiyon/delesyon Mutasyonu.....	19
2.4.2.APO B R3500Q Mutasyonu .....	20
2.4.3.Beta Fibrinojen -455 G>A Mutasyonu .....	22
2.4.4.Faktör XIII Val34Ieu Mutasyonu .....	23
2.4.5.Faktör V Geni His1299Arg Mutasyonu.....	24
2.4.6.FVL Mutasyonu .....	25
2.4.7.HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu .....	27
2.4.8.MTHFR C677T ve A1298C Mutasyonları .....	28
2.4.9.PAI-1 4G/5G Mutasyonu.....	30

2.4.10. Protrombin (Faktör II) G20210A Mutasyonu.....	31
2.4.11. Apo E Mutasyonu .....	32
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>34</b>
3.1. Çalışmada Kullanılan Örnekler .....	34
3.2. Kullanılan cihazlar ve kimyasal maddeler.....	34
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	34
3.2.2. Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler.....	35
3.3. DNA İzolasyonu .....	35
3.4. Gen Bölgelerinin İn Vitro Çoğaltılması: PZR .....	37
3.4.1. Hazırlıklar .....	37
3.4.2. PZR Karışımının Hazırlanması.....	37
3.5. Hibridizasyon.....	38
3.5.1. Hazırlıklar .....	38
3.6. İstatistiksel Değerlendirme .....	42
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>34</b>
4.1. FVL Mutasyonu .....	49
4.2. Faktör V Geni His1299Arg Mutasyonu.....	50
4.3. Protrombin (Faktör II) G20210A Mutasyonu.....	50
4.4. Faktör XIII Val34Leu Mutasyonu .....	51
4.5. Beta-Fibrinojen 455G>A Mutasyonu .....	51
4.6. PAI-1 4G/5G Mutasyonu.....	52
4.7. HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu .....	52
4.8. MTHFR C677T Mutasyonu.....	52
4.9. MTHFR A1298C Mutasyonu .....	53
4.10. ACE I/D Mutasyonu .....	53
4.11. APO B R3500Q Mutasyonu .....	54
4.12. Apo E Mutasyonu .....	54
4.13. Bileşik Genotipli Hastalar.....	55
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>58</b>
5.1. FVL Mutasyonu .....	59
5.2. Faktör His1299Arg Mutasyonu .....	60
5.3. Protrombin (Faktör II) G22210A Mutasyonu.....	61

5.4.Faktör XIII Val34Leu Mutasyonu .....	62
5.5.Beta Fibrinojen 455G>A Mutasyonu .....	63
5.6.PAI-1 4G/5GMutasyonu.....	64
5.7.HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu .....	65
5.8.MTHFR C677T ve A1298C Mutasyonları.....	65
5.9.ACE I/D Mutasyonu .....	68
5.10.Apo-B R3500Q Mutasyonu .....	69
5.11.Apo-E Mutasyonu.....	70
5.12.Bileşik Genotipli Hastalar.....	70
<b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>72</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>73</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>98</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>99</b>

## 1.GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre iskemik kalp hastalıkları ve inme tüm dünyada başta gelen ilk iki ölüm nedenidir. Tüm dünyada Koroner Kalp Hastalıkları, İnme ve diğer kardiyovasküler hastalıklar (KDH) nedeniyle ölenlerin oranı %21,9'dur (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

KDH dünya genelinde, mortalite ve morbiditenin majör nedenidir. Buna göre, çalışmalardan elde edilen sonuçlar, KDH'den ölüm oranının 1990 ve 2020 yılları arasında, %28,9'dan %36,3'e yükseleceğini göstermektedir.

Koroner arter hastalığı (KAH) batı ülkelerinde en sık ölüme sebep olan önemli bir sosyoekonomik problemdir (Munger ve Hawkins, 2004). Ülkemizde de oldukça yüksek bir oranda mortalite ve morbiditeye yol açmaktadır (Onat ve ark., 2001).

KDH, küresel ölçekte başta gelen ölüm sebebi olup, uzun bir süre daha bir numaralı ölüm sebebi olmaya devam edeceği tahmin edilmektedir. KDH nedeniyle oluşan ölümler gelişmiş batılı ülkelerde azalma eğilimi gösterirken gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır. Ancak toplumların yaşlanması ve yaşam süresinde görülen uzama sebebi ile gelişmiş ülkelerde KDH sayısı artmakta ve bunlara bağlı yük ise azalmamaktadır (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

KDH açısından olumlu olan husus büyük ölçüde "önlenebilir" olmalarıdır. Dünya Sağlık Örgütü kan basıncı, obezite, kolesterol ve sigara kullanımının kontrolü ile KDH görülme sıklığının yarıya indirilebileceğini bildirmektedir (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

KDH'nin tedavisi uzun süreli ve maliyetlidir. KDH, bireyleri genellikle orta yaş döneminde etkilemekte, ailelerinin geleceğini güçleştirmekte, böylece ülkelerin gelişimine, en verimli yıllarında bulunan insan kaynaklarından yoksun bırakarak zarar vermektedir (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Kronik hastalıklar ülkemiz açısından da büyük önem taşımaktadır. Türkiye'de kronik hastalıklar ve ölüm nedenlerine ilişkin en geniş çalışma Sağlık Bakanlığınca yapılan Ulusal Hastalık Yüğü Maliyet Etkililik çalışmasıdır. Bu çalışmaya göre Türkiye'de 2000 yılı için hesaplanan toplam 430,459 ölümün 305,467'si (%71) kronik

hastalıklar nedeniyledir (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

KDH ile mücadelede büyük önem taşıyan toplam kardiyovasküler riskin belirlenmesi ve KDH'ye yönelik risklere bütünüyle müdahale edilmesi yaklaşımı önem taşımaktadır. Kardiyovasküler risk faktörleri; yaş ve cinsiyet, birinci derece akrabalarda erken yaşta KDH öyküsü, sigara kullanımı, hareketsiz yaşam, aşırı kilo, hipertansiyon, dislipidemi ve diyabettir. Bu risk faktörleri içinde, aile öyküsü varlığı, yaş ve cinsiyet müdahale alanı içinde değildir. Toplam kardiyovasküler riskin değerlendirilmesi ve azaltılması kalp sağlığını korumanın ana unsurudur. Değiştirilebilir risk faktörlerinin kontrol altına alınması ile KAH ve inmenin %80 oranında engellenebileceği gösterilmiştir (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Gelişen dünyada ateroskleroz, hastalık ve ölümlerin temel nedenidir. Ateroskleroz kolesterol parçacıklarının orta veya büyük çaplı arterlerdeki makrofajlarda birikmesiyle karakterizedir. Bu birikim arter duvarında belli hücre tiplerinin proliferasyonuna neden olarak lümenin daralmasına ve kan akışının engellenmesine sebep olmaktadır. Kan akışının bu lezyon üzerindeki yıkıcı etkileri sonucunda arter duvarının derin kısmındaki komponentler dolaşıma geçip tromboza neden olmaktadır. Kalp ve beyne kan akımının azalmasına bağlı atak ve inmeler meydana gelmektedir. İki organı ilgilendiren bu sendromlar KDH altında toplanmaktadır (Stocker ve Keaney, 2004).

İnsan yaşamının devamlılığı için vücuttaki kan dolaşımını sağlayan kalp, yaşam boyunca hiç ara vermeden çalışır. Kalbin düzenli çalışması koroner arterler tarafından sağlanır. Koroner arterler insan yaşamının her döneminde gelişim gösteren damar tıkanıklığına (ateroskleroza) maruz kalırlar. Koroner arterlerin ateroskleroza sonucu KAH açığa çıkar. Ateroskleroz iki patolojik sorun oluşturur. Birincisi; oluşan plaklar zaman içinde yırtılabilir ve plakların içinden çıkan parçalar akıntıyla gidip daha dar damarları tıkeyabilir (tromboz). İkincisi; plaklar büyüyerek damarın tıkanmasına (stenoz) yol açabilir. Her iki durumda da damar tarafından beslenen organa yetersiz kan gitmiş olur. Sonuçta, miyokardın ihtiyacı olan oksijenin yeterince karşılanamaması sonucu iskemi oluşur. (Lendon ve ark., 1991).

Epidemiyolojik çalışmalarla KAH, kişilik, genetik yapı ve çevre etmenleri ile ilişkilendirilmiştir. 1981'de Hopkins ve Williams, KAH ile ilgili 240 üzerinde risk faktörlerini kapsayan bir liste yayımlamışlardır. Bunlar arasında sigara içimi, yüksek total kolesterol, artmış düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDLK) ve düşük yüksek yoğunluklu Lipoprotein (HDL-K), hipertansiyon, durağan yaşam, obezite ve diyabet yer almaktadır (Eichner ve ark., 2002). Bunun yanı sıra uzun süre araştırılan ve KAH'a neden olan pek çok genetik etmen ortaya konulmuştur (Salazar ve ark., 2000).

Bu çalışmada amacımız, koroner arter hastalarında FVL, Protrombin, Faktör XIII, Beta-Fibrinojen, PAI-1, HPA1, MTHFR, ACE, ApoB ve ApoE gen mutasyonlarının sıklığının belirlenmesidir.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Koroner Arterlerin Histolojisi**

Damar duvarı Tunika İntima, Tunika Media ve Tunika Adventisya adı verilen üç tabakadan oluşur (Şekil 1).

#### **2.1.1.İntima**

Arter duvarında aterosklerotik lezyonların oluştuğu yerdir. Tek sıra endotelial hücre tabakasından oluşur ve düz kas hücrelerini çevreleyen ince bir bağ dokusu ile (bazal lamina) desteklenir. Endotel hücrelerinin yanı sıra düz kas hücreleri, makrofajlar, mast hücreleri ve ekstrasellüler matriks içerir. Vasküler tonusu sağlayan kimyasal maddelerin, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin sentez ve salınımını düzenler. Yaşla birlikte bağ doku miktarı ve düz kas hücre sayısı artar (Sary ve ark., 1992).

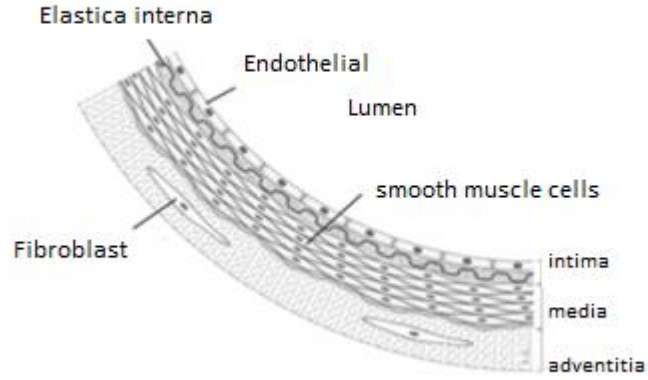
#### **2.1.2.Media**

Arter duvarının en geniş tabakasıdır. Tip 1 ve Tip 3 kollajen lifleri, elastik lifler, glikozaminoglikanlar ve yapısal proteinlerden meydana gelir. İnternal ve eksternal lamina ile çevrilidir, düz kas hücrelerinden oluşur. Elastik arterlerde, düz kas hücrelerinin arasında elastik lifler bulunur. Bunlar arteri, basınç değişikliklerine karşı korur. Yaşlanma ve hipertansiyona bağlı olarak düz kas hücreleri bölünmeden kendi DNA'larını replike ederler. Bu olaya endoreplikasyon adı verilir. Mediada yer alan düz kas hücrelerinin kan dolaşimleri çok iyi değildir. Bu nedenle hücrenin ölümüne kadar giden dejeneratif değişime uğrarlar. Bu yüzden aort gibi büyük kan damarlarında vasa vasorum adı verilen küçük kan damarları bulunur. Damar duvarının en geniş tabakası olan bu tabakanın esas fonksiyonu, damar duvarındaki kontraksiyonu ve dilatasyonu sağlamaktır (Sary ve ark., 1992).

#### **2.1.3. Adventisya**

Bu tabaka damar duvarının en dış tabakasıdır ve kollajen fibriller, elastik fibriller, fibroblastlar, düz kas hücreleri ile sinir hücrelerini içerir. Medianın aksine vasa vasorum ve lenfatik kanallar aracılığıyla oldukça iyi beslenir. Adventisya herhangi bir membranla sınırlanmaksızın, çevre bağ dokusu ile devam eder. Bu tabaka vasa vasorum

da denilen kapiller, venül ve arteriollerle damar duvarının beslenmesini sağlar (Stary ve ark., 1992).

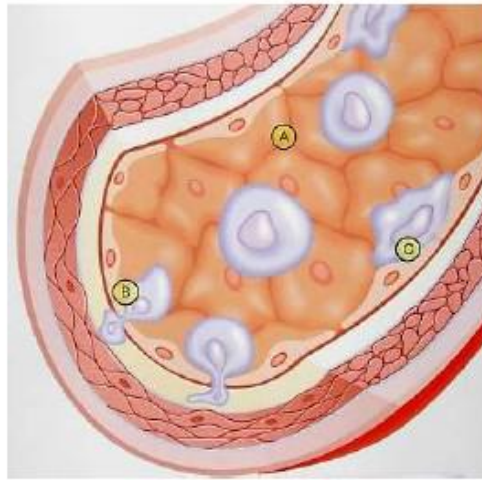


Şekil 1. Koroner arterlerin yapısı (Stary ve ark., 1992)

## 2.2.ATEROSKLEROZUN HİSTOPATOLOJİSİ

Amerikan Kalp Cemiyeti Damar Lezyonları Komitesi lezyonun ilerleme sürecini sekiz değişik safhaya ayıran histolojik sınıflama önermiştir (Stary ve ark., 1995).

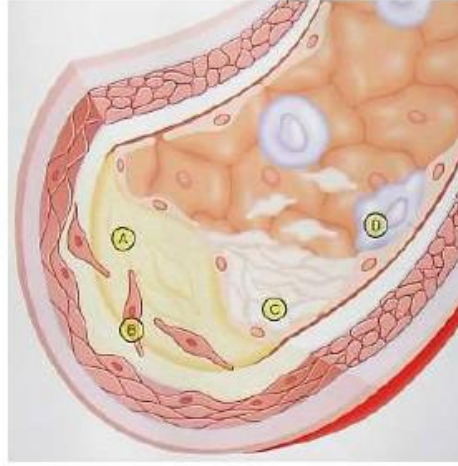
**Tip I** aterosklerozun ilk aşamasıdır. Bu aşamada damar duvarının en iç tabakasındaki endotel hücrelerin vasküler dengelerinin bozulması sonucu lipitler ve monositler damar duvarına geçmeye başlar. Doğumdan hemen sonra bebeklerin yaklaşık yarısında tip I lezyon görülür (Stary ve ark., 1995) (Şekil 2).



Şekil 2. Tip I aterosklerotik lezyonların progresyonu (Stary ve ark., 1995)



**Tip II** lezyonda makrofaj köpük hücreleri daha fazla sayıdadır ve arterlerin iç yüzeyinde sarı, yüzeysel kabarcık çizgi olarak yağlı çizgilenmeler şeklindedirler. Bu lezyonlarda az miktarda T hücreleri, mast hücreleri ve lipitle dolu düz kas hücreleri bulunur. Tip II lezyonlar çocuklarda sık görülür. Tip II lezyonlar ilerlemeye eğilimlidirler. Eğer risk faktörleri devam ederse yıllar sonra kalıcı aterosklerotik lezyonlara dönüşürler (Şekil 3) (Stary ve ark., 1995).



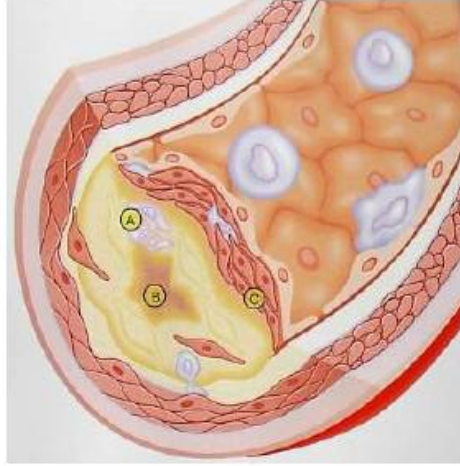
**Şekil 3.** Tip II aterosklerotik lezyonların progresyonu

A- Köpük hücre gelişimi, B- Kas hücreleri göçü,

C- Trombosit adhezyonu ve agregasyonu, D- Lökosit adhezyonu ve girişi (Stary ve ark., 1995)

**Tip III** lezyonda küçük ekstrasellüler lipid depozitlerinin varlığı söz konusudur. Lipidler makrofaj ve T hücrelerinin altında lezyonun en derin bölgelerinde birikir. Lipid depozitleri intimanın hücre organizasyonunu bozar ve ekstrasellüler matriks kompartmanını genişletir (Stary ve ark., 1995).

**Tip IV** lezyonda ekstrasellüler lipid kümeleri biraraya gelerek bir lipid çekirdek oluşturur. Bu lipid çekirdek inflamatuvar hücreler tarafından çevrelenmiş ve ince bir düz kas hücre tabakası ve bağ dokusu tarafından kaplanmıştır (Şekil 4). Tip IV lezyon genellikle yarım ay şeklindedir ve damar duvarı kalınlığını artırır. Bu evrede orjinal lümen çapını korumak için arterde yeniden yapılanma oluşur (Stary ve ark., 1995).



**Şekil 4.** Tip IV aterosklerotik lezyonların progresyonu

A- Makrofaj birikimi, B- Nekrotik çekirdek oluşumu, C- Fibroz tabaka oluşumu (Sary ve ark., 1995)

**Tip V** lezyonda yoğun bağ doku depolanması vardır ve lipid çekirdeği çevreleyen fibröz bir kapsül oluşur. Çekirdeği lümeden ayıran kapsül kısmı plak başlığıdır. Bu lezyonlar çoğunlukla çok büyüktür ve bu nedenle arter duvarında yeniden yapılanma (remodeling) ile kompensasyon gelişemediğinden lümen daralır (Sary ve ark., 1995).

**Tip VI** lezyon çoğunlukla tip V plaklarda gelişen trombozun veya kanamanın komplike ettiği plaklardır. Bu lezyonun gelişmesinin nedeni plak yırtılmasıdır ve subendotelyal fibroz dokuda fissurler, erozyonlar ve ulserasyonlar sık olarak gözlenir (Şekil 5). Akut myokard infarktusu ve kararsız angina gibi klinik olaylar bir kaç istisna dışında tip VI lezyona bağlıdır (Sary ve ark., 1995).



**Şekil 5.** Tip VI aterosklerotik lezyonların progresyonu

A- Plak rüptürü, B- Fibroz plak kalınlaşması, C- Plak kanaması (Sary ve ark., 1995)

**Tip VII** plaklarda yoğun kalsifikasyon vardır.

**Tip VIII** plaklar ise neredeyse tümüyle kollajen ve düz kas hücrelerinden oluşur. Bu lezyonlar tip V ve VI lezyonlara göre daha stabildir. Bu nedenle tip V ve VI lezyonlar tip VIII lezyona dönüştürülebilirse klinik açıdan büyük bir kazanç elde edilmiş olur (Sary ve ark., 1995).

### **2.3.Koroner Arter Risk Faktörleri**

Gelişmiş toplumlarda aterosklerotik kalp hastalıkları, ölümlerin en önemli nedenlerin başında gelmektedir. Etnik gruplar, bölgesel yerleşim, yaşam tarzı, genetik faktörler hastalık popülasyonunu belirli nedenlere doğru çekmiş ve bugün için bu hastalığın gelişmesinde en etkili spesifik risk faktörlerini ortaya koymuştur. KAH'da etiyolojik faktörler birçok kapsamlı çalışmalarla ortaya konmaya çalışılmıştır. Bugün için koroner risk faktörleri adı altında toplanan bu çalışma sonuçlarına göre koroner aterosklerozun gelişmesinde rol oynayan faktörler şunlardır ( Komşuoğlu,1985):

#### **2.3.1.Lipoproteinler**

Yüksek serum total ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol ile düşük serum HDL kolesterol KAH için bağımsız majör risk faktörleridir. Total ve LDL kolesterol düzeyi ne kadar yüksekse aterosklerotik olay görülme riski o kadar yüksektir. Ortalama kolesterol düzeylerinin göreceli olarak yüksek olduğu toplumlarda HDL kolesterol KAH'ı öngören güçlü bir parametredir. Ancak ortalama serum total ve LDL

kolesterol düzeylerinin düşük olduğu toplumlarda bir öngörü olmayabilir. Bu bağlamda düşük HDL kolesterol diğer majör risk faktörlerine (sigara, hipertansiyon, diyabet) benzer. Yani ateroskerozu yüksek LDL düzeyleri söz konusu olduğunda uyandır (Grundy ve ark., 1990).

### **Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol (LDL-K)**

Kolesterol hipoteziyle birlikte LDL-K'nın en aterojenik lipoprotein olduğu bilinmektedir. LDL'nin düşürülmesinin hem KAH riskini düşürmekte hem de KAH morbidite ve mortalitesini, bazı olgularda, total mortaliteyi anlamlı derecede azalttığı ortaya konmuştur (Fuster ve ark., 2002).

Yüksek LDL seviyeleri aterosklerozun tüm evrelerinde rol oynamaktadır (endotel işlev bozukluğu, plak formasyonu ve büyümesi, kararsız plak, plak yırtılması ve tromboz). Plazmada LDL-K seviyesinin yüksek oluşu LDL partiküllerinin arter duvarında birikiminin artmasına, oksidasyonuna ve çeşitli enflamatuvar mediyatörlerin sekresyonuna sebep olmaktadır (Flavahan, 1992).

Kandaki serum lipit düzeyleri ve aterosklerotik kalp hastalığına tutulma oranı arasında belirli bir uyum gözlenmektedir. Özellikle serum lipitleri arasında, kolesterol, trigliserit ve betalipoproteinlerin, plazmadaki yüksekliği ile koroner arterde görülen daralmanın ciddiyeti ve yaygınlığı arasında olumlu bir orantı vardır. Yapılan çalışmalarda, LDL kolesterol düşüşünün koroner ateroskleroz ilerlemesini engellediği ve bazı durumlarda gerileme izlendiği açıkça gösterilmiştir. Ayrıca, Munster Kalp Çalışmasında, şaşırtıcı şekilde yüksek trigliserit ve düşük LDL kombinasyonunda, kişilerde KAH riskinin arttığı saptanmıştır (Cullen ve ark., 1998). Epidemiyolojik araştırmalar, serum kolesterol seviyeleri yüksek olan Amerika ve Finlandiya gibi ülkelerdeki halkın, koroner kalp hastalıklarından ölüm oranının, serum kolesterol düzeyleri düşük olan Japonya ve Afrika gibi ülkelerinin halklarından çok daha yüksek olduğunu göstermektedir (Sonel, 1979).

Farklı popülasyonlarda KAH riski serum total kolesterol (T-Kol) seviyeleri ile pozitif ilişkilidir. T-Kol seviyeleri büyük ölçüde LDL-K seviyeleri ile ilişkilidir. Serum kolesterol seviyeleri ile KAH riski arasındaki ilişki doğrusaldır (Law ve ark., 1994). Düşük total ve LDL-K seviyelerine sahip olan toplumlarda diğer risk faktörleri (sigara içiciliği, hipertansiyon, diyabet v.s) sık olsa bile KAH riski düşüktür (Navab ve ark.,

1996). Bu çalışma LDL-K seviyelerinin birincil risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. Hem birincil hem de ikincil koruma çalışmalarının sonuçları kolesterol düşürücü tedavinin KAH riskini azalttığını göstermiştir (Gordon ve ark., 1989).

Güçlü LDL düşürücü ajanlar olan Hidroksi-Metil Glutaril-Koenzim A (HMG-KoA) redüktaz inhibitörlerinin (statinler) ortaya çıkışı kolesterol hipotezinin daha etkili test edilebilmesine olanak sağlamıştır (Endo, 1992; Grundy, 1988).

1990'lı yıllardan bu yana yapılan birincil ve ikincil korunma çalışmalarında majör koroner olaylarda belirgin bir azalma görülmüştür (Sacks ve ark., 1996; Lipid Study Group, 1998). Bu çalışmaların hiçbirinde kalp dışı mortalitede artış olmamıştır. Bu çalışmalar kolesterol düşürücü tedavinin KAH riskinin azaltılmasında güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca pek çok çalışma LDL seviyelerinde belirgin azalmanın koroner lezyon progresyonunu yavaşlattığını, bazı olgularda ise regresyonu başlattığını saptamıştır (Brown ve ark., 1993; Shepherd ve ark., 1995).

LDL seviyelerinin düşürülmesi ilaç ve ilaç dışı tedaviler ile mümkündür. İlaç dışı tedavinin önemi küçümsenmemelidir. Bunların arasında en önemlileri diyetteki kolesterol yükseltici yağ asitlerinin (doymuş ve trans yağ asitleri) ve kolesterol miktarının azaltılmasıdır (NCEP, 2002). Fazla kilolu kişilerde ideal vücut ağırlığına ulaşılması LDL-K seviyelerini düşürerek KAH riskini azaltmaktadır (NCEP, 2002). Diyetle birlikte yardımcı faktörlerin kullanılması riski azaltabilmektedir. Bitkisel stanollerin günlük 2 gram kullanımı diyetteki kolesterolün ve kolesterol düşürücü yağ asitlerinin azaltılmasından bağımsız olarak LDL-K seviyelerini %10-15 oranında azaltmaktadır. Diyet ile alınan lif oranının artırılması LDL seviyelerini %3-5 oranında düşürür (Van Horn, 1997). Doymamış yağ asitleri LDL-K'yı düşürmekte ve KAH riskini farklı yollardan azaltabilmektedir (Grundy, 1999).

### **HDL-K Düşüklüğü**

HDL-K düzeyi iskemik kalp hastalığını öngören güçlü bir ölçüttür, ancak serum T-Kol ve LDL-K düzeylerinin düşük olduğu toplumlarda belirleyici olmayabilir (Grundy ve ark., 1990). Bu açıdan düşük HDL düzeyi, diğer major risk faktörleri gibi (sigara, hipertansiyon ve Diabetes Mellitus (DM)) koroner ateroskleroza LDL düzeyleri yüksekken uyarır (Grundy ve ark., 1990). Bu durum özellikle T-Kol ve LDL-K yüksekliği orta düzeyde olduğunda (190-250mg/dL ve 115 175mg/dL) geçerlidir. En

küçük lipoprotein olan HDL damar duvarından kolesterolü uzaklaştırarak koruyucu etki yapmaktadır (Wood ve ark., 1998). T-Kol / HDL-K oranı, kolesterole bağlı riski belirlemek için yararlıdır.

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilmiş kanıtlar plazma HDL-K düzeyi ile, KAH riski arasında güçlü bir ters ilişkinin varlığını göstermektedir (Mannien ve ark., 1989; Pocock ve ark., 1989). Bu tersine ilişki hem erkekler hem de kadınlar için geçerlidir (Kültürsay, 2001). 1 mg/dl HDL-K düşmesi KAH riskini %2-3 artırmaktadır (Gordon ve ark., 1989). KAH için düşük (<40 mg/dl) HDL-K seviyelerinin bir risk faktörü, buna karşılık yüksek (>60 mg/dl) HDL-K seviyelerinin ise koruyucu bir unsur olduğu kılavuzlarda vurgulanmıştır (Endo, 1992). Düşük HDL düzeylerine yol açan pek çok faktör vardır. Bunlar arasında çoğu hastada genetik faktörler önem taşımaktadır. Epidemiyolojik çalışmalara ilişkin gözlemler, KAH riskinin belirlenmesinde değişik plazma lipitlerinin bir aradaki etkisini hesaba katmanın önemini ve KAH riskinin önceden kestirilmesinde plazma T-Kol/HDL-K oranının yararını vurgulamaktadır. Normal olarak bu oranın 5'in altında olması istenmekte ve T-Kol düzeyleri 200-250 mg/dl olanlarda girişim gereksiniminin belirlenmesinde özel önem taşımaktadır (Assman ve Schulte, 1992).

Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasının 12 yıllık izlem verileri, erişkinlerimizde ortalama HDL-K değerlerinin batılı toplumlara göre her iki cinsiyette de %20 oranında daha düşük olduğunu göstermektedir. Bunda kalıtsal faktörlerle birlikte, sigara içiciliği, alkollü içki kullanım alışkanlığının azlığı, abdominal şişmanlık, fiziksel aktivite azlığı ile hiperinsülineminin rolü olduğu belirlenmiştir. HDL-K'da 12 mg/dl'lik azalma, toplumumuzda ölümcül ve ölümcül olmayan KAH riskini %36 oranında arttırmaktadır (Onat ve ark., 2003).

Düşük HDL-K düzeyi 40 mg/dl'nin altındaki değerler olarak tanımlanmaktadır (NCEP, 2002). KAH olan ve HDL düzeyi düşük hastalar tekrarlayan olaylar açısından risk altındadır ve yoğun ilaç dışı tedavi uygulanmalıdır (diyet değişiklikleri, kilo kaybı ve egzersiz). HDL-K düzeyi düşük kişilerde tedavinin birinci hedefi LDL-K'dır. İlaç tedavisi ve ilaç dışı tedaviler kullanarak hedeflenen LDL-K düzeyine ulaşılmalıdır. Düşük HDL düzeyi yüksek trigliseritlerle ilişkili olduğunda (200-499 mg/dl), ikinci öncelik hedeflenen HDL dışı kolesterol düzeyine ulaşmak olmalıdır. Ayrıca, trigliserit

200 mg/dl'den düşük ise (yaln düşük HDL-K), HDL düzeyini yükseltecek ilaçlar (fibratlar veya nikotink asit) düşünülebilir. Nikotink asit, fibratlar ve statinler genel olarak HDL düzeyini yükseltmektedir (Gibbons ve ark., 2003).

### **Trigliseritler**

Trigliseridlerle KAH ilişkisi büyük oranda diyabet, obezite, hipertansiyon, yüksek LDL-K ve düşük HDL-K gibi diğer faktörlerle ilişkilidir (Reaven, 1991). Ayrıca, hipertrigliseridemi sıklıkla hemostatik faktörlerle de ilişkili bulunmuştur (Grundy ve Vega, 1992).

Daha önce yapılmış çeşitli çalışmalar hipertrigliserideminin çeşitli aterojenik faktörler ile güçlü bir birliktelik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu faktörler arasında aterojenik dislipidemi (artmış serum trigliseridleri, küçük yoğun LDL partikülleri ve düşük HDL-K'dan oluşan lipit üçlemesi) ve metabolik sendrom sayılabilmektedir. Bu nedenle, hipertrigliseridemili hastaların tedavisine klinik yaklaşım geniş tabanlı bir stratejiyi gerektirmektedir. Böyle bir yaklaşım, aterojenik trigliseridlerden zengin lipoproteinlerin azaltılması, HDL-K, LDL-K ve trigliserit düzeylerinin düzeltilmesi ve metabolik sendromun uygun biçimde tedavi edilmesini kapsamaktadır (Kültürsay, 2001).

### **2.3.2.Diyet**

Total kalori değeri ve yağ miktarı yüksek, özellikle satüre yağ ve kolesterol miktarı yüksek, ağır karbonhidratlı ve tuzlu bir diyetle beslenmenin ateroskleroz insidansında artma yaptığı gösterilmiştir (Komşuoğlu, 1985). Ayrıca, şişmanlık da kan basıncı, serum kolesterol seviyesi ve kan şekerini arttırdığı için KAH için risk faktörüdür.

Morbidite ve mortalite artışı ile ilişkili olan obezite artık bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Obezitenin ilk aşamalarında metabolik ve nöroendokrin değişiklikler söz konusudur. Tedavi edilmediğinde asemptomatik metabolik değişiklikler hipertansiyon, dislipidemi ve diyabet gibi klinik tablolarla karşımıza çıkmaktadır. Obezite ölçütü olarak kullanılan beden kitle indeksi (BKİ) ölçütüyle Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan sınıflamada 18,8-24,9 normal, 25-29,9 kilo fazlalığı, >30 obezite, >40 ileri derecede obezite olarak tanımlanmaktadır. BKİ'deki bir

birimlik artış KAH'ın mortalitesinde %4-5 artışa neden olmaktadır. Obezite genel mortalitede de artışa yol açmaktadır (National Institutes of Health, 1998).

Ülkemizde obezite prevalansı 1990 yılından bu yana hızlı bir artış göstermektedir. 1990 yılı taramalarında obez kişi sayısı erkeklerde 1,5 milyon, kadınlarda 4 milyon civarında iken, bugün yaklaşık 2,63 milyon erkek ve 5,46 milyon kadının şişman olduğu tahmin edilmektedir. Bu da şişman kişi sayısında, kadınlarda %36, erkeklerde %75 oranında bir artışı göstermektedir. Şişmanlığın önlenmesi ile iskemik kalp hastalığından 29,581 ölüm önlenebilecektir. Önlenileceği hesaplanan toplam 57,143 ölüm, tüm ölümlerin %13,3'ünü oluşturmaktadır (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Aterojenik diyet ve fiziksel aktivite azlığının önlenmesi sigara kullanımından sonra ölümün önlenebilir nedenleri olarak düşünülebilir (McGinnis ve Foege, 1993; Pate ve ark., 1995).

### **2.3.3.Hipertansiyon**

Sistemik hipertansiyon kolesterole bağımlı olarak ateroskleroza hızlandırmakla beraber KAH için bağımsız majör bir risk faktörüdür (Grundty ve ark., 1999). Hem yüksek riskli hem de düşük riskli toplumlarda KAH'a bağlı ölümlerin 1,5–2 kat artmasına sebep olur (Kannel, 1996).

Erişkinde sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri olması, diyastolik basıncın 90 mmHg ve üzeri olması hipertansiyon olarak kabul edilir. Yüksek-normal kan basıncı 130-139/85-89 mmHg olarak kabul edilir. Sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri olması fakat diyastolik kan basıncının 90 mmHg'nin altında olması izole sistolik hipertansiyon varlığını ifade eder. Hipertansiyon bütün aterosklerotik kardiyovasküler olayların %35'inden sorumludur. KAH hipertansiflerde normotansiflere göre 2-3 kat daha fazladır (Kannel, 1996). Hipertansiyon kadın ve erkeklerde akut miyokard enfarktüs (MI) riskini 2-3 misli arttırmaktadır. Diyastolik kan basıncında 15 mmHg veya sistolik kan basıncında 25 mmHg'lık yükselme yenileyen enfarktüs riskini sırasıyla %40 ve %37 arttırmaktadır (Wong ve ark, 1989). Bu durum diğer risk faktörlerinden bağımsızdır. Hipertansiyonu olan ve MI geçirenlerde angina pektoris, sessiz iskemi, atriyal fibrilasyon, ventrikül taşikardisi, ventrikül fibrilasyonu, kardiyojenik şok normotansiflere göre daha fazladır.



### 2.3.4.Diyabet

Diyabetik hastalar diyabeti olmayanlara göre iki ile altı kat daha fazla kalp ve damar hastalıklarına yakalanmaktadır. Tip 2 diyabetli hastalarda, kalp ve damar hastalıkları önde gelen komplikasyon ve ölüm sebebidir. En sık görülenler; KAH, serebrovasküler hastalıklar ve periferik damar hastalıklarıdır. Diyabet, tüm dokularda mikroanjyopati oluşturmaktadır. Küçük ve büyük koroner arterlerde, patolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Diyabetli kişilerde daha erken yaşlarda ve daha sık olarak, patolojik ateroskleroza rastlanmaktadır (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Tüm dünyada 2010 yılı için tahmin edilen diyabetli sayısı 285 milyona yükselmiş olup bu rakam bize dünya nüfusunun %6,6'sının diyabetli olduğunu ifade etmektedir. Dahası, bu sayının 2030 yılına kadar 438 milyona yükselmesi beklenmektedir (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Diyabetin ateroskleroza yol açma mekanizmaları, düşük HDL, yüksek trigliserit, artmış lipoprotein kalıntı partikülleri, artmış LDL, yüksek lipoprotein (a) konsantrasyonu, artmış lipoprotein oksidasyonu, LDL glikasyonu, artmış fibrinojen, artmış trombosit agregasyonu, artmış plazminojen aktivatör inhibitörü-1, bozulmuş fibrinoliz, yüksek von Willebrand faktör seviyeleri, hiperinsülinemi ve bozulmuş endotel işlevlerini içermektedir (Haffner ve ark., 1999).

Diyabetin KAH riskini artırdığına dair gözlemsel veriler bulunmasına rağmen, glisemik kontrolün riski azalttığına dair çok az veri mevcuttur (Haffner ve ark., 1999; Andreassi., 2003). Birleşik Krallık İleriye Yönelik Diyabet Çalışması (United Kingdom Prospective Diabetes Study, UKPDS) tip 2 diyabetiklerde sülfonilüreler veya insülin ile yoğun glisemik kontrolü konvansiyonel tedavi ile, komplikasyon riski açısından karşılaştırmıştır. 10 yıllık takip sonrasında mikrovasküler sonlanma noktalarında önemli azalma gözlenirken makrovasküler sonlanma noktalarında azalma saptanmamıştır. Sülfonilüreler veya insülin ile yoğun tedavinin makrovasküler hastalık üzerinde olumsuz etkisi tespit edilmemiştir (UK Prospective Diabetes Study Group,1998).Yoğun glisemik kontrolün makrovasküler sonlanma noktalarını azalttığına dair güçlü kanıtlar

olmamasına rağmen diyabetik hastalarda yoğun lipit kontrolü KAH riskini azaltmaktadır.

### 2.3.5. Sigara

Sigara kullanımı, halk sağlığı bakımından ciddi sonuçları olan küresel bir sorundur. Bütün dünyada sigara ve diğer tütün ürünlerinin üretimi ve tüketimindeki artış, hane halkı ve ulusal sağlık sistemleri üzerine ciddi yükler getirmektedir. Sigara tüketiminin ve sigara dumanına maruz kalmanın ölüme, hastalıklara ve sakatlıklara neden olduğu, yüksek düzeyde bağımlılık yapan tütün ürünlerinin farmakolojik olarak aktif, zehirli ve kanserojen oldukları bilimsel gerçektir. Ülkemizde de sigara içme alışkanlığı yaygın olup, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Türkiye, Avrupa ülkeleri arasında sigara tüketiminde üçüncü sırada, dünya ülkeleri arasında ise yedinci sıradadır. Türkiye genelinde 15 ve daha yukarı yaşta bireylerin %31,3'ü sigara kullanmaktadır. Erkeklerde sigara kullanım oranı %47,9 iken, kadınlarda %15,2'dir. Sigara kullanımının önlenmesi ile kalp-damar hastalıkları kaynaklı önlenebilir ölüm sayısının 21,317 olacağı hesaplanmaktadır ki, bu da tüm ölümlerin %5'idir. Sigara içiciliğinin ateroskleroz oluşumunu artırarak KAH'a neden olma mekanizmaları hakkında pek çok fikir öne sürülmektedir. Bunlardan biri; sigaranın lipid profili üzerine olumsuz etkisidir. Sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında, sigara içenlerde (özellikle günde 25 adetten fazla) HDL kolesterol düzeyleri daha düşük, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Bu parametreler de KAH için risk faktörüdür. Ayrıca sigara kan basıncında da değişikliklere yol açarak KAH'a neden olabilmektedir (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Sigaradaki modifikasyonların ve filtrelerin riski azalttığına dair bir kanıt yoktur (Castelli ve ark., 1981). Aktif sigara içiciliği uzun zamandır bir risk faktörü olup, sigara dumanına çevresel olarak maruz kalma veya pasif içicilik de değiştirilebilir bir risk faktörü olarak saptanmıştır (Fielding ve Phenov, 1988; Glantz ve Parmley., 1995). On sekiz epidemiyolojik çalışma ile yapılan bir meta analizde sigara içmeyen bir insanın sigara dumanına maruz kalmasının KAH riskini %20-30 artırdığı belirtilmiştir (He ve ark., 1999). Sigara içen kişilerde okside LDL de dahil olmak üzere oksidasyon ürünlerinin arttığı bulunmuştur (Frei ve ark., 1991).

Sigara içiciliği HDL'nin kardiyoprotektif etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Bu etkiler, karbonmonoksit ve nikotinin direk etkileri ile birlikte endotel hasarı oluşturmaktadır. Bu mekanizmalar yolu ile sigara içenlerde vasküler reaktivite artmaktadır (Frei ve ark., 1991).

Sigara içiciliği aynı zamanda artmış fibrinojen seviyeleri ve artmış trombosit agregasyonu ile doğrusaldır (Rival ve ark., 1987). Sigara içiminin bırakılması KAH olaylarında düşüşe sebep olmaktadır. Daha önceden sigara içen bir kişinin sigarayı bırakması halinde göreceli riski sigara içmeyen bir kişinin risk seviyelerine bir yıl ya da daha az sürede inmektedir (Gordon ve ark., 1974). 35 yaşında bir kişinin sigarayı kullanmayı bırakması halinde KAH olaylarının azalması ile birlikte yaşam süresinin 3 ile 5 yıl uzadığı tespit edilmiştir (Tsevat ve ark., 1991). MI geçirmiş olan bir hastada tekrarlayan olay riski sigara kullanımının bırakılması ile azalmaktadır. Sigara içmeye devam eden bir kişi ile karşılaştırıldığında tekrarlayan olay riski %50 oranında düşmektedir (Wilhelmsson ve ark., 1975; Hermanson ve ark., 1988).

### **2.3.6.Cinsiyet**

Erkek hastalarda koroner ateroskleroz kadınlara göre daha çok görülür. Kadınlarda ise menapoz döneminden sonra belirgin bir artış gösterir. Bu da kadınlarda, östrojenin ateroskleroza karşı koruyucu etkisi olduğunu düşündürür (Sonel, 1979). Bu cinsiyet belirginliği siyah ırka göre beyazlarda daha da fazla olmaktadır (Komşuoğlu, 1985).

### **2.3.7.Yaş**

KAH insidansı ve prevalansı yaş ile artar, böylece yaş en önemli risk faktörlerinden biri olarak düşünülebilir (Fuster ve ark., 2002).

Aterosklerozun erken lezyonlarının çocukluk çağında ortaya çıkmasına rağmen KAH'dan ölüm oranı ileri yaşlarda artar. Örneğin 40 yaşından 60 yaşına kadar MI insidansında 5 kattan fazla artış vardır. Erkeklerde 45 yaş, kadınlarda 55 yaş üzeri KAH için güçlü bir risk faktörüdür (İliçgin ve ark., 2003).

Avrupa Kardiyoloji Derneği 2003 Hipertansiyon Kılavuzu'nda ise erkeklerde 55 yaş ve üstü, kadınlarda 65 yaş ve üstü risk faktörü olarak alınmaktadır. Çalışmalar

aterosklerozun 10 yaşlarında başlayabileceğini 30-35 yaşın üzerinde ise damar lümenini daraltacak seviyelere kadar ilerleyebileceğini göstermektedir (Komşuoğlu, 1985).

### **2.3.8.Aile Öyküsü**

Aile öyküsü de KAH için önemli bir risk faktörüdür. KAH için en büyük risk birinci derece bir yakında erken yaşta KAH öyküsü olmasıdır. Baba veya diğer birinci derece erkek akrabalarda 55 yaşından önce, anne veya diğer birinci derece kadın akrabalarda 65 yaşından önce erken KAH gelişiminin olması, o kişide ateroskleroz gelişim riskini 1.3-1.6 kat artırmaktadır (Fuster ve ark., 2002; İliçgin ve ark., 2003).

Erken yaşta KAH'a sahip akraba sayısı arttıkça veya ailede KAH'a yakalanma yaşı azaldıkça, aile öyküsüne bağlı risk artar (Rissanen,1979).

### **2.3.9.Fiziksel İnaktivite**

Fiziksel aktivite azlığı (sedanter yaşam tarzı) KAH için önemli, bağımsız bir risk faktörüdür (Lee ve ark., 1995). Egzersiz eksikliğinde harcanan kalori azlığından dolayı şişmanlık gelişmekte, bunun yanı sıra insülin direnci, kan lipid bozuklukları, hipertansiyon gibi risk faktörleri ortaya çıkmakta ve kardiyovasküler fonksiyonel kapasite azalmaktadır. Düzenli fiziksel aktivite ile kilo azalmakta, LDL-K ve trigliserit düzeyleri düşmekte, HDL-K düzeyleri yükselmekte, insüline duyarlılık artmakta, kan basıncı düşmekte, endotele bağlı vazodilatasyon ve fibrinolitik aktivite artmaktadır. Bu olumlu etkiler KAH riskini azaltmaktadır.

Obeziteye neden olduğu bilinen çok sayıda faktör içinde, aşırı ve yanlış beslenme ve fiziksel aktivite yetersizliği en önemli nedenler olarak düşünülmektedir. Düzenli fiziksel aktivite sadece enerji dengesinin düzenlenmesinde değil, obezite ile gelişen sağlık risklerinin ve bu risklere bağlı ölümlerin azaltılmasında da önemli bir role sahiptir. Fiziksel hareket alışkanlığının yeterli düzeyde olması durumunda iskemik kalp hastalığına bağlı 31,519 ölümün önlenilebileceği hesaplanmaktadır (Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

## 2.4.KAH'da Genetik Etkenler

Tek yumurta ikizleri hariç tüm insanlar, DNA'larının içerdiği genetik bilgilerinde küçük fakat önemli farklılıklar taşırlar ki bu farklılıklar herbir bireyi "eşsiz" kılar. Eğer bu varyasyonlar Akdeniz anemisi, ya da fenilketonüri hastalıklarında olduğu gibi doğrudan bir hastalığa yol açıyorsa buna "mutasyon" denir. Mutasyonlar, toplumun %1'inden daha nadir görülen genetik değişikliklerdir. Eğer bir varyasyon toplumun %1'inden daha çoğunda görülüyorsa ve bireyler arasında bir fiziksel farklılık, hastalıklara yatkınlık veya direnç açısından bir farklılık yaratıyorsa buna "polimorfizm" denir. Polimorfizmler doğrudan hastalıklara yol açmazlar. DNA dizilimindeki farklılıkların bir sonucudur. Bir genin değişik biçimlerine alel denir. Kromozomda bulunan genler alel denilen genlerden oluşmuş çiftler halinde bulunur. DNA analizlerine oranla, değişik proteinler üzerindeki çalışmalar daha çok bilgi vericidir. Çünkü polimorfik alellerin ürünü olan proteinler, farklı fenotipleri ortaya koymaktadır. Bu nedenle, çevre ile birey arasındaki ilişkiyi, genetik çeşitliliğin nasıl etkilendiğini bize açıklayan proteinlerdeki bu değişimlerdir. İnsan ABO kan grupları, Rh faktörü ve majör doku uygunluk antijenleri birer polimorfizm örnekleridir (Cargill ve ark., 1999).

KAH, etiyolojik olarak çevresel ve genetik faktörlerin hastalığın oluşumuna her kişi için değişen ağırlıkta rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalıktır (Li ve ark., 2012) Multifaktöriyel kalıtmalı hastalıklar, genetik faktörler ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan hastalıklardır. Mendeliyen kalıtım esaslarına uymayan bu hastalıklarda tekrarlama riskleri tek gen hastalıklarına göre düşük olmakla birlikte değişkenlik gösterir. Kesin tekrarlama risklerini hesaplamak zordur. Bu nedenle de multifaktöriyel hastalıklarda ampirik riskler söz konusudur. Multifaktöriyel bir hastalık saptanmış çocuğa sahip çiftlerin yeni gebeliklerinde tekrarlama riski yaklaşık %5 olarak ifade edilir. Multifaktöriyel hastalıklarda, indeks olgunun 2. derece akrabalarında hastalığın ortaya çıkma riski 1. derece akrabalarından daha düşüktür. Bir ailede hastalığın görüldüğü kişi sayısı arttıkça yeni gebeliklerdeki riskler de yükselmektedir. Multifaktöriyel hastalıklarda hastalığın şiddeti arttıkça tekrarlama riskide artmaktadır (Li ve ark., 2012).

KAH gelişiminde sorumlu olabilecek gen polimorfizmlerinin ve rollerinin saptanması, hastalığın ortaya çıkmadan anahtar metabolik yolların ve patofizyolojinin anlaşılmasında da önemli bir rol alacaktır. Son çalışmalarda gen polimorfizminin

gösterildiği ve KAH ile sonuçlanan kromozomal mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları *Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) insersiyon/delesyon Mutasyonu*, *Apolipoprotein B (APO-B) R3500Q Mutasyonu*, *Beta Fibrinojen 455 G>A Mutasyonu*, *Faktör XIII Val34Leu Mutasyonu*, *Faktör V Geni His1299Arg Mutasyonu*, *Faktör V Geni G1691A (Leiden)(FVL) Mutasyonu*, *HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu*, *Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) C677T ve A1298C Mutasyonu*, *Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1(PAI-1) 4g/5g Mutasyonu*, *Protrombin (Faktör II) G22210A Mutasyonu* ve *Apolipoprotein E (Apo-E) mutasyonudur*.

#### **2.4.1.ACE insersiyon/delesyon Mutasyonu**

KAH'ın genetik temelleri karmaşık bir yapıya sahiptir. Birçok çalışmada bu genetik ilişki araştırılmaya çalışılmıştır. *ACE* insersiyon /delesyon mutasyonu bu çalışılan noktalardan biridir.

*ACE* anjiotensin I'i etkin bir vazokonstriktör olan anjiyotensin II'ye dönüştürüp, vazodilatatör bradikininin yıkımını sağlar. 17 kromozomun uzun kolunda lokalize olan *ACE* geninde (17q23) insersiyon/delesyon olarak tanımlanan mutasyon; varlığı (I alleli) veya yokluğuna (D alleli) göre değişen *ACE* aktivitesi ile ilişkilidir. Homozigot D allelinin varlığı homozigot I allele göre artmış *ACE* aktivitesi ile ilişkilidir (Agerholm-Larsen ve ark., 2000).

Anjiotensin II düz kas hücrelerinin büyümesi, göçü ve monosit/makrofaj aktivasyonunun sağlar. İlâveten *ACE*, aterosklerotik plaktaki makrofaj ve düz kas hücrelerinde yoğun olarak gösterilmiştir (Balkestein ve ark., 2001). Renin Anjiyotensin sistemi (RAS), sol ventikül hipertrofisi, kardiomyopati ve MI'ya sebep olan, kan basıncı artışı, hücrel büyüme neden olduğundan, kardiyovasküler patolojilerde kritik öneme sahiptir (İslam ve ark., 2006).

Plazma *ACE* düzeyleri, belli bir bireyde tekrarlanan ölçümlerde sabit değerlerde saptanmış fakat kişiler arasında büyük farklılıklar gözlenmiştir. Bu gözlem sonucunda, plazma *ACE* düzeylerinin, muhtemelen genetik kökenli kontrol mekanizmaları tarafından düzenlendiği ileri sürülmüştür.

Anjiyotensin II güçlü bir vazokonstriktör madde olup, hipertrofi uyarıcı etkiye sahiptir. *ACE* inhibisyonunun sol kalp yetersizliği olan hastalarda mortaliteyi azalttığı, KAH'ın primer sekonder korumasında etkin olduğu bilinmektedir. Serum ve doku *ACE*

düzeyleleri *ACE* genindeki insersiyon/delesyon (I/D) mutasyonu ile ilişkilidir. Anjiyotensin II düzeyi homozigot D aleline sahip kişilerde (17. kromozomda bulunan *ACE* geninin 16. intronundaki 287 baz çiftinin eksikliği), heterozigot veya homozigot I alelli kişilere göre daha yüksektir. *ACE* gen mutasyonunun KDH üzerine etkileri üzerine çelişkili bildirimler mevcuttur (Cambien ve ark., 1992).

*ACE* gen mutasyonlarının kalp kitlesi ve sol ventrikül hipertrofisi üzerine etkili olduğu ve D/D genotipine sahip bireylerde bu durumların daha fazla olduğu genellikle kabul görmektedir. Türk toplumunda bu konuyla ilgili Tezcan ve ark. (2003) esansiyel hipertansiyonlu hastaları sağlıklı kontrollerle karşılaştırdıkları çalışmalarında, sol ventrikül kitlesinin her üç genotipte de anlamlı derecede farklı olmadığı bulunmuştur. Toplumumuzda bu konuda etnik bir farklılık olabileceği gibi, aradaki fark çalışılan örnek sayısının yetersiz oluşundan kaynaklanıyor olabilir.

#### **2.4.2. *APO B R3500Q* Mutasyonu**

İnsan vücudunun en önemli lipidleri fosfolipidler, kolesterol, trigliseridler ve kolesterol esterleridir. Bu suda çözünmez lipidler apolipoprotein olarak adlandırılan lipidlerin lipoprotein kompleksleri ve daha spesifik proteinler olarak kan yoluyla taşınır. Lipoproteinler arasında LDL'nin %75'i lipid (kolesterol ve kolesterol esterleri) ve %25'i proteindir. LDL, VLDL (Çok düşük yoğunluklu lipoprotein)'nin metabolik ürünüdür. Yüksek LDL düzeyi KDH için bir risk faktörüdür.

*APO B*, LDL'nin ana bileşenidir ve kolesterol homeostazında önemli rol oynar (Herbert ve ark., 1983). LDL reseptörü olarak plazma LDL katabolizmasında ve tanınmasında ligand olarak görev yapar (Brown ve Goldstein., 1984).

Ailevi defektif *APO B*-100 otozomal dominant geçişli bir hiperkolesterolemi nedenidir. *APO B* -100 geninin 3500. kodonunda arjinin yerine glutamin gelmesi ile oluşan değişim (*APO B R3500Q*) LDL'nin karaciğerdeki LDL reseptör bağlama kapasitesindeki azalma ile ilişkilidir (Pullinger ve ark., 1995). Bunun haricinde iki adet nokta mutasyonu daha bildirilmiş olup bunlarda ilki *APO B R3500W* olup 10707 nolu nükleotiddeki sitozin yerine timin gelmesi ile 3500.noktadaki arjinin (arg) triptofanla (trp) değişir. İkincisi (*APO B R3531C*) 10800 nolu nükleotiddeki sitozin yerine timin gelmesi ile 3531. kodonda arg'nin sisteine (cys) değişmesiyle oluşur (Tybjærg-Hansen ve ark., 1998). Genel populasyonda *R3500Q* ve *R3531C*, özellikle beyaz ırkta eşit

sıklığa sahiptir (%0.08). R3500W genotipine ise daha nadir rastlanır ve (Tybjaerg-Hansen ve ark., 1992) hiperkolesterolemik grubu ele aldığımızda ise ırksal farklılıklar olmakla birlikte %1–6 arasında ailevi defektif *APO B* izlenmektedir (Chiodini ve ark., 2003).

Toplam kan kolesterolü özellikle de LDL kolesterolün koroner kalp hastalığının gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir (Kannel ve ark., 1971; Stamler ve ark., 1986; Law ve ark., 1994) .

Apolipoproteinler lipoprotein partiküllerinin önemli bileşenidir. *APO B*'nin çeşitli varyasyonlarının KAH riskini arttırabileceğini düşündüren kanıtlar vardır (Genest ve ark., 1992; Lamarche ve ark., 1996; Walldius ve ark., 2001; Talmud ve ark., 2002). Lipoprotein partikülleri çözünmeyen lipid çekirdeği, etrafını saran tek katlı fosfolipid, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşur. Her sınıf lipoprotein partikülleri ayırtedici apolipoproteinlerle ilişkilidir. Lipoprotein yapısını stabilize etmesinin yanı sıra metabolizmanın düzenlenmesinde de önemli rol oynar.

Bazı apolipoproteinler doku reseptörleri için ligand görevi görürken bazıları dolaşım basamaklarında ya da dokularda rol oynayan enzimleri aktif ya da inaktif eder. Apolipoprotein varyantları bu yolla farklı noktalarda etkilidir ve rollerini anlamak KAH gelişiminde araştırma odağı olmuştur.

*APO B* LDL partiküllerinin LDL reseptörlerine bağlanması için gereklidir. *APO B* içeren partiküllerin artışı aterosjeni oluşumunu tetikler. Düşük yoğunluklu LDL partiküllerinin yüksek yoğunluklu LDL moleküllerine göre daha aterosjenik olduğu düşünülmektedir. Plazmada *APO B* partiküllerinin konsantrasyonu yüksek olmayan HDL kolesterol düzeyi ile ilişkilidir (non-HDL-C) (Ballantyne ve ark., 2001). HDL kardiyovasküler riske karşı koruyucu olarak bilinir, non-HDL-C kan kolesterolünün bir bölümünü yansıtır, ateroprotektif lipoprotein içermez. Bu nedenle, non-HDL-C Ulusal Tedavi Paneli III (National Treatment Panel III) tarafından lipid düşürücü tedavide hedef olarak tanımlanmıştır. Non-HDL-C ölümcül olmayan MI ve angina pectorisi tahmin etmede kullanılmaktadır (Bittner ve ark., 2002). Bununla birlikte *APO B* Non-HDL-C'ye göre daha iyi bir risk belirleyicisidir.

Klinik çalışmalarda yüksek kolesterol ve trigliserit düzeyi (Kannel ve ark., 1971; Carlson ve ark., 1979; Stamler ve ark., 1986; Law ve ark., 1994; Austin ve ark., 1998;



Jeppesen ve ark., 1998; Vogel, 1998; Assmann, 2001 Walldius ve ark., 2001;) ve düşük HDL-K düzeyi (Castelli ve ark., 1981; Walldius ve ark., 2001; Assmann, 2001) artmış KAH ile ilişkilidir.

*APO B* endotel vazodilatör fonksiyonun bağımsız bir belirleyicisi olarak bulunmuştur (Steer ve ark., 2002). Anjiyografik bir çalışmada en az 1 koroner arterinde %60'dan fazla darlık olan KAH'larda yüksek düzey *APO B*, LDL-K, trigliserit ve T-kol ile daha düşük düzey HDL-K tespit edilmiştir (Westerveld ve ark., 1998).

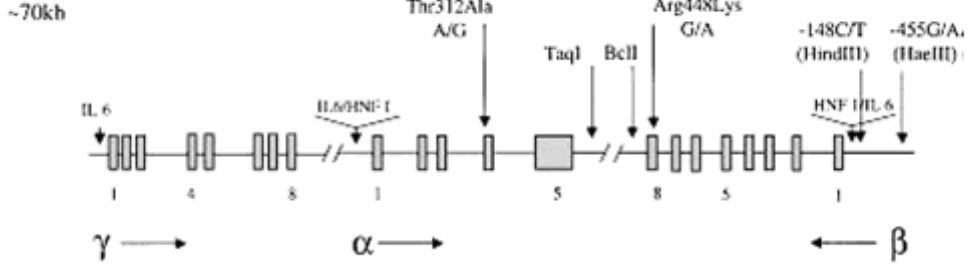
Snehalatha ve ark. (2002) yaptıkları birçok çalışmada *APO B* ve *APO A1*'in daha kesin ve güçlü ilişkisi olduğu bulunmuştur. Hamsten ve ark. (1986)'nın yaptıkları bir çalışmada buldukları ateroskleroz skorunu, yaş, sigara alışkanlığı, vücut ağırlığı ve *APO B* düzeyine bağlamıştır. Diğer lipoprotein varyasyonları, hipertansiyon ve glukoz intoleransları bu tahmine eklenmemiştir. Erkekler üzerinde yapılan bir çalışmada öncelikle koroner bypass cerrahisi ve ileri ateroskleroz tespit edilmiş hastalarda kolesterol düşürücü tedavi uygulanmış ve karotis arter duvar kalınlığı 2 ve 4 yıllık tedaviden sonra ultrason ile ölçülmüştür (Blankenhorn ve ark., 1993). Regresyon analizi, *APO B*'nin azaltılmasının ve HDL-K'nin arttırılmasının arter duvar kalınlığının azalmasını sağladığını göstermiştir (Blankenhorn ve ark., 1993).

#### **2.4.3. Beta Fibrinojen -455 G>A Mutasyonu**

Fibrinojen seviyeleri hem genetik faktörler hem de inflamasyon hastalıkları ve akut faz cevabı gibi çevresel faktörler ile kontrol edilmektedir (Humphries ve ark., 1987). Yükselmiş fibrinojen seviyeleri MI ve felç gibi arteriyal hastalıklar ile ilişkilendirilmektedir (Meade ve ark., 1986; Kannel ve ark., 1987).

Fibrinojen, 4. kromozomun uzun kolunda (4q23-32) lokalize olan ve 3 farklı gen ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) tarafından kodlanan 3 polipeptit zincirin 2 kopyasını içeren bir glikoproteindir (Şekil 7). Bu 3 gende çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır. Bunlar arasında en çok dikkat çeken  $\beta$  zincirinin 3'-UTR bölgesinde Bcl-1 polimorfizmi ve 5' promotor bölgesinde -455. pozisyonda guaninin (G) adenine (A) değişimidir (Dalmon ve ark., 1993; Lane ve Grant, 2000).

## Fibrinojen



Şekil 6. Fibrinojen gen lokusunun organizasyonu (Sperr ve ark., 1998)

Fibrinojen düzeylerindeki değişimlerin yaklaşık %50'sinden genetik faktörlerin sorumlu olduğu belirtilmiştir. Fibrinojenin polipeptit zincirlerinden her üçünü de (alfa, beta, gamma) kodlayan genlerle ilgili polimorfizmler tanımlanmıştır. Beta zincirinin sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olduğu için, çalışmalar daha çok bu gene yoğunlaşmıştır. Bu gende de birkaç mutasyon saptanmıştır, ancak en çok çalışılanı 455GA'dır. Bu mutasyonda 455AA taşıyıcılığının MI ve iskemik inme gelişimi ile doğrudan ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (Voetsch ve Loscalzo, 2004).

Birçok çalışma beta fibrinojen geninin varyasyonlarının KDH şiddetinin artmasıyla bağlantılı olduğunu göstermiştir. Elde edilen bulgulara göre 455AA alleleline sahip bireyler KAH'ın gelişimine daha yatkındır (Scarabin ve ark., 1993; Behague ve ark., 1996). Yine çalışmaların çoğunda 455AA alleli taşıyanlar daha yüksek plazma fibrinojen düzeyine sahiptir. Bu durum büyük pıhtı oluşturur ve böylece arteriyel tromboz riski artar.

### 2.4.4. Faktör XIII Val34Leu Mutasyonu

Koagülasyon *faktörü XIII* normal hemeostaz için gereklidir. Kan pıhtılaşmasının son aşamasında ve fibrinolizin düzenlenmesinde rol oynar. Kan pıhtılaşması boyunca fibrin monomerlerinin çapraz bağlarını katalizleyen transglutaminaz alt biriminden oluşur. Bu çapraz bağlar pıhtı yapısını stabilize eder ve fibrinolitik proteazlar tarafından bozulmaya karşı direnci artırır (Board, 1979; Suzuki ve ark., 1994).

*Faktör XIII* bir transglutaminazdır. İki A ve iki B alt birimlerinden oluşur. Plazmadaki dolaşımı tetramer yapıdadır (A2B2). A alt birimi N-terminal aktivasyon peptidinin trombin ile bölünmesinden sonra transglutaminaz aktivitesi gösterir. Yapılan

çalışmalar A alt biriminin genetik olarak heterojen olduğunu ve bir dizi polimorfizm içerdiğini göstermiştir (Aleksic ve ark., 2002).

*Faktör XIII* geninde bir nokta mutasyon tespit edilmiştir (*FXIII Val34Leu*). Bu mutasyon *Faktör XIII* aktivasyon peptidinin bölünme bölgesinde meydana gelir ve valin (val) aminoasidinin lösin (leu) aminoasidine dönüşmesine sebep olur. Bu mutasyon enzim azlığına ve kanama bozukluğuna neden olmaktadır (Mikkola ve ark., 1994; Mikkola ve ark., 1996; Mikkola ve ark., 1997; Mikkola ve ark., 1997).

*Faktör XIII Leu34* allelinin iki iyi bilinen biyokimyasal etkisi vardır. Trombin ile *Faktör XIII* aktivasyonunu hızlandırır (Ariens ve ark., 2000; Balogh ve ark., 2000; Wartiovaara ve ark., 2000). *Faktör XIII* aktivasyonu *Val34* alleli olması durumunda 2,5 kat daha yüksek orandadır. *Faktör XIII-A Val34Leu* mutasyonu fibrin pıhtı yapısını da etkileyen *Leu34* allel bakımından homozigot bireylerden alınan yüksek fibrinojen konsantrasyonlu plazma örneklerinde pıhtı formu yabanıl tipe göre daha geçirgen ve gevşek yapıdadır (Ariens ve ark., 2000). Buna karşılık fibrinojen konsantrasyonu referans aralığında olan *Leu34* alleli taşıyan homozigotlarda ise pıhtı daha az geçirgen, sıkı yapılı ve daha ince liflidir. Bu iki biyokimyasal yapının hangisinin KAH'da koruyucu etki yaptığı henüz tartışmalıdır. Fibrinojen konsantrasyonunun yüksek olduğu zaman koruyucu etkinin hakim olduğu sanılmaktadır.

#### **2.4.5. Faktör V Geni His1299Arg Mutasyonu**

KDH gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin çoğunda başlıca ölüm nedenidir (Lin ve ark., 1998; Angeline ve ark., 2005). Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) KDH'ye yatkınlığa neden olan risklerin bir kısmını teşkil etmektedir (Reiner ve ark., 2000; Tanira ve Al Balushi, 2005; Otrrock ve ark., 2008; He ve ark., 2010). *Faktör V* genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin KDH'nin gelişmesinde büyük rol oynadığı gösterilmiştir (Major ve ark., 2000; Seligsohn ve Lubetsky, 2001). *Faktör V H1299R*, Faktör V geninin 1299. pozisyonunda histidinin (his) arginine değişmesi sonucu oluşur. *FVL*'ye benzer olarak Aktif protein C (APC) direncine katkıda bulunur (Alhenc-Gelas ve ark., 1999). Aynı zamanda *FVL* ile birlikte venöz tromboz riskini de artırır (Akar ve ark., 1997). VTE (venöz tromboembolizm) vaka ve kontroller arasında R2 allel frekanslarında belirgin farklar tespit edilmiştir. R2 alleli taşıyanlarda risk artmıştır (Ulu ve ark., 2005).

*HR2* haplotip ile derin ven trombozu arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Margaglione ve ark., 2002). Birçok çalışma *HR2* sıklığının etnik gruplar ve farklı populasyonlar arasında değiştiğini göstermiştir. VTE'nin İtalya, Kuveyt, ve Avustralya'da sıklığı, VTE vakalarında %9,5-16,5, sağlıklı kontrollerde %5,8-10,4 olarak belirtilmiştir (Bernardi ve ark., 1997; Castoldi ve ark., 2000; Pecheniuk ve ark., 2001; Margaglione ve ark., 2002; Faioni ve ark., 2004; Jadaon ve Dashti, 2005).

#### **2.4.6.FVL Mutasyonu**

*FVL* mutasyonu APC'ye direncin olduğu kalıtsal bir pıhtılaşma bozukluğudur (Braunwald, 1997). İsviçre'de yapılan bir araştırmada APC direnci olan 50 aileden 47'sinde ve hastaların %90'nından fazlasında *FVL* mutasyonu saptanmıştır. *FVL* homozigot olan hastaların heterozigotlara göre daha şiddetli etkilendiği görülmüştür (Zöller ve ark., 1994).

*FVL* mutasyonu penetransı azalmış otozomal dominant kalıtım gösterir. Mutasyonu taşıyan tüm bireylerde sağlık problemleri görülmeyebilir. Homozigotların ve heterozigotların %10'unun yaşamları süresince VTE geçirme riski vardır (Schutt ve ark., 2000).

FV geni 10. ekzonda bir nokta mutasyonunun (G1691A) meydana gelmesi ile 1691. sıradaki G bazı yerine A bazı geçer. Bu değişim FV proteininin aminoasit diziliminde kendini gösterir ve 506. sıradaki arg'nin Glutamin'e (gln) dönüşmesine sebep olur. 1994'de Bertina ve ark tarafından tanımlanan bu mutasyon *FVL* ya da FV Q506 olarak tanındığı gibi R506Q ya da G1691A şeklinde de tanımlanmaktadır. FV'de oluşan bu mutasyon APC tarafından tanınan major proteolitik kesim bölgesini yok eder ve FV, APC'ye karşı dirençli duruma gelir, fakat normal prokoagulant aktiviteye sahiptir. *FVL* normal FV'den 10 kat daha yavaş inaktive olur ve dolaşımında daha uzun süre kalır. Bunun sonucunda protrombin F1+2 fragmanlarında ve diğer aktif koagülasyon belirteçlerinde artış ve koagülasyona yatkınlık durumu ortaya çıkar (Reiner ve ark., 2002).

Bu mutasyonun en yüksek sıklığı Avrupa ve Ortadoğu'da özellikle Anadolu'da görülmektedir. Anadolu, Asya ve Avrupa arasında bir köprü konumundadır. Bu da mutasyonun Anadolu'dan dağıldığını düşündürmektedir. Gurgey hipotezinde FV

mutasyonunun Ortadoğu’da geliştiğini ve göçmenler aracılığıyla Azerbaycan, Dağıstan, Türkiye, Hindistan ve Avrupa’ya dağıldığını açıklamıştır (Gurgey ve ark., 1998).

### **Pıhtılaşma mekanizmasındaki rolü:**

APC, FVa ve FVIII’yi inaktive ederek kanın pıhtılaşmasını düzenleyen bir serin proteaz enzimidir. APC, FVa proteinini 679 ve 506. sıradaki arjinin bölgelerinden keserek inaktive eder FVa ilk önce 506 daha sonra 306. aminoasitten kesilerek inaktive olur. Fakat *FVL* mutasyonu sonucunda polipeptid zincirindeki 506. pozisyondaki arg’nin, glisine (gly) dönüşür. Böylece 506’daki kesim engellenmiş olur. Mutant FV 306. aminoasitten kesilmesiyle de inaktive olabilir fakat bu durum yaklaşık on kat daha yavaştır. Böylece Faktör V molekülü proteolitik inaktivasyona dirençli olur. Yani bu defekt sonucunda Faktör V molekülü APC’nin parçalayıcı etkisine karşı dirençli hale gelir ve sonuçta tromboza eğilim artar. Bu durum thrombinin yükselmesine ve aşırı pıhtılaşmaya neden olur, FV prokoagulant olmaya devam eder. *FVL* heterozigot bireylerde tromboz riski 5-10 kat homozigot bireylerde ise risk 50-100 kat artar. APC’ye dirençli normal bireylerdeki insidansı %3-5, tromboz öyküsü olan hastalarda %50 civarındadır (Zöller ve ark., 1994; Ulutin ve ark., 2000).

### ***FVL* mutasyonu ile ilişkili hastalıklar**

*FVL* mutasyonu taşıyan bireylerde VTE, periferal vasküler hastalıklar, felç, pulmoner embolizm görülme riski artmakta aynı zamanda tekrarlayan düşük, ikinci ve üçüncü trimester gebelik kayıpları, preeklampsi, plasental abrusyon, intrauterin gelişme geriliğine de neden olmaktadır. Zöller ve ark (1994) *FVL* için normal kişilerin %8’inin, heterozigot bireylerin %20’sinin ve homozigot mutantların %40’ının 33 yaşından önce VTE geçirdiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle yüksek risk grubundaki bireylerin taranması oldukça önem taşımaktadır. *FVL* mutasyonu sadece yetişkinlerde değil çocuklarda hatta yenidoğanda da trombozlara sebep olmaktadır. Gurgey ve ark. (1996) trombozlu yenidoğanların %31’inde heterozigot *FVL* mutasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Tromboz etiyojisi olarak *FVL* mutasyonunun saptanması bireyin birinci derece akrabalarının taranmasına ve henüz tromboz oluşmadan mutasyonu taşıyıp taşımadıklarının saptanmasına (predictif diagnosis) olanak sağlayacaktır. Mutasyonu homozigot olarak taşıyan kişinin tüm çocukları en azından heterozigot olacaktır. Homozigot bireyin eşinin heterozigot olması durumunda çocukları %50

olasılıkla homozigot, %50 olasılıkla da heterozigot olacaktır. Dolayısıyla homozigot bireylerin saptanması çocuklarının tromboz riskini belirlemesi açısından önemlidir. Yapılan çalışmaların bazılarında MI geçiren hastalarda *FVL* mutasyonu kontrol gurubu ile aynı bulunmamıştır (Inbal ve ark., 1999; Wu ve Tsongalis, 2001; Reiner ve ark., 2002; Dönmez ve ark., 2004), ancak Rosendal ile Segev ve ark 50 yaşın altında kalp krizi geçiren kişilerle *FVL* mutasyonunu arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlar ve *FVL* mutasyonu taşıyan ve sigara içen genç bayanlarda başka risk faktörü olmasa bile kalp krizi riskinin 30 kat daha fazla olduğunu bildirilmişlerdir. (Rosendaal ve ark., 1997; Segev ve ark., 2005). Bayra ve ark (2005) serebrovasküler trombozlu hastalarda da *FVL* mutasyonunu yüksek sıklıkta bulmuşlar ve tromboz riskini arttırdığını bildirmişlerdir.

#### **2.4.7.HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu**

Trombositler kanda bulunan küçük (1,5-3,3µm), çekirdeksiz hücreler olup ilk defa 1882 yılında Bizzozero tarafından tespit edilmişlerdir. Trombositler, kemik iliği kök hücrelerinden farklılaşan megakaryositler tarafından üretilirler. Trombositlerin temel amacı kanın pıhtılaşmasını sağlamaktır. Trombositler hemostazı sağlaması için Adhezyon, Aktivasyon ve Sekresyon, Agregasyon aşamalarından geçmek durumundadır.

Adhezyon, temel olarak hasara uğramış damarın endotel altında bulunan kollajene trombositlerin yapışması işlemidir. Bu etkileşimin 2 önemli üyesi vardır: 1.Von Willebrand Faktör (vWF), 2.Trombosit hücre zarında bulunan glikoproteinlerdir. vWF, endotel hücreleri ve megakaryositler tarafından sentezlenir. Dolaşımda iken faktör VIII'e, hemostaz durumunda ise endotel altındaki kollajen ile trombosit arasındaki bağlantıyı sağlamlaştırmak için trombosit zarındaki glikoproteinlere bağlı bulunur. Adhezyonda görev alan bu glikoproteinler içerisinde en önemlileri GPIIIa (HPA-1), GPIb (HPA-2), GPIIb (HPA-3) ve GPIa (HPA-5)'dir (Sperr ve ark., 1998).

*Glikoprotein IIIa*, 33. aminoasitde yaygın leu/pro mutasyonu proteinin HPA 1a/1b olarak adlandırılan allo-antijen sisteminin moleküler temelini oluşturur. Bu mutasyon exon 2'de, *glikoprotein IIIa* geninin 1565 pozisyonunda sitozin (C) bazının timin (T) bazına değişimine neden olur (Weiss ve ark., 1996; Sartori ve ark.,2001).

*Glikoprotein IIIa L33P* mutasyonu erken yaşta akut koroner olaylara, MI ve inmeye yakınlıkla ilişkilendirilmektedir (Slowik ve ark., 2004). Erkeklerde geniş damar hastalığı felç için bağımsız bir risk faktörüdür (Slowik ve ark., 2004).

#### **2.4.8.MTHFR C677T ve A1298C Mutasyonları**

MTHFR geninde görülen bazı mutasyonlar, enzimde inaktivasyona sebep olur. Bu durum kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan hiperhomosisteinemi ve homosisteinüri oluşmasına neden olur (Daly ve ark., 1999; Homberger ve ark., 2000; Stern ve ark., 2000).

Açlık plazma homosistein düzeyinin yüksek oluşu KAH ve diğer vasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür (Clarke ve ark., 1991, Stampfer ve ark., 1992; Boushey ve ark., 1995). Bireylerdeki homosistein düzeyi varyasyonları folat, vitamin B6 ve B12 alımı gibi beslenme alışkanlıklarından etkilenmektedir (Motulsky, 1996). Homosistein metabolizmasındaki önemli koenzimlerden olan vitaminlerin azlığı plazma homosistein düzeyini yükseltmektedir.

Plazmadaki homosistein düzeylerinin iki ana belirleyicisi genetik ve çevresel faktörlerdir (Boushey ve ark., 1995; Motulsky, 1996). Çevresel faktörlerden en önemlisi beslenme alışkanlıkları, B vitaminleri ve folat içeren gıdaların tüketimidir. Genetik olarak ise homosistein düzeyini belirleyen iki ana etmenden biri *MTHFR* genotipidir.

*MTHFR*, folat metabolizmasında önemli bir enzimdir. İnsan *MTHFR* geni, kromozom 1p36.3'de lokalize olmuştur ve 656 aminoasitten oluşan *MTHFR* enzimini kodlar (Rosenblatt, 2001). *MTHFR*, 5,10 metilentetrahidrofolatı (5,10-metilen THF) irreversible olarak 5-metil tetrahidrofolata (5- metil THF) dönüştürür. 5-metil THF; DNA metilasyonu ve metiyonin sentezi için metil grubu sağlar. 5,10- metilen THF ise deoksiüridilatın timidilata dönüşümünde kullanılırken bir taraftan da pürin sentezi için 10-formil THF'a okside olmaktadır. *MTHFR* geninde meydana gelen bir mutasyon (en yaygın olanı *C677T* mutasyonu) enzim aktivitesini azaltmaktadır. Azalan *MTHFR* aktivitesi sonucunda 5- metil THF düzeyi azalmakta, 5,10- metilen THF miktarı ile plazma homosistein düzeyi artmaktadır (Bagley ve Jakob, 1998; Weisberg ve ark., 1998; Daly ve ark., 1999; Homberger ve ark., 2000; Kim, 2000; Stern ve ark., 2000; Rosenblatt, 2001; Bailey ve ark., 2002).

*MTHFR*'nin *C677T* mutasyonunun, KDH, inme, nöral tüp defektleri, Down sendromu, meme ve endometrial kanser gibi hastalıklarda bir risk faktörü olduğu açıklanmıştır (Kang ve ark., 1991; Schneider ve ark., 1998; Bova ve ark., 1999). *MTHFR C677T* mutasyonunda, *MTHFR* enzimini kodlayan gende 677. nükleotid olan C 'in →T' ye değişimi sonucu ortaya çıkan bir nokta mutasyonu vardır. Bu mutasyon, genin ürünü olan proteinin 226. pozisyonunda Alanin'in (Ala) yerine Valin'in (Val) geçmesine neden olur. *MTHFR*'nin *C677T* mutasyonunda, CC (Ala/Ala) homozigot normal, CT (Ala/Val) heterozigot ve TT (Val/Val) homozigot mutant genotipler görülmektedir (Molloy ve ark., 1997; Stern ve ark., 2000;). *MTHFR* aktivitesi, homozigot mutant TT genotipinde, heterozigot CT ve homozigot normal CC genotiplerine göre azalırken, homosistein seviyesi önemli oranda yükselir (Schmitz ve ark., 1996; Lievers ve ark., 2001; Bailey ve ark., 2002).

Daha önce yapılan çalışmalarda, *MTHFR* genindeki bu mutasyonun KAH gelişimi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Morita ve ark., 1997). Bu mutasyonun KAH gelişimine katkısı toplumlar arasında farklılıklar göstermektedir (Bocksmeer ve ark., 1997). Özellikle folat düzeyi düşük toplumlarda bu genotipin daha büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

Bir meta analiz çalışmasında *C677T* mutasyonu için TT homozigot olan sağlıklı bireyler CC genotipi taşıyanlara göre %16 daha yüksek KAH riskine sahip olduğu açıklanmıştır (Klerk ve ark., 2002).

*MTHFR* geninde belirlenen başka bir mutasyon da, enzimi kodlayan genin 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan A'nın C'ye değişimi sonucu, *MTHFR* proteinindeki Gln'nin→ Ala'ya değişimine neden olan nokta mutasyonudur ve enzimin karboksil ucu regülatör bölgesinde etkilidir (Sibani ve ark., 2000). Bu mutasyonda da diğer mutasyon tipinde olduğu gibi *MTHFR* aktivitesi azalır (Botto ve Yang, 2000; Koçak ve ark., 2009).

*A1298C* ve *C677T* mutasyonlarının birlikte heterozigot olduğu durumda, *MTHFR* enzim aktivitesi, her iki allelin normal homozigot olduğu durumdaki enzim aktivitesinin %50-60'ı kadardır. Bu aktivite, *C677T* heterozigot bireylerinin enzim aktivitesinden daha düşüktür. *MTHFR 677T/1298C* heterozigot durumunun birlikte



bulunduğu bireylerde, nöral tüp defektlerinde önemli bir artış olduğu ileri sürülmüştür (Dinger ve ark., 2000; Kim, 2000; Peng ve ark., 2001).

#### **2.4.9.PAI-1 4G/5G Mutasyonu**

*PAI-1* endojen fibrinoliz aktivitesini belirleyen anahtar bir düzenleyici faktördür. *PAI-1*'in yüksek plazma konsantrasyonu ya da aktivitesi, ateroskleroz ve tromboz hastalıkları için bir belirteçtir.

Plazminojen aktivatör sistem, doku-plazminojen aktivatör (t-PA) ve *PAI-1*'i de içeren farklı protein ve enzimlerden oluşur. Plazmin fibrinolitik sistem ve fibrin pıhtısının eritilmesinde esas enzimdir. Plazminin plazminojene dönüşümü t-PA tarafından katalize edilir ve *PAI-1* ile inhibe edilir. Bu nedenle yüksek *PAI-1* aktivitesi fibrinolitik sistem aktivitesinin düşmesine neden olur. Ayrıca yüksek *PAI-1* aktivitesi ateroskleroz, tromboembolik hastalıklar ve inme ile de ilişkilidir. *PAI-1*, fibrinolitik kaskadı sınırlayıcı önemli bir moleküldür. KAH, arteriyel serebral iskemiler ve periferik arter hastalıkları gibi arteriyel hastalıklar ve derin ven trombozu, pulmoner tromboemboli gibi tromboembolik venöz hastalıklarda etkili olduğu düşünölen iyi tanımlanmış bir faktördür (Huber, 2001).

*PAI-1* plazma seviyeleri büyük oranda genetik olarak belirlenmektedir (Festa ve ark., 2003). Son dönemde *PAI-1* geninin promotor bölgesindeki polimorfizmlerin keşfedilmesi tromboz için risk faktörü olarak *PAI-1*'e olan ilginin artmasına sebep olmuştur. *PAI-1* düzeyinin plazmadaki artışı MI oluşumuna neden olur (Eriksson ve ark., 1995; Zorio ve ark., 2008). Bozulmuş fibrinolitik fonksiyon da KAH ile ilişkilidir.

*PAI-1* geninin promotor bölgesinde (-675 4G/5G) meydana gelen insersiyon ya da delesyon tespit edilmiştir (transkripsiyon başlangıcında 675 baz çifti önce) (Nauck ve ark., 1999). 4G/4G delesyonlu homozigot bireylerde yüksek *PAI-1* plazma düzeyi bulunur.5G/5G taşıyıcılarda *PAI-1* plazma düzeyi azalmış, 4G/5G heterozigot taşıyıcılarda ise ara seviyededir (Nauck ve ark., 1999; Rallidis ve ark., 2010). Transkripsiyonun yapılacağı promotor bölgeye bağlanma yetersizliği 4G alleliyle ilişkilidir. Bu allel yüksek *PAI-1* mRNA ekspresyonuna ve dolaşımında yüksek *PAI-1* düzeyine neden olur (Ye ve ark., 2006).

Plazma *PAI-1* düzeyini; yaş, cinsiyet, obezite, hipertansiyon, sigara kullanımı, hiperkolesterolemi ve genetik polimorfizmler etkileyebilir (Visanji ve ark., 2000).

Plazma *PAI-1* düzeyindeki artış, fibrinolitik sisteme zarar verebilir ve fibrin pıhtısının daimi olmasını sağlayabilir. Bu nedenle bu polimorfizm KAH hastalığının tanısında fibrinolitik sistemin performansını değerlendirmek için uygun olabilir.

*PAI-1* geninde Hind III restriksiyon enzimi ile tanımlanan fragmanda (CA) tekrar dizilerinin VLDL, Lipoprotein a ve insüline cevap olarak gelişen *PAI-1* sentezini etkilediği gösterilmiştir. Her iki polimorfizme bağlı olarak uyarıcılara karşı artmış bir cevap gelişmektedir (Dawson ve ark., 1991). 5' uçta tanımlanan bağlanma bölgesinde transkripsiyon başlatıcı bölgenin 4G/5G mutasyonu ise *PAI-1* seviyelerini direkt olarak etkilemektedir. 5G allel hem transkripsiyon faktörüne hem baskılayıcı proteine bağlanırken 4G alleli sadece transkripsiyon faktörüne bağlanır ancak baskılayıcı proteini bağlamaz. Bu nedenle 4G alleli için homozigot olan bireylerde daha yüksek *PAI-1* düzeyleri gözlenir (Eriksson ve ark., 1995; Ossei-Gerning ve ark., 1997; Hoffstedt ve ark., 2002).

#### **2.4.10. Protrombin (Faktör II) G20210A Mutasyonu**

İnsanda protrombin (pıhtılaşma faktörü II) karaciğerde sentezlenen vitamin-K bağımlı bir proteindir. Protrombin aktivasyonu FVa, fosfolipidler ve kalsiyum varlığında yaklaşık 300.000 kez hızlanan trombin özellikle fibrinojeni fibrine dönüştürmek gibi homeostazda önemli roller oynar. Buna ek olarak trombin ayrıca trombosit membranına bağlanır ve bu sebeple trombosit aktivasyonu ve agregasyonunda rol oynayabilir. Protrombin genindeki *G20210A* varyantı plazma protrombin düzeyinin artmasını ve buna bağlı olarak venöz ve arteriyel tromboz riskinin artmasını sağlar (Poort ve ark., 1996).

Ölümcül KAH riski yüksek olan bireylerde aşırı trombin üretimi belirtilmiştir (Miller ve ark., 1996). *20210A* varyantına bağlı yüksek protrombin düzeyinin arter hastalığı riski oluşturabileceği biyolojik olarak öngörülmektedir. Bazı raporlarda, bu mutasyonun özellikle diğer bazı risklerle birlikte bulunması durumunda MI riskinin de artacağı belirtilmiştir (Rosendaal ve ark., 1997; Watzke ve ark., 1997; De Stefano ve ark., 1998; Doggen ve ark., 1998; Franco ve ark., 1999; Gardemann ve ark., 1999).

Poort ve ark. (1996) protrombin geninin 3'-transle edilmeyen bölgesindeki G'nin A'ya yer değiştirmesine sebep olan "*G20210A*" mutasyonu tanımlamışlar ve bunun plazmada artmış protrombin düzeyleri ve tromboza eğilimle ilişkili olduğunu

belirtmişlerdir. Protrombin geni 11. kromozomun sentromere yakın kısmında, 21 kb uzunluğunda, 14 ekzon ve 13 introndan oluşmaktadır. Protrombin FXa/Va kompleksi tarafından 271. ve 320. pozisyonlardan kesilir. Böylece katalitik domain olan “trombin” ve plazma protrombin aktivasyonunun bir belirteci olan “protrombin fragman 1.2” oluşur. Trombin fibrinojenin fibrine dönüşümünü katalizler; FV, VIII, XI, XIII ve trombositleri aktive eder. Ayrıca trombomoduline bağlanarak protein C’yi aktive eder.

#### **2.4.11. Apo E Mutasyonu**

*Apo E* geni, hem sağlıklı hem de hasta kişilerde kardiovasküler etkileri araştırılan ilk genlerden biridir. Lipoprotein metabolizmasını dolayısı ile LDL, *APO B* ve *Apo E* düzeylerini etkilemektedir. *Apo E* şilomikronlar, LDL, VLDL, orta yoğunluklu lipoprotein (IDL), HDL içeren çeşitli lipoprotein sınıflarının yapısal proteindir. Bu lipoproteinler dolaşım sisteminde kolesterol ve trigliserit taşınmasında görevlidir. *Apo E*'nin bu süreçteki fonksiyonu, karaciger ve diğer organlarda lipoproteinlerin yükseltgenmesine yardımcı olarak reseptör için ligand olarak çalışmaktadır (Öztürk, 1999).

*Apo E* geni, insanda 19. kromozomun uzun kolunda (19q-13.2) yer alır ve üç yaygın varyasyonu vardır, sırasıyla *apoE2*, *apoE3* ve *apoE4* protein izoformlarını kodlayan *apoE-e2*, *apoE-e3* ve *apoE-e4* olarak adlandırılan *Apo E* genleridir. İzoformlar nedeniyle bu mutasyon, altı *Apo E* fenotipiyle sonuçlanmaktadır; homozigot E2/2, E3/3, E4/4 ve heterozigot E3/2, E4/2, E4/3. Bu izoformlar, 112 ve 158 pozisyonlarında farklılık gösterir. *Apo E2* 112 ve 158 pozisyonlarında cys’ye, *Apo E3* (en yaygın ve yabani tip) 112 pozisyonunda cys’ye ve 158. pozisyonunda arg’ye, *Apo E4* 112 ve 158 pozisyonlarında arg’ye taşır (Mahley, 1988). *Apo E* içeren lipoproteinlerin, lipoprotein reseptörlerine afinitesi *Apo Ee2*’ den *Apo E-e3* ve *ApoE-e4*’e doğru artar. Allel numarası arttıkça (e2, e3 ve e4) *Apo E* azalır ve plazma kolesterolü, LDL-kolesterol ve *APO B* artar (Poirier ve ark., 1993).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar *Apo E* ile KAH arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu duruma *Apo E*’nin direkt etkisi olabileceği gibi beraberindeki artmış kolesterol ve lipoprotein düzeyleri ile de neden olabilir (Wang ve ark., 1995). Orta yaş erkeklerin dâhil edildiği 9 popülasyonun verilerine göre, E4 taşıyıcılarında E3/E3 genotipi veya E2 taşıyıcılarına göre %40’lık daha fazla KAH riski

gözenmiştir. Başka bir çalışmada ise E4 taşıyıcılığının yaygın koroner lezyonlar ve artmış kardiyovasküler ölüm ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Huang ve ark., 1998). *Apo E*'si defektif farelerde düşük diyet altında bile yüksek VLDL ve artık partikülleri ve artmış aterosklerotik lezyonlar gözlenmiştir (Lenzen ve ark., 1986).



### **3.MATERYAL VE METOD**

#### **3.1.Çalışmada Kullanılan Örnekler**

Bu çalışmada 55 yaş altı koroner arter hastaları incelemeye alınmıştır.Yaşları 32 ile 54 arasında değişen 47 erkek ve 5 kadından oluşan 52 koroner arter hastası ve yaşları 19 ile 60 arasında değişen 24 kadın, 15 erkekten oluşan 39 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 92 kişi incelendi.

Araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulunda 04. 06. 2012 tarih ve 2011/330 nolu karar ile onaylanmış ve OMÜ, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) komisyonu tarafından PYO.TIP.1904.12.001 numaralı proje ile desteklenmiştir. Koroner Arter hastası ve sağlıklı kontrollerin DNA örnekleri periferik kandan standart salting out yöntemi ile saflaştırılmıştır (Miller, 1988). DNA örnekleri üzerinde KDH için risk oluşturan Faktör V, Protrombin, faktör XIII, Beta-Fibrinojen, PAI-1, HPA1, MTHFR, ACE, APO B ve ApoE genlerinin mutant bölgelerine özgün primerler ile polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve biotinle işaretli problemleri içeren striplerin hibridizasyonu yapılarak mutasyon analizi gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.Kullanılan cihazlar ve kimyasal maddeler**

##### **3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Sükroz (Merck)

EDTA (Merck)

Sodyum dodesil sülfat (SDS) (Merck)

Tris (Merck)

NaCl (Merck)

MgCl<sub>2</sub> (Merck)

Triton-X100 (Sigma)

Proteinaz K (Sigma)

Amplifikasyon karışımı A

Amplifikasyon karışımı B

Taq DNA polimeraz

CVD Strip Assay Kiti (Vienna Lab, Vienna, Austria)

Taq dilüsyon buffer

Hibridizasyon buffer

Wash A solüsyonu

Wash B solüsyonu

Cunjugate solüsyonu

### **3.2.2.Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler**

Santrifüj (Sigma 3-15)

Otomatik pipetler (Ependorf, Socorex, Rainin)

Derin dondurucu (Ariston)

Vorteks (Clifton cyclone)

Vorteks (Boeco)

Vorteks (Nüve NM 110)

Nanodrop

Autolipa

### **3.3.DNA İzolasyonu**

Kan örnekleri 5 ml tam kandan standart salting-out yöntemi ile izole edildi. İzole edilen DNA'ların miktar tayini nanodrop cihazı ile OD 260 nm dalga boyunda ölçülerek hesaplandı. Örnekler çalışma solüsyonu için 20 ng/μl olacak şekilde seyreltildi. Örnekler daha sonra çalışılmak üzere -20 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

#### **DNA İzolasyon Yöntemi**

Kan örnekleri, EDTA içeren vakumlu tüplere 10'ar mililitre olarak alındı. DNA ekstraksiyonu için Miller (1988) ve Levinson (1994)'un Salting out yöntemi modifiye edilerek uygulandı.

## I. Gün

- 1) 10 ml EDTA'lı tüm kan 50 ml'lik polipropilen tüpe alındı.
- 2) Kan örneğinin üç katı hacimde (30 ml) lizis tamponu konuldu. Kapağı kapatılıp tüp birkaç kez ters yüz edildi.
- 3) 2200 rpm'de 4°C' de 15 dakika santrifüj yapıldı. Üstteki süpernatant atıldı.
- 4) Lizis tamponu ile yıkama işlemi iki kez daha yapıлып aynı devirde ve sıcaklıkta santrifüj edildi.
- 5) Üstteki süpernatant atıldı. Dipte kalan temiz çökelti üzerine 3 ml TEN tamponu konuldu ve kısa süre vortekslendi. Sonra %10'luk SDS'den 200 µl ve proteinaz K'dan 50 µl ilave edildi ve elle tüpe yumuşak bir şekilde vurularak karıştırıldı.
- 6) Bir gece 37°C' de inkübatörde hafif çalkalamayla inkübe edildi.

## II. Gün

- 7) Ertesi gün örneklerin üzerine 1 ml, 6 M'lık NaCl solüsyonundan konuldu ve 30sn hızlı bir şekilde elle çalkalandı veya kısa bir süre vortekslendi.
- 8) 2600 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- 9) Üstteki süpernatant 15 ml'lik bir tüpe alındı ve tekrar 3300 rpm'de oda sıcaklığında 30 dakika santrifüj edildi.
- 10) Süpernatant başka bir 15 ml'lik tüpe alındı (dipteki çökeltinin süpernatanta karışmamasına dikkat edildi). Çökelti atıldı.
- 11) Süpernatantın iki katı hacminde absolüt etil alkol ilave edilerek DNA çöktürüldü.
- 12) Plastik pastör pipeti ucu ile DNA alındı ve içinde 1 ml %70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüpüne konuldu.
- 13) 10 dakika mikrofüjde santrifüj yapıldıktan sonra üstteki alkol ince uçlu pastör pipeti ile çekilerek atıldı. Dipte çöktürülen DNA, tüplerin ağzı açık bırakılarak 37°C'de etüvde 10 dakika kadar bekletilerek alkol uçuruldu.
- 14) DNA örneği üzerine 200 µl TE tamponu katıldı ve tüplerin ağzı kapatıldıktan sonra 37°C'de etüvde çözünmesi için birkaç saat bırakıldı.

15) DNA örnekleri çözüldükten sonra 10 µl stok DNA örneği, içinde 1 ml distile su bulunan eppendorf tüpün içine alındı. Vorteksledikten sonra spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm’de optik dansite ölçülerek DNA’nın miktarı ve saflığı tayin edildi.

16) Stok DNA örnekleri -20°C’de saklandı.

### 3.4.Gen Bölgelerinin İn Vitro Çoğaltılması: PZR

Bununla ilgili hazır PZR ve reverse-hibridizasyon kiti (Viennalab CVD Strip Assay Kiti) kullanılmıştır. Kitler, PZR ve reverse-hibridizasyon için gerekli tüm primerler ve solüsyonları içermektedir (Tablo 1).

**Tablo 1.** CVD Strip Assay için PZR ve hibridizasyon solusyonları

Lysis Solüsyon (50ml)	DNAT (1,5ml)	Conjugate Solüsyon (25ml)
Gen Tract Resin (5ml)	TestStrip (20)	Wash Solüsyon B (80ml)
Amplification Mixi (500µl)	Hibridizasyon Buffer (25ml)	Color Developer (25ml)
Taq Dilüsyon Buffer (500µl)	Wash Solüsyon A (80ml)	Typing Tray

#### 3.4.1.Hazırlıklar

- DNA örnekleri PZR aşamasından önce 98°C’de 10 dakika inkübe edildi.
- Taq Polimeraz Taq Dilüsyon Buffer ile her çalışmada taze olarak hazırlandı.
- Tüm PZR reaktifleri buzdolabında saklandı. PZR reaksiyonu buz üzerinde hazırlandı.
- Thermalcycler’ın ısı dereceleri kitteki protokole göre programlandı.

#### 3.4.2.PZR Karışımının Hazırlanması

*FVL, FV H1299R, Protrombin G20210A, Faktör XIII Val34Leu, Beta-Fibrinojen-455 G>A, PAI-1 4G/5G, Glikoprotein IIIa L33P, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, ACE I/D, APOB R3500Q ve APOE (E2,E3,E4)* için primerleri ve dNTP’leri içeren üretici firma tarafından hazırlanan CVD Amplifikasyon miksi A ve CVD Amplifikasyon miksi B kullanıldı.



Her örnek için PZR karışımı toplam reaksiyon hacmi aşağıdaki bileşenler içinde olacak şekilde toplam 25 µl endorf tüp içinde hazırlandı (Tablo 2). Her PZR tüpüne karışımdan 20 µl dağıtıldı. En son 5 µl DNA eklendi. PZR’da kullanılacak malzemeler çalışma esnasında buz üzerinde muhafaza edildi.

PZR tüpüne konan bileşenlerin iyice karışması için çok kısa bir süre (1-2 saniye) hafif vorteks ve santrifüjleme yapıldı. Tüpler PZR cihazına yerleştirildi. Viennalab’ın belirlediği PZR protokolüne göre reaksiyon başlatıldı (Tablo 2 ve 3).

**Tablo 2.** Bir hasta için CVD strip assay PZR protokolü

<b>Reaktifler</b>	<b>Miks A</b>	<b>Miks B</b>
Amplifikasyon Miksi	15 µl	15 µl
Taq Dilüsyon Buffer	4,8 µl	4,8 µl
Taq DNA Polimeraz	0,2 µl	0,2 µl
Kalıp DNA	20 ng/µl	5 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	25 µl	25 µl

**Tablo 3.** CVD Strip Assay PZR Thermal cycler programı

94 °C	02:00 dk
94 °C 00:15 sn	
58 °C 00:30 sn	→ 35 Döngü
72 °C 00:30 sn	
72 °C	03:00 dk

### **3.5.Hibridizasyon**

#### **3.5.1.Hazırlıklar**

Hibridizasyon için kullanılan Autolipa’da CVD Strip Assay için uygun program seçilerek cihaz 45°C’ye kadar ısıtıldı. Hibridizasyon çalışmasına başlamadan önce Hibridizasyon buffer ve Wash solüsyon A, autolipanın sıcak bloğu üzerine yerleştirildi

ve 45°C'ye kadar ısınması beklendi. Test stripleri, DNAT, konjüгат çözeltisi, wash B çözeltisi ve color developer oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi.

Bundan sonraki aşamalar;

- 1) Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilerek PZR ürünleri denatüre edildi.
- 2) 20 µl DNAT çözeltisi tepsideki her kuyucuğun köşesine pipetlendi.
- 3) PZR ürününden 10 µl alındı ve DNAT üzerine pipetlenerek karıştırıldı. Bu sırada pens ile her bir örnek için bir strip alındı ve bu stripin işaretli ucu kurşun kalemle hasta numaraları yazıldı. Bu işlemler sırasında stribe çıplak elle dokunmamaya özen gösterildi.
- 4) Tepsinin örneklerin konulduğu kuyucuklarına 1 ml hibridizasyon çözeltisi konuldu ve homojen renk elde edilene kadar yavaşça çalkalandı.
- 5) Stripler dikkatlice tepsinin kuyularına yerleştirildi.
- 6) 45°C'de 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi.
- 7) Hibridizasyon solüsyonu cihaz tarafından kuyucuklardan tamamen boşaltıldı.
- 8) Her bir kuyucuğa 45°C'de 1 ml Wash A çözeltisi ilave edilerek bir dakika çalkalanıp boşaltıldı. Wash A tekrar 1 ml ilave edilerek 15 dakika 45°C de çalkalamalı inkübe edildi.
- 9) Wash A çözeltisi boşaltıldı. Tekrar 1 ml wash A ilave edildi. 15 dakika 45°C'de çalkalanarak hibridize olmayan PZR ürünlerinin tamamen uzaklaştırılması sağlandı.

Bu aşamadan itibaren oda sıcaklığında çalışıldı.

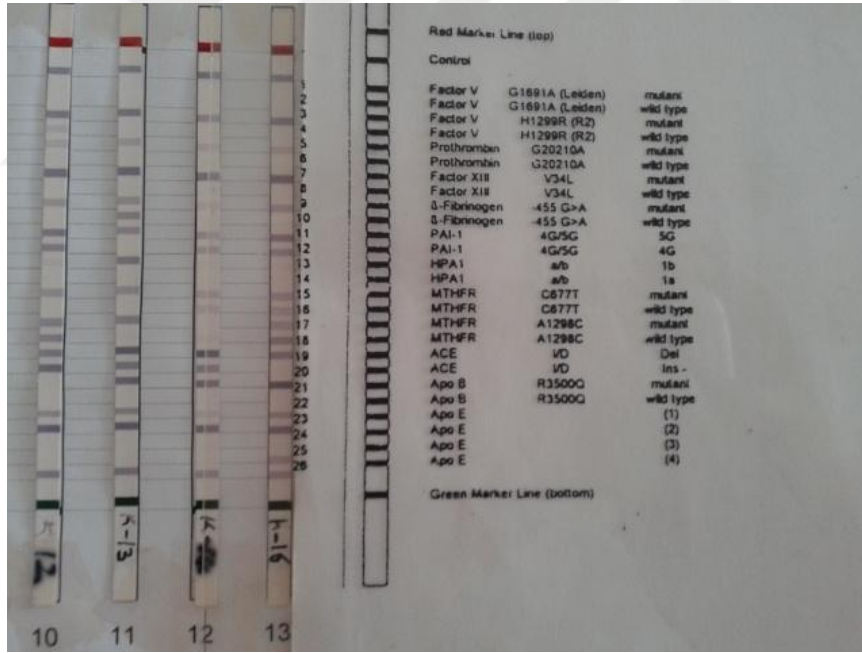
- 10) Her bir kuyucuğa 1ml Konjüгат çözelti eklendi ve 15 dk oda sıcaklığında çalkalanarak inkübe edildi.
- 11) Her bir kuyucuğa 1 ml Wash B çözeltisi eklendi ve 1 dakika çalkalanarak boşaltıldı. Tekrar 1 ml Wash B çözeltisi eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında çalkalanarak inkübe edildi.
- 12) Kuyucuklardan Wash B boşaltıldı ve yeniden 1 ml Wash B ile 5 dk oda sıcaklığında çalkalanarak inkübe edildi.

13) Her bir strip üzerine 1 ml Color developer çözeltisi eklendi ve karanlıkta oda sıcaklığında bantların oluşmasına göre 15 dk çalkalanarak inkübe edildi.

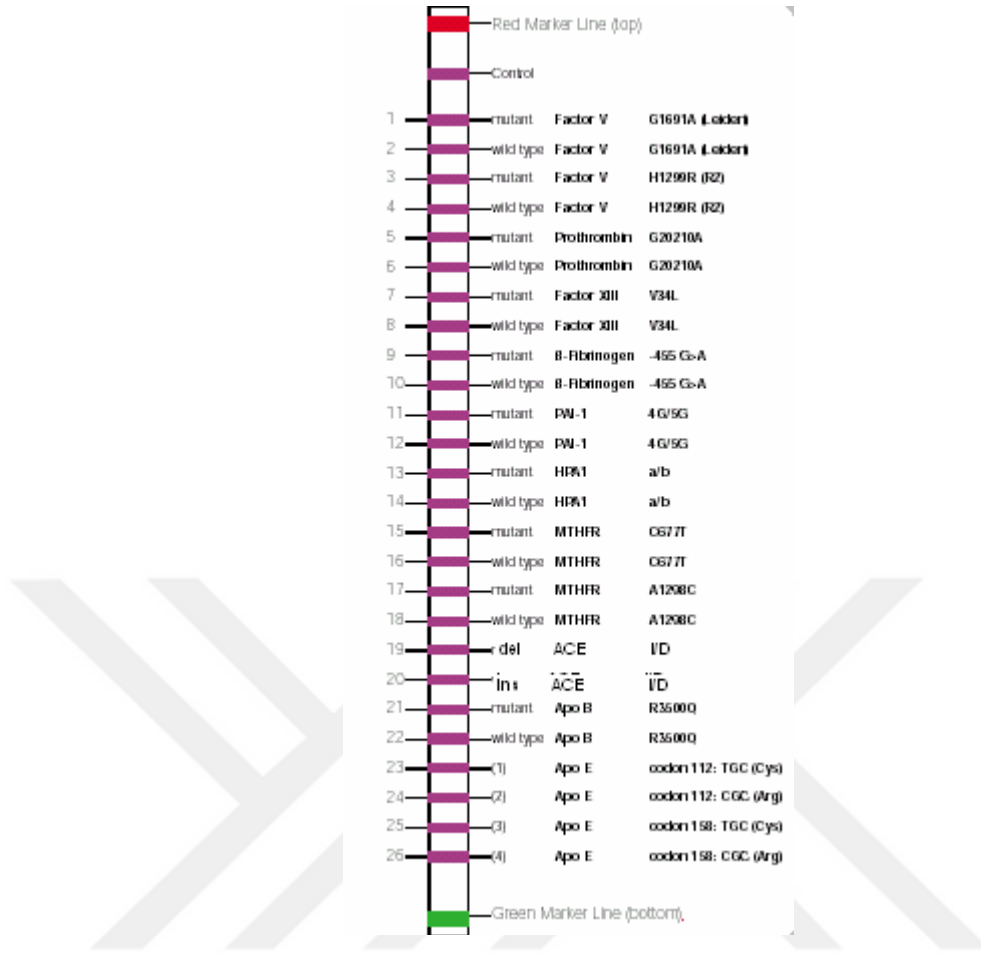
14) Bant oluşma işlemi gerçekleştirildikten sonra stripler iki kere distile su ile yıkanarak işlem sonlandırıldı.

15) Son olarak stripler tepsinin kuyucuklarından alınarak kurutma kağıdının arasında kurutuldu ve mutasyonların değerlendirilme aşamasına geçildi.

Hibridizasyon sonrası, stripler kolektör kağıtlarına yapıştırılarak yorumlandı (Şekil 7). En baştaki pozitif reaksiyon kontrol bandı konjugat ve color developer aşamalarının doğruluğunu gösterir. Bu band daima oluşmalıdır. CVD stripleri ve strip üzerindeki *mutant tip* ve *wild tipleri* gösteren bantlar şekil 8’de gösterilmiştir. Normal bireylerin genotipleri için sadece *wild (yabani) bantlar*, heterozigot bireyler için hem *wild* hem de *mutant* bantlar, homozigot bireyler için sadece *mutant bantların* pozitif olması gerekmektedir (Tablo 4).



Şekil 7. CVD Strip Assay sonucu; dört örnekte 12 mutasyona ait hibridizasyon sonuçları



Şekil 8. CVD stripassay

Tablo 4. Revers hibridizasyonda genotiplendirme

	Wild type line	Mutant line	Genotip
NORMAL	Pozitif	Negatif	Normal
HETEROZİGOT	Pozitif	Pozitif	Heterozigot
HOMOZİGOT	Negatif	Pozitif	Homozigot mutant

Apo E dışında tüm polimorfizmlerin yorumlanması tablo 4'deki gibidir. Apo E'nin yorumlanması aşağıda verilmiştir (Şekil 9).



**Sekil 9.** Bireysel izoformların kombinasyonu ile ortaya çıkan 6 APO-E genotipi

### 3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Hasta ve kontrollerden yapılan analiz sonucunda ilgili genlerin mutasyon sıklıklarının istatistiksel olarak karşılaştırılmasında SPSS 15.0 programı kullanılarak yüzde dağılımları bulunmuştur. Bazı genlere ait mutasyon sonuçları için Open Epi Version 3.03a (2015) programı ile ki-kare analizi yapılmıştır (Dean ve ark., 2015) (İstatistiksel olarak  $p < 0,05$  anlamlı kabul edilmiştir).

Çalışmada, koroner arter hastaları ve sağlıklı kontrollerde ilgili gen mutasyonlarının sıklığı karşılaştırılarak istatistik olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca bileşik genotip analizi yapılmıştır.

#### **4.BULGULAR**

Bu çalışmada 55 yaş altı koroner arter hastaları incelemeye alınmış olup, kontrol grubu ise kendisinde ve ailesinde KAH olmayan 39 bireyden oluşturulmuştur Yaşları 32 ile 54 arasında değişen, 47 erkek ve 5 kadından oluşan 52 koroner arter hastası ile yaşları 19 ile 60 arasında değişen 24 kadın, 15 erkekten oluşan 39 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 91 kişi incelendi (Tablo 5). Hasta grubunda öne çıkan klinik özellikler yüksek kolesterol düzeyi, koroner anjiyografide gözlenen bir veya daha fazla tıkalı damar sayısı ve sigara kullanımıydı (Tablo 6).



**Tablo 5.** (Devamı)**Tablo 5.** Kontrol ve koroner arter hastası bireylerde kardiyovasküler panelde bulunan tüm genlere ait analiz edilen mutasyonlar

Protokol No	FVL	Faktör VH1299R	Protrombin G22210A	Faktör XIIIIV34L	BFibrinojen 455 G>A	PAI-1 4G/5G	HPA 1 a/b	MTHFR C677T	MTHFR A1298C	ACE I/D	APO B R3500Q	APO E
KA-1	N	N	N	*	*	5G/4G	1b/1a	N	HT	DD	N	E3/3
KA-2	N	N	HT	N	HT	4G/4G	1a/1a	HT	N	ID	N	E3/3
KA-3	N	N	N	N	HT	5G/5G	1a/1a	HT	N	DD	N	E2/3
KA-4	N	N	N	*	HT	5G/4G	1a/1a	N	HT	ID	*	E3/3
KA-5	N	N	N	HT	N	5G/4G	1b/1a	N	HT	DD	N	E3/3
KA-6	N	N	N	*	HT	5G/4G	1a/1a	*	HT	DD	N	E3/3
KA-7	N	N	N	*	*	4G/4G	1b/1a	*	HT	ID	N	E3/3
KA-8	N	HT	N	*	N	5G/5G	1a/1a	mutant	HT	ID	N	E3/3
KA-9	N	N	N	N	HT	5G/4G	1b/1a	N	mutant	DD	N	E3/3
KA-10	N	N	N	*	N	5G/5G	1a/1a	*	N	DD	N	E3/3
KA-11	N	N	N	N	N	4G/4G	1b/1a	N	HT	DD	N	E3/3
KA-12	N	N	N	*	N	5G/5G	1a/1a	Mutant	N	ID	*	E2/3
KA-13	N	N	N	*	*	*	*	*	N	II	*	E3/3
KA-14	N	HT	N	*	N	5G/5G	1a/1a	N	HT	ID	N	E3/3
KA-15	N	N	N	*	N	*	*	N	HT	ID	*	E3/3
KA-16	N	HT	N	*	*	5G/4G	1a/1a	*	HT	DD	*	E3/3
KA-17	*	N	N	*	N	5G/5G	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-18	N	N	N	N	N	5G/4G	*	N	HT	ID	N	E3/3
KA-19	N	N	N	*	N	5G/5G	*	mutant	HT	ID	*	E3/3
KA-20	*	N	N	*	*	*	*	*	N	DD	*	E2/3
KA-21	N	N	N	*	*	*	*	*	N	ID	*	E3/3
KA-22	*	*	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-23	N	*	N	*	*	*	*	*	N	ID	*	E2/3
KA-24	N	*	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-25	N	*	N	*	*	*	*	*	N	II	*	E3/3

**Tablo 5. (Devamı)**

Protokol No	FVL	Faktör VH1299R	Protrombin G22210A	Faktör XIIIIV34L	BFibrinojen 455 G>A	PAI-1 4G/5G	HPA 1 a/b	MTHFR C677T	MTHFR A1298C	ACE I/D	APOB R3500Q	APO E
KA-26	N	N	N	*	*	*	*	*	N	ID	*	E3/3
KA-27	N	N	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/4
KA-28	N	*	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-29	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	DD	*	E3/4
KA-30	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-31	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	DD	*	*
KA-32	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-33	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
KA-34	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
KA-35	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-36	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	DD	*	*
KA-37	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	E3/3
KA-38	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	E2/3
KA-39	*	*	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-40	N	N	N	*	N	5G/4G	*	HT	HT	DD	*	E3/3
KA-41	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-42	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
KA-43	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-44	HT	HT	N	N	N	5G/5G	*	*	HT	ID	N	E3/3
KA-45	N	N	N	*	N	5G/4G	1a/1a	N	HT	ID	*	E3/3
KA-46	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-47	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-48	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-49	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
KA-50	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
KA-51	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
KA-52	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*



**Tablo 5. (Devamı)**

<b>Protokol No</b>	<b>FVL</b>	<b>Factor VH1299R</b>	<b>Protrombin G22210A</b>	<b>Factor XIII V34L</b>	<b>BFibrinojen 455 G&gt;A</b>	<b>PAI-1 4G/5G</b>	<b>HPA 1 a/b</b>	<b>MTHFR C677T</b>	<b>MTHFR A1298 C</b>	<b>ACE I/D</b>	<b>APO BR3500 Q</b>	<b>APO E</b>
K-1	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
K-2	N	N	*	*	N	5G/4G	*	N	HT	DD	*	E3/3
K-3	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-4	N	N	N	*	*	5G/5G	*	*	HT	ID	*	E3/3
K-5	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-6	*	*	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-7	*	*	*	*	*	*	*	*	N	ID	*	E3/3
K-8	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	E3/3
K-9	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-10	N	HT	N	N	N	5G/5G	1a/1a	N	HT	DD	N	E3/3
K-11	N	N	N	N	HT	4G/4G	1a/1a	N	N	ID	N	E3/3
K-12	N	N	N	N	N	5G/5G	1a/1a	mutant	HT	ID	N	E3/3
K-13	N	N	N	N	N	5G/5G	1a/1a	HT	HT	II	N	E3/4
K-14	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-15	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-16	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-17	N	*	HT	*	*	*	*	HT	HT	DD	*	E3/3
K-18	*	*	N	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-19	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	DD	*	*
K-20	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-21	*	*	*	*	*	4G/4G	1a/1a	*	HT	ID	*	E3/3
K-22	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-23	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-24	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-25	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-26	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-27	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*

**Tablo 5. (Devamı)**

Sıra NO	FVL	Faktör V H1299R	Protrombin G22210A	Faktör XIIIIV34L	BFibrinojen 455 G>A	PAI-1 4G/5G	HPA 1 a/b	MTHFR C677T	MTHFR A1298 C	ACE I/D	APO B R3500 Q	APO E
K-28	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-29	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-30	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-31	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-32	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-33	N	N	N	*	N	*	*	N	HT	II	*	*
K-34	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-35	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-36	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	*	*	*
K-37	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	ID	*	*
K-38	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	DD	*	*
K-39	*	*	*	*	*	*	*	*	HT	DD	*	*

\*: Kayıp veriler

KA: Koroner Arter Hastası

K: Sağlıklı Kontrol

N: Normal

HT: Heterozigot

**Tablo 6.** Çalışmada kullanılan Koroner Arter Hastası Bireyler

Protokol No	Cinsiyet	Yaşı	Hipertansiyon	Diyabet	Kolesterol	Ailede Kalp Hastalığı Öyküsü	Sigara İçme	Tıkalı Damar Sayısı (I,II,III.)
KA-1	E	41	-	-	+	-	+	3
KA-2	E	44	+	-	-	-	+	1
KA-3	E	50	-	-	-	-	+	1
KA-4	E	51	-	+	-	-	+	3
KA-5	E	45	-	-	+	+	+	1
KA-6	E	53	+	-	-	+	+	2
KA-7	E	48	+	-	+	+	+	2
KA-8	E	48	-	-	-	-	+	2
KA-9	E	50	+	-	+	+	-	2
KA-10	E	52	-	+	+	+	-	1
KA-11	E	48	-	-	+	-	+	2
KA-12	E	51	-	-	+	+	+	3
KA-13	E	50	-	-	-	-	+	1
KA-14	K	55	-	+	+	-	+	1
KA-15	E	51	-	-	-	-	+	3
KA-16	K	37	-	-	-	+	-	KAH
KA-17	E	38	-	+	-	+	+	1
KA-18	E	52	-	-	-	-	+	1
KA-19	E	49	-	Tip II	-	+	+	3
KA-20	E	45	-	-	+	+	+	1
KA-21	E	39	-	-	-	-	+	2
KA-22	E	48	-	-	-	-	+	2
KA-23	E	54	-	-	-	-	+	3
KA-24	E	51	-	-	+	+	+	2
KA-25	E	48	-	-	-	-	+	3
KA-26	K	51	+	-	+	+	-	3
KA-27	E	44	-	-	-	+	+	1
KA-28	E	39	-	-	-	+	-	1
KA-29	E	52	+	-	+	-	+	2
KA-30	E	43	-	+	-	+	+	3
KA-31	E	50	-	-	-	-	+	USAP
KA-32	E	49	-	Tip II	-	+	+	3

**Tablo6.**(Devamı)

Protokol No	Cinsiyet	Yaşı	Hipertansiyon	Diyabet	Kolesterol	Ailede Kalp Hastalığı Öyküsü	Sigara İçme	Tıkalı Damar Sayısı (I,II,III.)
KA-33	E	53	-	-	-	+	+	KAH
KA-34	E	48	+	-	+	+	+	2
KA-35	E	42	+	-	-	+	+	1
KA-36	E	32	-	-	-	+	+	1
KA-37	E	41	-	-	+	-	+	1
KA-38	E	45	+	-	-	-	+	1
KA-39	E	52	-	-	+	+	+	3
KA-40	K	37	-	-	-	+	-	KAH
KA-41	E	54	+	-	-	+	+	KAH
KA-42	E	32	-	-	-	+	+	1
KA-43	E	54	+	-	-	-	+	KAH
KA-44	E	52	-	-	-	+	+	3
KA-45	E	52	-	-	-	+	+	3
KA-46	E	54	-	-	+	+	+	KAH
KA-47	E	46	-	-	-	+	+	KAH
KA-48	E	49	-	+	-	+	-	KAH
KA-49	K	54	+	-	+	+	-	KAH
KA-50	E	51	+	-	-	+	+	3
KA-51	E	51	-	-	-	-	+	
KA-52	E	53	+	+	-	-	+	

Hasta ve kontrol grubu DNA'ları üzerinde *FVL*, *Faktör V H1299R*, *Protrombin*, *Faktör XIII*, *Beta Fibrinojen*, *PAI-1*, *HPA1*, *MTHFR A1298C*, *MTHFR C677T*, *ACE*, *ApoB* ve *ApoE*'den oluşan 12 gen mutasyonunun analizi yapılarak mutasyon sıklığı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda koroner arter hastaları ve sağlıklı kontrollerde ilgili gen mutasyonlarının sıklığı karşılaştırılarak yüzde dağılım ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Her bir gen için elde edilen bulgular;

#### **4.1. FVL Mutasyonu**

Faktör V genindeki 1691 G>A (rs6025) değişimi proteinin 506. pozisyonunda arg'nin gln'ye değişimine neden olmaktadır. *Faktör V* geni için hasta grubundan 27,

kontrol grubundan 8 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizde Gln/Gln ve Gln/Arg genotip sıklıkları sırasıyla, koroner arter grubunda %96,3 ve %3,7; kontrol grubunda ise %100 ve %0'dır. Arg/Arg genotipine her iki grupta da rastlanmamıştır (Tablo 7).

**Tablo 7.** Faktör V Leiden genotip dağılımı

<b>Faktör V Leiden</b>		<b>Koroner arter N=27</b>	<b>Kontrol grubu N=8</b>
wild type	n (%)	26 (%96,3)	8 (%100)
mutant/wild type	n (%)	1 (%3,7)	0 (%0)

#### **4.2. Faktör V Geni His1299Arg Mutasyonu**

Faktör V geninin 1299. pozisyonundaki (rs1800595) polimorfizm His'in Arg'ye değişimine neden olmaktadır. *Faktör V geni His1299Arg* mutasyonu için hasta grubundan 24, kontrol grubundan 7 örnek çalışılmıştır. *His1299Arg* mutasyonu için yapılan analizde His/His ve His/Arg genotiplerinin sıklıkları sırasıyla, koroner arter grubunda %83,3, %16,4; kontrol grubunda ise %85,7, %14,3'dür. Arg/Arg genotipine her iki grupta da rastlanmamıştır (Tablo 8). Hasta ve kontrol grubu arasında mutant genotiplerin yüzde dağılımları arasında fark bulunamamıştır.

**Tablo 8.** Faktör V h1299R genotip dağılımı

<b>Faktör V H1299R</b>		<b>Koroner arter N=24</b>	<b>Kontrol grubu N=7</b>
wild type	n (%)	20 (%83,3)	6 (%85,7)
mutant/wild type	n (%)	4 (%16,7)	1 (%14,3)

#### **4.3. Protrombin (Faktör II) G20210A Mutasyonu**

Protrombin geninin 3'transle edilmeyen bölgesindeki G'nin A'ya değişimini gösteren G20210A mutasyonuna (rs1799963) neden olmaktadır. Bu gen için hasta grubundan 30, kontrol grubundan 8 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizde G/G ve G/A genotiplerinin sıklıkları sırasıyla, koroner arter grubunda %96,7, %3,3; kontrol grubunda %87,5, %12,5 olarak belirlenmiştir. İki grupta da AA genotipine rastlanmamıştır (Tablo 9).

**Tablo 9.** Protrombin G20210A genotip dağılımı

<b>Protrombin</b>		<b>Koroner arter N=30</b>	<b>Kontrol grubu N=8</b>
wild type	n (%)	29 (%96,7)	7 (%87,5)
mutant/wild type	n (%)	1 (%3,3)	1 (%12,5)

#### **4.4.Faktör XIII Val34Leu Mutasyonu**

Faktör XIII geninde aktivasyon peptidin bölünme bölgesindeki Val'in leu'ya değişimini gösteren XIII V34L mutasyonuna (rs267606787) neden olmaktadır. Bu gen için hasta grubunda 7, kontrol grubundan ise 4 örnek çalışılmış ve yapılan analizde Val/Val ve Val/Leu genotiplerinin sıklıkları, sırasıyla, koroner arter grubunda %85,7, %14,3; kontrol grubunda ise %100, %0 olarak belirlenmiştir. İki grupta da Leu/Leu genotipine rastlanmamıştır (Tablo 10).

**Tablo 10.** Faktör XIII V34L genotip dağılımı

<b>Faktör XIII</b>		<b>Koroner arter N=7</b>	<b>Kontrol grubu N=4</b>
wild type	n (%)	6 (%85,7)	4 (%100)
mutant/wild type	n (%)	1 (%14,3)	0 (%0)

#### **4.5.Beta-Fibrinojen 455G>A Mutasyonu**

Beta fibrinojen geninde 5'promotor bölgesinde -455. pozisyonda *guaninin (G) adenine (A)* değişimi G455A mutasyonuna (rs1800790) neden olmaktadır. Bu gen için hasta grubundan 18, kontrol grubundan 6 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizde G/G ve G/A genotiplerinin sıklıkları sırasıyla, koroner arter grubunda %66,7, %33,3; kontrol grubunda %83,3, %16,7 olarak belirlenmiştir. İki grupta da AA genotipine rastlanmamıştır (Tablo 11).

**Tablo 11.** Beta Fibrinojen 455G>A genotip dağılımı

<b>B Fibrinojen</b>		<b>Koroner arter N=18</b>	<b>Kontrol grubu N=6</b>
wild type	n (%)	12 (%66,7)	5 (%83,3)
mutant/wild type	n (%)	6 (%33,3)	1 (%16,7)

#### 4.6.PAI-1 4G/5G Mutasyonu

PAI-1 geninin promotor bölgesinde (-675 4G/5G) insersiyon (I) ya da delesyon (D) (rs1799889) meydana gelmektedir. Bu gen için hasta grubundan 19, kontrol grubundan 7 örnek çalışılmış olup yapılan analizlerde 5G/5G, 5G/4G ve 4G/4G genotiplerinin sıklıkları sırasıyla, koroner arter grubunda %42,1, %15,8 ve %42,1; kontrol grubunda %57,1, %14,3 ve %28,6 olarak belirlenmiştir (Tablo 12).

**Tablo 12.** PAI-1 5G/4G genotip dağılımı

PAI_1	Koroner arter N=19	Kontrol grubu N=7
<b>5G/5G</b> n (%)	8 (%42,1)	4 (%57,1)
<b>5G/4G</b> n (%)	8 (%42,1)	1 (%14,3)
<b>4G/4G</b> n (%)	3 (%15,8)	2 (%28,6)

#### 4.7.HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu

Glikoprotein IIIa geninde oluşan bir mutasyon 33. aminoasit lösinin (Leu) proline (Pro) değişimine (rs5918) neden olmaktadır. Bu gen için hasta grubunda 15, kontrol grubundan 7 örnek çalışılmış olup yapılan analizlerde 1a/1a ve 1a/1b genotiplerinin sıklıkları sırasıyla; koroner arter grubunda %66,7, %33,3; kontrol grubunda %100, %0 olarak belirlenmiştir. İki grupta da 1b/1b genotipine rastlanmamıştır (Tablo 13).

**Tablo 13.** HPA-1 genotip dağılımı

HPA1	Koroner arter N=15	Kontrol grubu N=5
<b>1a/1a</b> n (%)	10 (%66,7)	5 (%100)
<b>1a/1b</b> n (%)	5 (%33,3)	0 (%0)

#### 4.8.MTHFR C677T Mutasyonu

MTHFR geninde 677. nükleotid olan C'nin T'ye değişimini (rs1801133) gösteren C677T mutasyonu için hasta grubundan 15, kontrol grubundan 7 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizde CC, CT ve TT genotiplerinin sıklıkları sırasıyla; koroner arter grubunda %60 , %20 ve %20; kontrol grubunda %57,1, %28,6 ve %14,3 olarak belirlenmiştir (Tablo 14).

**Tablo 14.** MTHFR C677T genotip dağılımı

MTHFR C677T		Koroner arter N=15	Kontrol grubu N=7
wild type	n (%)	9 (%60)	4 (%57,1)
mutant/wild type	n (%)	3 (%20)	2 (%28,6)
mutant	n (%)	3 (%20)	1 (%14,3)

#### **4.9.MTHFR A1298C Mutasyonu**

MTHFR geninde 7. ekzondaki 1298. nükleotid olan A'nın C'ye değişimini (rs1801131) gösteren A1298C mutasyonu için hasta grubundan 48, kontrol grubundan 39 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizde AA, AC ve CC olarak belirlenen genotiplerin sıklıkları, sırasıyla; koroner arter grubunda %20,8, %77,1 ve % 2,1; kontrol grubunda %5,1, %94,9 ve %0 olarak belirlenmiştir (Tablo 15). MTHFR A1298C polimorfizmi AA:AC+DD olacak şekilde hasta ve kontroller karşılaştırıldığında mutant genotip ile KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır [p=0,06, %95 güven aralığında OR=0,205 (0,0421-1,001)].

**Tablo 15.** MTHFR A1298C genotip dağılımı

MTHFR A1298C		Koroner arter N=48	Kontrol grubu N=39
wild type	n (%)	10 (%20,8)	2 (%5,1)
mutant/wild type	n (%)	37 (%77,1)	37 (%94,9)
mutant	n (%)	1 (%2,1)	0 (%0)

#### **4.10.ACE I/D Mutasyonu**

ACE geninde 16. intronda 287 baz çiftlik bir dizinin varlığı yada yokluğu ile oluşan insersiyon (I)/ delesyon (D) mutasyonu (rs4646994) için hasta grubunda 43, kontrol grubunda 25 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizde II, ID ve DD genotiplerinin sıklıkları sırasıyla; koroner arter grubunda %4,7, %69,8 ve %25,6; kontrol grubunda %8, %68 ve %24 olarak belirlenmiştir (Tablo 16). ACE I/D polimorfizmi için incelenen genotipler DD:II+ID olacak şekilde hasta ve kontroller karşılaştırıldığında mutant genotip ile KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır [p=0.89, OR= 1.089 (0.346-3.42)].



**Tablo 16.** ACE I/D genotip dağılımı

ACE		Koroner arter N=43	Kontrol grubu N=25
INS	n (%)	2 (%4,7)	2 (%8)
DEL/INS	n (%)	30 (%69,8)	17 (%68)
DEL	n (%)	11 (%25,6)	6 (%24)

#### 4.11.APO B R3500Q Mutasyonu

APO B geninin 3500. kodonunda *arjinin (R) yerine glutamin (Q)* gelmesi ile oluşan R3500Q mutasyonu (rs5742904) için hasta grubundan 13, kontrol grubundan 4 örnek çalışılmıştır. Yapılan analizlerde her iki grupta da mutasyona rastlanmamıştır (Tablo 17).

**Tablo 17.** Apo B R3500Q genotip dağılımı

Apo B		Koroner arter N=13	Kontrol grubu N=4
wild type	n (%)	13 (%100)	4 (%100)

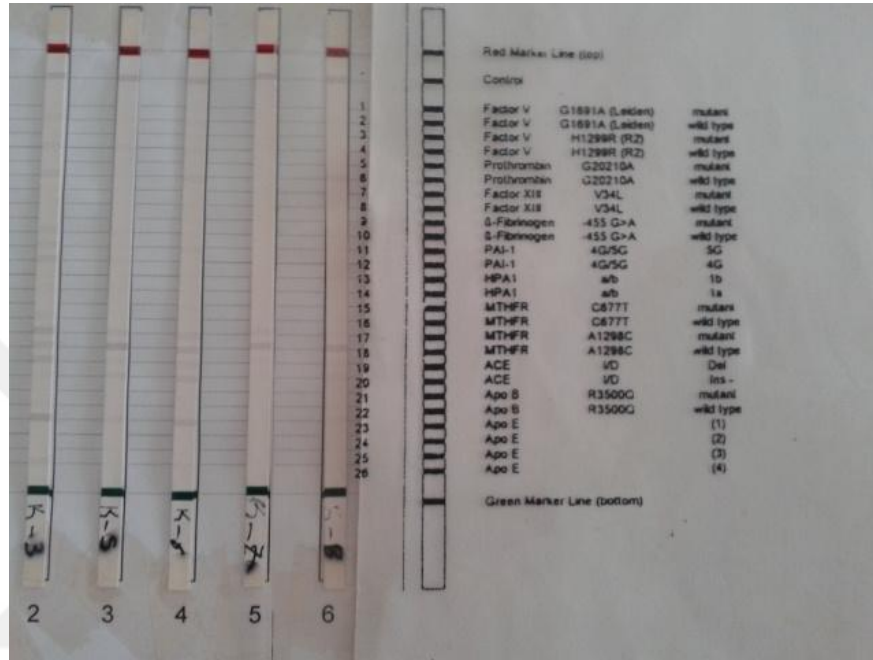
#### 4.12.Apo E Mutasyonu

Apo E geninde E2/2, E2/3, E2/4, E3/3, E3/4 E4/4 (rs429358) olmak üzere 6 farklı genotip belirlenmiştir. Bu gen için hasta grubundan 36, kontrol grubunda 11 örnek çalışılmıştır. Bu çalışmada E2/3 genotip sıklığı koroner arter grubunda %11.1, kontrol grubunda %0; E3/3 genotip sıklığı koroner arter grubunda %83.3, kontrol grubunda % 90.9; E3/4 genotip sıklığı koroner arter grubunda %5.6, kontrol grubunda %9.1 olarak bulunmuştur. Diğer genotiplere iki grupta da rastlanmamıştır (Tablo 18).

**Tablo 18.** Apo E genotip dağılımı

Apo E		Koroner arter N=36	Kontrol grubu N=11
E2/3	n (%)	4 (%11,1)	0 (%0)
E3/3	n (%)	30 (%83,3)	10 (%90,9)
E3/4	n (%)	2 (%5,6)	1 (%9,1)

Çalışmamızda iki gen (MTHFR A1298C ve ACE) hariç diğer genler için hasta ve kontrollerde yöntemle ilgili olarak kayıp verilerin olması ve buna bağlı olarak her gen için iki grup arasında sayısal olarak eşleşme olmaması nedeniyle KAH ile ilişkilendirme açısından çok fazla bilgi verici olmamıştır (Şekil 11).



Şekil 11. Hibridizasyon başarısızlığını gösteren strip assay sonuçları

#### 4.13. Bileşik Genotipli Hastalar

Hasta grubunda gözlenen mutasyonlar değerlendirildiğinde, birden fazla mutasyon taşıyan bireylerin olduğu gözlenmiştir. Bunlar arasında; 46 hastanın 26'sında (%56) iki mutasyonun (ACE ID ve MTHFR A1298C), 15 hastanın 8'inde (%53) üç mutasyonun (PAI-1, MTHFR A1298C ve ACE ID), 15 hastanın 5'inde (%33) dört mutasyonun (PAI-1, MTHFR A1298C, HPA-1 ACE ID) birlikte taşındığı tespit edilmiştir. Bu bulgular bir kişide birden fazla genin mutasyonunun kümülatif etkisi nedeniyle KAH için tetikleyici olduğunu göstermektedir. (Tablo 19, Tablo 20)

**Tablo 19.** İki mutasyonun birlikte bulunduğu koroner arter hastaları

MTHFR AA	MTHFR AC	MTHFR CC	ACE II	ACE ID	ACE DD
KA-2	KA-1	KA-9	KA-13	KA-2	KA-1
KA-3	*KA-4		KA-25	*KA-4	KA-3
KA-10	KA-5			*KA-7	KA-5
KA-12	KA-6			*KA-8	KA-6
KA-20	*KA-7			KA-12	KA-9
KA-21	*KA-8			*KA-14	KA-10
KA-23	KA-11			*KA-15	KA-11
KA-25	*KA-14			*KA-17	KA-16
KA-26	*KA-15			*KA-18	KA-20
	KA-16			*KA-19	KA-29
	*KA-17			KA-21	KA-31
	*KA-18			*KA-22	KA-36
	*KA-19			*KA-23	KA-40
	*KA-22			*KA-24	
	*KA-24			KA-26	
	*KA-27			*KA-27	
	*KA-28			*KA-28	
	*KA-29			*KA-30	
	*KA-30			*KA-32	
	KA-31			*KA-35	
	*KA-32			*KA-39	
	*KA-33			*KA-41	
	KA-34			*KA-42	
	*KA-35			*KA-43	
	KA-36			*KA-44	
	KA-37			*KA-45	
	KA-38			*KA-46	
	*KA-39			*KA-47	
	KA-40			*KA-48	
	*KA-41			*KA-49	
	*KA-42			*KA-52	
	*KA-43				
	*KA-44				
	*KA-45				
	*KA-46				
	*KA-47				
	*KA-48				
	*KA-49				
	KA-50				
	KA-51				
	*KA-52				

\*:MTHFR A1298C ile ACE I/D mutasyonlarının birlikte bulunduğu koroner arter hastaları

**Tablo 20.** PAI-1 4G/5G, HPA 1a/b MTHFR A1298C ve ACE I/D mutasyonlarının birlikte bulunduğu koroner arter hastaları

Hasta no	PAI-1 4G/5G	HPA 1a/b	MTHFR A1298C	ACE I/D
<sup>a</sup> KA-1	5G/4G	1b/1a	AC	DD
KA-2	4G/4G	1a/1a	AA	ID
KA-3	5G/5G	1a/1a	AA	DD
<sup>b</sup> KA-4	5G/4G	1a/1a	AC	ID
<sup>ab</sup> KA-5	5G/4G	1b/1a	AC	DD
<sup>b</sup> KA-6	5G/4G	1a/1a	AC	DD
<sup>ab</sup> KA-7	4G/4G	1b/1a	AC	ID
KA-8	5G/5G	1a/1a	AC	ID
<sup>ab</sup> KA-9	5G/4G	1b/1a	CC	DD
KA-10	5G/5G	1a/1a	AA	DD
<sup>ab</sup> KA-11	4G/4G	1b/1a	AC	DD
KA-12	5G/5G	1a/1a	AA	ID
KA-14	5G/5G	1a/1a	AC	ID
<sup>b</sup> KA-16	5G/4G	1a/1a	AC	DD
<sup>b</sup> KA-45	5G/4G	1a/1a	AC	ID

<sup>a</sup>:PAI-1, MTHFR A1298C, HPA-1 ACE ID mutasyonlarının birlikte taşındığı hastalar

<sup>b</sup>:PAI-1, MTHFR A1298C ve ACE ID mutasyonlarının birlikte taşındığı hastalar

## 5.TARTIŞMA

Çalışmamızda hasta grubu 55 yaşın altında olup erken yaş koroner arter hastalarıdır ve %90'ı erkek hastalardan oluşmaktadır. Erkeklerde 45 yaş, kadınlarda 55 yaş üzeri KAH için güçlü bir risk faktörüdür. Diğer risk faktörleri eşitse, erkekler ateroskleroza kadınlardan çok daha fazla eğilimlidirler. Kadınlar menopoza kadar, aterosklozdan bir miktar korunurlar. Diyabet veya az görülen (olasılıkla ailesel) hiperlipidemi formları veya ciddi hipertansiyon gibi predispozan durumlar olmadığı sürece premenopozal kadında MI nadirdir. Östrojenler plazma lipoproteinleri üzerinde olumlu bir etkiye sahiptirler ve menopoza kadar KAH riskindeki artmayı geciktirmektedirler. Erkeklerdeki KAH insidansı oranları, 10 yaş daha yaşlı olan kadınlar ile aynıdır (Castelli, 1984., Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010).

Hasta grubunda öne çıkan klinik özellikler yüksek kolesterol düzeyi, koroner anjiyografide gözlenen bir veya daha fazla tıkalı damar sayısı ve sigara kullanımıydı. Sigara, KAH ve MI için en önemli önlenebilen bağımsız risk faktörlerinden biri olduğu tespit edilmiştir. Sigaranın damar duvarında inflamasyona neden olduğu bilinmektedir. Çeşitli çalışmalarda sigaranın lökosit miktarını %20-25 artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca CRP, interlökin-6 ve TNF-alfa gibi inflamatuvar belirteçlerinde sigara kullanımı ile arttığı gösterilmiştir. Sigara içenlerde T Kol, LDL-K ve trigliserid düzeyleri yüksekken, HDL-K daha düşüktür. Ayrıca LDL-K'nin oksidasyonunu artırarak kolesterolün aterojenik özelliğini artırır. Sigara kullanan kişilerde trombositlerde fonksiyon bozukluğu olduğu ve agregasyonun arttığı, spontan agregasyona neden olduğu görülmüştür. Sigara kullanımının miktarı ile doğrusal bir şekilde kan fibrinojen düzeyi artar. Ayrıca sekonder polisitemi yaparak kanın viskozitesini artırır. Sigaranın bırakılması ile kardiyovasküler risk, ileri yaşlardaki hastalarda bile hızla düşmeye başlar. Risk bir yılın sonunda %50 kadar azalırken, 10 yıl kadar bir süre geçmesiyle koroner olay açısından giderek kaybolur. Riskin bu kadar hızlı azalmasının nedenleri protrombotik değişikliklerin, karboksihemoglobindeki artmanın ve koroner spazmın hızla düzelmesinin ardından HDL ve endotel fonksiyonlarının iyileşmesidir (Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Arter Hastalığına Yaklaşım ve Tedavi Kılavuzu,1999

Çalışmamızda KAH'ın klasik risk faktörleri ile bu hastalığa genetik yatkınlığı belirlemede bazı protrombotik genlere (*Faktör V, Protrombin, Faktör XIII, Beta Fibrinojen, PAI-1, HPA-1, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, ACE, APO B, Apo-E*) ait mutasyon analizlerinin sonuçları tek tek tartışıldığında;

### **5.1.FVL Mutasyonu**

Normal popülasyonda *FVL* mutasyon sıklığı genel olarak %2-4'dür. Ancak Avrupa ülkelerinde %3, Amerika'da %4,4, Yunanistan'da %14, Türkiye'de %7,1-10,3, Kuzey Kıbrıslılarda ise %12,2 olduğu bildirilmiştir (Gurgey ve ark., 1996; Gül ve ark., 1996; Akar ve ark., 1997).

APC'ye direncin gelişmesine neden olan *FVL* mutasyonunun venöz tromboz riskini arttırdığı saptanmıştır; Amerika'da 14,916 hasta ile yapılan kapsamlı bir çalışmada bu mutasyonun venöz tromboz riskini 2,7 kat arttırdığı saptanmıştır. (Price ve Ridker, 1997).

Çalışmamızda *FVL* mutasyonu için yapılan analizlerde Gln/Gln, Gln/Arg sıklıkları, sırasıyla, koroner arter hasta grubunda %96,3 ve %3,7 olarak bulunmuş; kontrol grubunda ise sadece Gln/Gln genotipi gözlenmiştir. Arg/Arg genotipine ise her iki grupta da rastlanmamıştır. Çalışmamızda gözlenen mutasyon sıklığının (%3,7) Türk popülasyonundan ziyade genel popülasyondaki ve Avrupa popülasyonundaki sıklığa benzer olduğu görülmüştür. Bu durumun çevresel faktörler ve çalışılan örnek sayısının kısıtlı olması ile ilişkili olduğu kanaatindeyiz.

Gaziantep'de KDH'ye sahip 4,709 birey ile yapılan bir çalışmada *FVL* mutasyonunun homozigot formda sıklığının % 0,57; heterozigot formda ise %7,43 olduğu bulunmuştur (Öztuzcu ve ark., 2014). Bu çalışmada gözlenen oranlara yakın olarak, bizim çalışmamızda homozigot mutant genotip gözlenmemiştir. Ancak ülkemizde Ercan ve ark. (2008) ateroskleroz için klasik risk faktörleri daha yüksek olan bir popülasyonda yaptıkları ve 181 MI hastası ve 106 kontrol içeren bir çalışmada, MI ve *FVL* arasında bir ilişki bulunamamıştır (hasta grubunda Gln/Gln: % 93,6 ve Gln/Arg: % 6,1, kontrol grubunda Gln/Gln: % 93,4 ve Gln/Arg: % 6,6).

İran'da yapılan ve 1083 KAH ile 320 kontrol içeren bir çalışmada, *FVL* mutasyonu KAH'ın bir belirleyicisi olarak bulunmuştur (Boroumand ve ark.,2014). Ancak Hollanda'da yapılan ve 11 yıl boyunca 542 hastanın takip edildiği prospektif bir

çalışmada, *FVL* varlığı ile MI sonrasında tekrarlayan kardiyovasküler risk arasında bir ilişki saptanmamıştır (Van der Krabben ve ark., 2008). Bizim hasta grubumuzda da kontrol grubundan farklı olarak heterozigot Gln/Arg genotipi oranı %3,7 bulunmuş olup bu genin çalışıldığı örnek sayısı kısıtlı olmasına rağmen KAH hastalarında mutant allelin gözlenmiş olması KAH ile *FVL* mutasyonunun bir ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur.

## 5.2.Faktör His1299Arg Mutasyonu

Faktör V genindeki diğer tek nükleotid polimorfizminin KDH'nin gelişmesinde büyük rol oynadığı gösterilmiştir (Major ve ark., 2000; Seligsohn ve Lubetsky, 2001). VTE vaka ve kontroller arasında Arj/Arj genotip frekanslarında belirgin farklar tespit edilmiştir. R alleli taşıyanlarda risk artmıştır (Ulu ve ark., 2005). Dünyanın farklı bölgelerinde, farklı etnik gruplarda R allelinin sıklığı, VTE vakalarında %9,5-16,5; sağlıklı kontrollerde %5,8-10,4 arasında değişmektedir (Bernardi ve ark., 1997; Alhenc-Gelas ve ark., 1999; Castoldi ve ark., 2000; Pecheniuk ve ark., 2001; Margaglione ve ark., 2002; Faioni ve ark., 2004; Jadaon ve Dashti., 2005; Ulu ve ark., 2005).

Çalışmamızda *His1299Arj* mutasyonu için yapılan analizde de Arj/Arj genotipine rastlanmadı. His/His ve His/Arj genotip sıklıkları ise, sırasıyla, koroner arter grubunda %83,3 ve %16,7, kontrol grubunda %85,7 ve %14,3 olarak bulundu. Örnek sayısı kısıtlı olmasına rağmen hasta grubundaki mutasyon oranı (%16,7) dünya genelindeki bulgulara benzerlik göstermekte idi ancak kontrol grubumuzda mutasyon sıklığı (%14,3) dünya genelinden daha yüksek olduğu belirlendi. Bizim sonucumuzdan farklı olarak Bolu'da yapılan bir çalışmada VTE ile FV H1299R mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Tuğ ve ark., 2011).

İtalya'da yapılan ve 433 VTE hastası ile 326 kontrol içeren bir çalışmada HR haplotipi ile VTE görülmesi arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Margaglione ve ark., 2002). Hollanda'da yapılan ve 560 erkek MI hastası ile 646 kontrol içeren çalışmada Faktör V 1299Arj taşıyanların MI geçirme riskinin artmadığı, ancak bu alleli taşıyan ve sigara içenlerin sigara içmeyenlere göre MI riskinin 4,4 kat arttığı bulunmuştur (Doggen ve ark., 2000). Bu durum hastalığın ortaya çıkmasında genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerin de etkin olduğunun açık bir örneğidir. Bizim çalıştığımız örnek sayısına benzer olan, Mısır'da genç hastalarda çeşitli

homeostatik gen polimorfizmlerinin rolünü araştırmak için yapılan ve 31 MI, 21 karasız anjina ile 20 kontrol içeren bir çalışmada *HI299R* mutasyon sıklığının, hasta ve kontrollerde farklı olmadığı bulunmuştur (Alkhiary ve ark., 2015). Çalışmamızda nispeten benzer coğrafik koşullara sahip olan Mısır'daki bulgulardan farklı olarak hasta grubunda His/Arj genotipi kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. His/His genotip sıklığı ise hasta ve kontrollerde birbirine yakın olup Mısır'daki bulgulara benzerlik göstermektedir.

### **5.3. Protrombin (Faktör II) G22210A Mutasyonu**

*Protrombin G20210A* varyantın sıklığının farklı çalışmalarda %0,6-%4 arasında değiştiği bulunmuştur. *Protrombin G20210A* sıklığı İngiltere'de % 0,61-2,6 (Brown ve ark., 1997; Cumming ve ark., 1997; Makris ve ark., 1997), Avusturalya'da %2,6 (Watzke ve ark., 1997), Hollanda'da % 1,2 (Poort ve ark., 1996), İspanya'da %1,4 (Corral ve ark., 1997), İsveç'de %1,8 (Hillarp ve ark., 1997) ve İtalya'da %4 (Ferraresi ve ark., 1997)'dür. Asya ve Afrikalılarda ise neredeyse %1'den küçüktür.

Çalışmamızda protrombin geninde GG, GA ve AA olarak belirlenen genotiplerden sadece GG ve GA'ya rastlanılmış olup sıklıkları, koroner arter hastası 30 örnekten 29'unda (%96,7) yabancı tip GG, 1 kişide (%3,3) heterozigot GA genotipi gözlenirken, çok daha az olan kontrol grubunda 7 örnekten 6'sında GG, 1'inde ise GA genotipleri gözlenmiştir. İki grupta da AA genotipine rastlanmamıştır. Özellikle çalışılan kontrol sayısının çok kısıtlı olması nedeniyle bu gen için bir ilişkilendirme yapılamamıştır.

Ülkemizde Dönmez ve ark. (2004)'nin yaptıkları ve Türkiye'nin güneyinden 96 MI ve 77 kontrolün dahil edildiği bir çalışmada bu varyant ile MI gelişimi arasında ilişki olmadığını bildirilmiştir (P: 0,4). Gaziantep'de 4,709 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ise bu mutasyonun homozigot formda sıklığı %0,25, heterozigot formda ise bizim çalışmamıza benzer şekilde %3,44 olarak bulunmuştur (Öztuzcu ve ark., 2014).

Kupherminc ve ark. (2000)'nin İsrail'de yaptıkları ve 222 obstetrik komplikasyonlu hasta ile 156 kontrol içeren bir çalışmada komplikasyonlu gebelerin %13'ünde *protrombin G20210A* mutasyon taşıyıcılığı saptanırken kontrol grubunda taşıyıcılığın %3,2 olduğunu bulmuşlardır. İntra uterin gelişme geriliği ve abruptio plasenta da ise mutasyon taşıyıcılığı anlamlı olarak daha sık bulunmuştur (p:0.001) Rey



ve ark. (2002) (Kanada), Many ve ark. (2003) (İsrail), ve Haliloflu (2004) 3. trimester intrauterin fetal ölüm olgularında, *protrombin* gen mutasyonu sayısında anlamlı bir artış olduğunu bulmuşlardır. Amerika’da yapılan bir meta analizde ise *protrombin G20210A* mutasyonunun 55 yaşından küçüklerde inme riskini anlamlı bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir (OR:1,5, P:0,005) ( Jiang ve ark., 2014).

#### **5.4. Faktör XIII Val34Leu Mutasyonu**

Faktör XIII Val34Leu mutasyonunun sıklığı genel popülasyonda beyaz ırkta %25, siyahiler ve Asya Hintlilerinde daha düşük, Japon popülasyonunda ise son derece nadirdir (Muszbek, 2000). Macaristan’da yapılan iki ayrı vaka–kontrol çalışmasında *FXIII-Leu34* aminoasit değişiminin MI oluşumuna karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir (Muszbek, 2000). Yine Macaristan’da yapılan 687 koroner arter hastası ve 994 kontrol içeren diğer çalışmada da aynı şekilde Leu-34’ün koruyucu etkisi olduğu gözlenmiştir (Mezei ve ark., 2015).

Koruyucu etkinin sadece yüksek konsantrasyonda fibrinojen olduğunda hakim olduğu sanılmaktadır. Ülkemizde Ege Bölgesin’de yapılan bir çalışma, *FXIII ValLeu* genotipinin MI’dan koruyucu bir etkiye sahip olduğunu desteklemektedir (Tuğ ve ark.,2011). Çalışmamızda *Faktör XIII* geninde Val/Val, Val/Leu ve Leu/Leu olarak belirlenen genotiplerden hasta grubumuzda 7 hastadan 6’sında homozigot Val genotipi, 1 hastada da heterozigot Val/Leu genotipi, kontrol grubunda ise 4 hastada homozigot Val genotipi gözlenmiş olup homozigot Leu genotipine iki grupta da rastlanmamıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak *Val34Leu* mutasyonu açısından çalışılan örnek sayımızın kısıtlı olması nedeniyle Val/Leu genotipinin koruyucu etkisi ile ilgili bir bulgu elde edilememiştir. Faktör XIII mutasyonu için yapılan çalışmamızda Strip Assay’e bağlı olarak kayıp veriler oldukça yüksektir.

Yapılan bazı çalışmalarda *Faktör XIII Val/Leu* genotipi olmayışının iskemi riskini arttırdığı gösterilmiştir (Catto ve ark., 1998; Akar ve ark., 2007). İtalya’da yapılan ve 294 iskemi hastası ile 286 kontrol içeren bir çalışmada bu allelin iskemi riskini arttırdığı bildirilmiştir. (Rubattu ve ark., 2005). Yine Macaristan’da yapılan bir başka çalışmada *Faktör XIII Val34Leu* mutasyonunun ölümcül iskemik inme oluşumunu etkilemediği ancak şiddeti üzerinde bir etkisi olduğunu göstermiştir. Bu etki ise cinsiyete özeldir ve homozigot kadınlarda görülmektedir (Shemirani ve ark., 2014).

İngiltere’de yapılan bir başka çalışmaya göre de insülin direncinin bulunduğu ve yüksek PAI-1 aktivitesi olan hastalarda Leu allelinin koruyucu etkisinin kaybolduğu gösterilmiştir (Kohler ve ark., 1999). İngilteredeki Asya kökenlilerde yüksek insülin direnci olan Leu taşıyıcılarında koruyucu etkinin olmadığı bulunmuştur (OR:0,15, P<0,005) (Warner ve ark., 2001).

### **5.5.Beta Fibrinojen 455G>A Mutasyonu**

Birçok epidemiyolojik çalışmadan sonra fibrinojene olan ilgi artmıştır. Yapılan çalışmalarda fibrinojenin yüksek plazma düzeyi ile artmış MI riski, inme (Resch ve ark., 1988), VTE (Koster ve ark., 1994 ) ve periferel arter hastalığı (Banerjee ve ark., 1992) arasında bağlantı olduğu gözlenmiştir.

Mutasyon sıklığı İngiltere’de %20 (Tybjærg ve ark.,1997), Kıbrıs’da %17 (Xenophontos ve ark., 2002) olarak gözlenmiştir.

Çalışmamızda, beta fibrinojen geninde GG, GA ve AA olarak belirlenen genotiplerden sadece GG ve GA’ya rastlanmış olup bunların sıklıkları sırasıyla, koroner arter grubunda %66,7 ve %33,3, kontrol grubunda %83,3 ve %16,7 olarak belirlenmiştir. İki grupta da AA homozigot mutant genotipe rastlanmamıştır. Diğer birçok çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda AA genotipi ile KAH arasında bağlantı bulunamamıştır. Ülkemizde Kayseri’de yapılan ve 35 koroner arter hastası içeren bir çalışmada 455A allelinin KAH’ın gelişimi ve şiddetine bir etkisinin olmadığı tesbit edilmiştir (Gül, 2006). Bizim çalışmamıza benzer olarak Polonya’da yapılan ve 426 iskemik inme hastası ile 234 kontrol içeren bir çalışmada genotip sıklıkları, hasta grubunda GG %75, GA %36,8; AA %6,6; kontrol grubunda ise GG %55,3; GA %32,9 ve AA genotipi %9,8 olarak bulunmuş olup, hasta ve kontrol grubu arasında bu mutasyon açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (Golenia ve ark., 2013). Hasta grubumuzdaki %33,3 olan GA genotip sıklığı Polonya’da yapılan çalışmadaki genotip sıklığına benzerlik göstermektedir.

Ancak G455A mutasyonunun vasküler riskin belirlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir. Doggen ve ark. (2000) İngiltere Edinburgh’da yaptıkları KAH çalışmasında AA genotipi taşıyanlarda periferel vasküler hastalık riskinin 2 kat arttığını bulmuşlardır. Japonya’da hipertansiyon hastalarında yapılan bir çalışmada AA genotipi ile KAH arasında bağlantı bulunmuştur (Nishiuma ve ark., 1998). Çinde

yapılan ve 9477 hasta içeren bir metaanalizde -455G>A mutasyonunun iskemik inme için bir belirleyici olduğu bulunmuştur (Cheng ve ark., 2015).

### **5.6.PAI-1 4G/5G Mutasyonu**

Koagülasyon ve fibrinolitik faktörlerin yüksek plazma düzeyleri arteriyel tromboz riskini arttırmaktadır (Meade ve ark., 1986; Ernst ve Resch, 1993; Ridker ve ark., 1993). Bozulmuş fibrinoliz PAI-1 aktivitesinde artışa neden olur (Chmielewska ve ark., 1983). Çeşitli gruplarda koroner arter hastalarında yapılan birçok çalışmada PAI-1 konsantrasyonunun artmış olduğunu ve bu artışın hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Estelles ve ark., 1985; Paramo ve ark., 1985; Hamsten ve ark., 1985).

Mutasyon sıklığı Japonya'da %37,5 (Matsubara ve ark.,1999), Çek Cumhuriyeti'nde %55,9 (Kvasnicka ve ark., 2012), İran'da %20,3 (Bargahi ve ark., 2014), Kıbrıs'da %46 (Xenophontos ve ark., 2002) olarak gözlenmiştir.

*PAI-1 4G/5G* mutasyon çalışmamızda 5G/5G, 4G/4G ve 5G/4G olarak belirlenen genotiplerin sıklıkları, sırasıyla, koroner arter grubunda %42,1, %15,8, %42,1 kontrol grubunda %57,1, %2,6 , %14,3 olarak belirlenmiş olup 4G alelinin koroner arter grubunda yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak ülkemizde İstanbul'da 137 koroner arter hastası ve 41 kontrol içeren bir *çalışmada 4G/5G* mutasyonu ile KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır (Taymaz ve ark., 2007). Yine ülkemizde Ankara'da yapılan ve 80 VTE hastası ile 79 kontrol içeren bir çalışmada da benzer şekilde ilişki bulunamamıştır ( $p>0,05$ ) (Kaya ve ark., 2013).

Bizim bulgularımıza benzer olarak Meksika'da 127 MI hastası ve 127 kontrol içeren bir çalışmada sigara içenlerde, hipertansiyon hastalarında ve aile öyküsü olanlarda 4G allelinin genç akut MI hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur ( Isordia-Salas ve ark., 2009). Yine Tunus'da yapılan ve 305 MI hastası ile 328 kontrol içeren bir çalışmada 4G taşıyıcılarda plazma PAI-1 düzeyindeki artışla birlikte MI riskinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Abboud ve ark., 2010).

Çin'de yapılan bir çalışmada ise *4G/5G* mutasyonunun KAH ile ilişkili olmadığı açıklanmıştır (Dai ve ark., 2001). Yine Tayland'da çocuklarda yapılan ve 30 hasta ile 40 kontrol içeren başka bir çalışmada da *4G/5G* mutasyonu ile KAH arasında bir ilişki bulunmamıştır (Natesirinilkul ve ark., 2014).

### **5.7.HPA1 (Glikoprotein IIIa L33P) Mutasyonu**

Glikoprotein IIIa geni, 33. aminoasitte yaygın leu/pro mutasyonu proteinin HPA 1a/1b olarak adlandırılan allo-antijen sisteminin moleküler temelini oluşturur. Bu mutasyon, glikoprotein IIIa geninin 1565 pozisyonunda exon 2'de C>T değişimine neden olur. Avrupa populasyonunun yaklaşık %25'i glikoprotein IIIa'daki HPA 1a/1b mutasyonu için heterozigottur. Sigara içicilerinde, *HPA 1a/1b* mutasyonu için heterozigotluğun MI riskini de artırdığı saptanmıştır (Sartori ve ark., 2001; Weiss ve ark., 1996).

*GpIIIa L33P* heterozigot değişimi erken yaşta akut koroner sorunlarla, MI ve inmeye yatkınlıkla ilişkilendirilmektedir. Bu ilişki Polonya' da geniş damar hastalığı olan 92 erkek ve 184 kontrol içeren bir çalışmada gösterilmiştir (Slowik ve ark., 2004).

Çalışmamızda HPA1 geninde 1a/1a, 1a/1b ve 1b/1b olarak belirlenen genotiplerden sadece 1a/1a ve 1a/1b genotipleri gözlenmiş olup bunların sıklıkları, sırasıyla; koroner arter grubunda %66,7, %33,3. Kontrol grubunda sadece 1a/1a genotipi gözlenmiştir. İki grupta da 1b/1b genotipine rastlanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda HPA-1b homozigotların iskemik kardiyovasküler hastalık ve MI için yüksek risk taşıdığını gösterilmiştir (Moshfegh ve ark., 1999; Böttiger ve ark., 2000). Buna karşılık İsveç'te 369 hastadan (388 kontrol) oluşan bir çalışmada HPA-1 gen mutasyonunun koroner aterosklerozis ya da MI ile ilişkisinin olmadığı açıklanmıştır (Lagercrantz ve ark., 2003). İtalya'da 1518 KAH içeren bir çalışmada da benzer sonuç bulunmuştur (Verdoia ve ark., 2015). Ayrıca ABD'de 510, Almanya'da ise 1211 KAH ile yapılan çalışmalarda HPA-1b allelinin erken MI'ne neden olduğu fakat KAH ile ilişkisi olmadığını raporlamıştır (Zotz ve ark., 2005). Bu farklılıklar çalışılan örnek sayısı ya da etnik köken gibi etmenlerden kaynaklanabilir.

### **5.8.MTHFR C677T ve A1298C Mutasyonları**

MTHFR redüktaz enzim mutasyonları hiperhomosisteinemiye neden olarak koroner ateroskleroza yol açmaktadır. Bu nedenle özellikle 677C>T ve 1298A>C değişimleri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. MTHFR homosisteinin metionine dönüşümü için gerekli karbon sentezini sağlar. Genellikle homosistineminin arteriyoskleroz için bağımsız risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Termolabil formdaki MTHFR aktivitesinde azalma homosistinemiye yol açar. Bu formun KAH'a

yol açtığı belirtilmektedir. Homosistein metabolizması için MTHFR enzimi anahtar rol oynamaktadır. Enzimin çok az eksikliği şiddetli hiperhomosistemiye neden olabilmektedir.

*MTHFR 677C>T* mutasyon sıklığı Amerikada %10-13,1 (Ma ve ark., 1996; Anderson ve ark., 1997; Schwartz ve ark., 1997), Kanada'da %10-14 (Christensen ve ark., 1997), Çin'de %12,3-12,8 (Zheng ve ark., 2000), Slovakya'da %5,8-12,1 (Raslova ve ark., 2001), Avrupa beyazlarında %10-%14 (Chambers ve ark., 2000) olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda *MTHFR C677T* mutasyonu için, CC, CT ve TT olarak belirlenen genotiplerin sıklıkları, sırasıyla; koroner arter grubunda, %60, %20 ve %20; kontrol grubunda, %57,1 , %28,6 ve %14,3 olarak belirlenmiştir. TT genotip sıklığının hasta grubunda kontrol grubuna göre fazla olmasına rağmen örnek sayısının kısıtlı olmasından dolayı KAH ile tam bir ilişkilendirme yapılamamıştır. Ülkemizde Yılmaz ve ark. (2005) tarafından *677C>T* mutasyonu için 79 koroner arter hastası 93 sağlıklı kontrolle yapılan bir çalışmada da bu mutasyon açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ) Yine Kıbrıs'da yapılan 63 MI hastası ile 54 kontrol içeren bir çalışmada homosistein düzeyleri ile *MTHFR C677T* mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (TT genotip sıklığı MI hastalarında %17,7, kontrollerde %19,2,  $p:0,838$ ) ( Eftychiou ve ark., 2012).

*MTHFR 677C>T* mutasyonu ile ilgili olarak Adams ve ark. (1996)'nın İngiltere'de yaptıkları ve 310 MI hastası ve 222 kontrol içeren bir çalışmada *677C>T* mutasyonunun dağılımına bakmışlar ve hastalar ile kontroller arasında bir fark bulamamışlardır ( $p:0,57$ ). Anderson ve ark. (2000) tarafından Amerika'da yapılan ve 1412 KAH hastası içeren bir çalışmada da benzer bir şekilde bu mutasyon ile KAH veya MI sıklığındaki artış arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Amerikan sağlık raporunun verilerinde koroner arter hastası ve kontrol grubunda *MTHFR* mutasyonunda anlamlı bir fark görülmemiştir (Som ve ark., 1998). Güney Afrika'da yapılan ve 1412 koroner arter hastası ile yapılan daha geniş bir çalışmada *677C>T* mutasyonunun total homosistein düzeyleri ile zayıf bir ilişkisi olduğu gösterilirken mortalite ile ilişkisi bulunamamıştır (Ink ve ark., 1998). Knekt ve ark. (2001)'nin

Finlandiya’da yaptıkları ve 166 koroner arter hastası ve 272 kontrol ile yaptıkları bir çalışmada da benzer sonuçlar bulunurken, sadece hastalık öyküsü olan erkeklerde ilerideki koroner olayları öngörmede anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmaların aksine Çin’de yapılan ve 694 hiperlipidemi hastası ile 897 kontrol içeren başka bir çalışmada, TT genotipi taşıyanların daha yüksek plazma homosistein değerine sahip oldukları görülmüştür( $p<0,01$ ) (Liang ve ark., 2014). Benzer bir şekilde Amerika’da yapılan 43 ayrı prospektif ve geriye dönük çalışmanın metaanalizinde artmış homosistein düzeylerinin sağlıklı grupta iskemik kalp hastalığı ve inme ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Christen ve ark., 2000). İsrail’de 48 karotid aterosklerozlu hasta ve 26 kontrolle yapılan bir çalışmada ise İsrail toplumunda da bizim bulgularımıza benzer şekilde hasta ve kontrol grupları arasındaki genotip sıklığındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, bizim sonuçlarımızdan tamamen farklılık göstermektedir ( $p<0,05$ )( Bova ve ark., 1999).

*MTHFR A1298C* mutasyonu ile ilgili olarak bizim çalışmamızda AA, AC, CC olarak belirlenen genotiplerin sıklıkları, sırasıyla; koroner arter hasta grubunda %20,8, %77,1, %2,1, kontrol grubunda ise %5,1, %94,9 olup CC genotipine rastlanmamıştır. *MTHFR A1298C* polimorfizmi AA:AC+DD olacak şekilde hasta ve kontroller karşılaştırıldığında mutant genotip ile KAH arasında bir ilişki bulunmamıştır [ $p=0,06$ , %95 güven aralığında  $OR=0,205$  (0,0421-1,001)].

Ülkemizde Manisa’da yapılan ve 86 koroner arter hastası ile 90 kontrolün dahil edildiği bir çalışmada da KAH ile *A1298C* mutasyonu arasında ilişki bulunmamıştır (Var ve ark., 2009). Ancak ülkemizde Kırıkkale’de yapılan ve 79 konotrunkal kalp hastası çocuk ile 99 kontrol içeren bir çalışmada AC ve CC genotipleri hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve *A1298C* mutasyonu konotrunkal kalp hastalığı için bir risk faktörü olarak belirlenmiştir ( $p<0,05$ ) (Sayin Kocakap ve ark., 2015).

*A1298C* mutasyonunun homosistein düzeyine etkisine bakıldığında da, İsrail’de yapılan ve 377 örnek içeren bir çalışmada 1298 CC homozigot genotipin plazma total homosistein düzeyini etkilemediğini rapor edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Friedman ve ark., 1999). Hollanda’da yapılan başka bir çalışmada da, *A1298C* mutasyonunun tek başına homosistein düzeyine etkisinin görülmediği bildirilmiştir (Lievers ve ark., 2001). Mısır’da ve 80 konjenital kalp hastası ile 80 kontrol üzerinde yapılan bir çalışmada

homosistein düzeyindeki artışın ancak homozigot *MTHFR C677T* mutasyonu için homozigot TT ve *A1298C* mutasyonu için homozigot CC genotipleri birlikte bulunduğu olduğunu göstermişlerdir (Zidan ve ark., 2013). Yine Arap toplumunda yapılan ve 545 KAH hastası ile 625 kontrol içeren bir çalışmada hasta ve kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (Khaled ve ark., 2003).

### **5.9.ACE I/D Mutasyonu**

Plazma Anjiyotensin II düzeyinden sorumlu ACE sentezi, ACE geni yapısındaki değişimlerden yüksek düzeyde etkilenmektedir. ACE geninde en sık gözlenen değişim 16. intronda 287 baz çiftlik bir fragmanın varlığı veya yokluğu ile oluşan insersiyon (I)/delesyon (D) mutasyonudur (ACE I/D) (Rigat ve ark., 1990).

ACE DD genotipinin farklı populasyonlarda sıklığı; İran'da %13,2 (Nikzamid ve ark.,2008), Japonya'da %42 (Mannami ve ark., 2001), İspanya'da %43,6 (Tiret ve ark., 1994), Amerika'da %28,9 (Kretowski ve ark., 2007) olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda, ACE geninde, II, DI ve DD olarak belirlenen genotiplerin sıklıkları, sırasıyla; koroner arter grubunda, %4,7, %69,8, %25,6 kontrol grubunda, %8, %68, %24 olarak belirlenmiştir. DI ve DD genotip sıklıkları iki grupta da benzerdir. Her iki grubun genotip frekansları karşılaştırıldığında bu mutasyon ile KAH arasında bir ilişkinin olmadığı gözlenmiştir [p=0,89, OR= 1,089 (0,346-3,42)].

Ülkemizde Ankara'da bu konuya ilişkin Tokgözoğlu ve ark. (1997)'nin koroner anjiyografileri yapılmış 393 hastada elde ettikleri sonuca göre, KAH, MI olan ve olmayan grupta D alel frekansını sırasıyla 0,61 ve 0,62 bulmuşlardır. Araz ve ark. (2002)'nin Gaziantep'de 152 tip II diabet ve koroner arter hastası olan bireyde ACE genotip farklılığı tespit etmemişlerdir. Her iki çalışmanın bulguları bizim bulgularımıza benzerlik göstermektedir. Buna karşılık İşbir ve ark. (1999)'nin İstanbul'da yaptıkları çalışmada D allelini koroner arter hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (Allel sıklıkları; koroner arter hasta grubunda ACE-D: %62,26, ACE-I %37,73, kontrol grubunda ACE-D: %45,3, ACE-I:%50,79. P<0,01). Yine Akar ve ark. (1998)'nin Ankara'da yaptıkları ve 218 KAH hastası ile 107 kontrol içeren bir başka çalışmada da D alleli hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (D allel sıklığı koroner arter hasta grubunda: %73, kontrol grubunda:%61 p:0,002). Yine ülkemizde yapılan 203

koroner arter hastası ile 140 kontrol içeren bir çalışmada DD genotipi hasta grubunda daha yüksek sıklıkta bulunmuştur (Güney ve ark., 2013).

*ACE I/D* mutasyonu ve MI arasındaki muhtemel ilişki Etude Cas Temoin de l'Infarctus du Myocarde (ECTIM) çalışmasında araştırılmıştır (Cambien, 1996). MI için göreceli risk DD ve II genotipleri karşılaştırıldığında 1,57; ID ve II genotipleri karşılaştırıldığında ise 1,26 elde edilmiştir ( $p < 0.003$ ). Bu dağılımın toplumlar arasında heterojen olmadığı ve 2 allel frekansının farklı kontrol gruplarında benzer olduğu bildirilmiştir. İran'da yapılan ve 676 koroner arter hastası ile 374 kontrol içeren bir çalışmada *ACE I/D* mutasyonunun bizim bulgularımıza benzer bir şekilde KAH gelişimine bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Poorgholi ve ark., 2013).

Fransa'da yapılan bir çalışmada Homozigot II, heterozigot ID ve homozigot DD genotiplerine göre ortalama ACE düzeyleri sırasıyla 299, 393 ve 494  $\mu\text{g/L}$  saptanmıştır ( $P < 0.001$ ) (Rigat ve ark., 1990). Bu değerlerden mutasyonun bireylerarası değişimlerden büyük ölçüde sorumlu olduğu gözlenmektedir. Fransa'da yapılan bir çalışmada Karotid arterin intimal-medial kalınlaşmasının plazma ACE düzeyinin yüksekliği ile arttığı bildirilmiştir (Bonithon-Kopp ve ark., 1994). Almanya'da yapılan ve sol ventrikül hipertrofi hastası 141 kadın ve 149 erkek bireyle yapılan bir çalışmada ACE D taşıyan bireylerde, kalpte yüksek ACE ekspresyonunun AII'nin lokal üretimini arttırabildiği ve koroner kalp hastalığı için güçlü bir risk faktörü olan sol ventrikül hipertrofisine yatkınlıkta rol oynayabileceği öne sürülmüştür (DD genotipi;  $p = 0,003$ ) (Schunkert ve ark., 1994).

#### **5.10. Apo-B R3500Q Mutasyonu**

Çalışmamızda *Apo B R3500Q* mutasyonuna her iki grupta da rastlanmamıştır. Ülkemizde İzmir'de yapılan ve 163 KAH hastası ile 114 kontrol içeren benzer bir çalışmada da her iki grupta da bu mutasyon saptanmamıştır (Eroğlu ve ark., 2008). Lübnan'da yapılan benzer bir çalışmada da, bu mutasyona rastlanmamış olup İsrail, Türkiye ve İspanya gibi Akdeniz ülkelerinde giderek kaybolabileceği bildirilmiştir (Sabbagh ve ark., 2007). Çin'de yapılan ve 373 hiperkolesterolemi hastası içeren bir çalışmada da R3500Q mutasyonuna sadece bir hastada rastlanmıştır (Teng ve ark., 2000).



### **5.11.Apo-E Mutasyonu**

Çalışmamızda E2/3 genotip sıklığı koroner arter hastası grubunda %11,1, kontrol grubunda %0; E3/3 genotip sıklığı koroner arter grubunda %83,3, kontrol grubunda %90,9; E3/4 genotip sıklığı koroner arter grubunda %5,6, kontrol grubunda %9,1 olarak bulunmuştur. Diğer genotiplere iki grupta da rastlanmamıştır. Hasta-kontrol grubumuzda veri kaybı nedeniyle sayısal eşleşme olmadığı için KAH ile ilişkisi anlamlı değildir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak ülkemizde Manisa'da yapılan ve 70 koroner arter hastası çocuk ve 67 kontrol içeren bir çalışmada E4 alleli diğerlerine göre daha yüksek sıklıkta bulunmuş olup, E4 alleli taşıyan çocuklarda T Kol ve LDL düzeyleri de yüksek bulunmuştur (Çiftdoğan ve ark., 2012). Yine Adana'da yapılan ve 107 koroner arter hastası ile 92 kontrol içeren bir çalışmada da benzer şekilde E4 alleli KAH ile ilişkili bulunmuştur (Attila ve ark., 2001).

Çin'de yapılan ve 6634 KAH hastası ile 6394 kontrol içeren bir meta analizde Apo E E4 allelinin KAH için bir risk faktörü olabileceği bulunmuştur (Zhang ve ark., 2014). Yine benzer bir şekilde Hindistan'da yapılan ve 150 koroner arter hastasının dahil edildiği bir çalışmada da E4 allelinin KAH için bir risk faktörü olabileceği bildirilmiştir (Biswas ve ark., 2013). Benzer bir sonuç Finlandiya'da yapılan çalışmada da bulunmuştur (Lehtinen ve ark., 1995). Aksine Yunanistan'da yapılan ve 93 koroner arter hastası içeren bir çalışmada Apo-E E2, E3 ve E4 allel sıklıkları sırasıyla; 0,06, 0,86 ve 0,09 olarak bulunmuştur. T Kol, LDL-K, HDL-K ve trigliserid düzeyleri bu allellere göre farklılık göstermemiştir (Pitsavos ve ark., 2005).

### **5.12.Bileşik Genotipli Hastalar**

Hasta grubunda gözlenen mutasyonlar değerlendirildiğinde, birden fazla mutasyon taşıyan bireylerin olduğu gözlenmiştir. Bunlar arasında; 46 hastanın 26'sında (%56) iki mutasyonun (*ACE ID* ve *MTHFR A1298C*); 15 hastanın 8'inde (%53) üç mutasyonun (*PAI-1*, *MTHFR A1298C* ve *ACE ID*) 15 hastanın 5'inde (%33) dört mutasyonun (*PAI-1*, *MTHFR A1298C*, *HPA-1* *ACE ID*) birlikte taşındığı tespit edilmiştir. Bu bulgular bir kişide birden fazla genin mutasyonunun kümülatif etkisi nedeniyle KAH için tetikleyici olduğunu göstermektedir.

İlgili genlerin kümülatif etkisi KAH riskini arttırabilir. Bunlar arasında ACE'nin rol oynadığı RAS, vücutta homeostatik birçok olayda önemli rol oynayan bir endokrin

sistemdir. Özellikle kan basıncının düzenlenmesinde, su ve elektrolit dengesinin sağlanmasında temel görev üstlenir (Campbel ve ark.,1987). ACE bir dipeptidil peptidaz olup reninin oluşturduğu angiotensin I'in angiotensin II'ye dönüşümünü katalizler. ACE'nin kuvvetli vazokonstriktif oluşu, fibrinolizin azalması, trombosit aktivasyonu ve agregasyonundaki etkileri neticesi tromboembolizme yol açar. ACE mutasyonunun *PAI-1* ile birlikte bir kişide bulunması KAH riski açısından önemlidir. Çünkü ACE, *PAI-1* ve t-PA arasındaki dengeyi iki yolla sağlamaktadır; Anjiotensin I'i Anjiotensin II'ye dönüştürerek, *PAI-1* üretimini artırır, bradikinin yıkımını sağlayarak t-PA üretimini inhibe eder. Lokal olarak *PAI-1* üretiminin artması ve t-PA azalması ile tromboz ve ya ateroskleroza eğilim artar (Huber, 2001). Plazma *PAI-1* düzeyindeki artış, fibrinolitik sisteme zarar verebilir ve fibrin pıhtısının daimi olmasını sağlayabilir. Brezilya'da yapılan ve 138 hemodiyaliz hastası içeren bir çalışmada da ACE D alleli taşıyan hastalarda *PAI-1* düzeyinde anlamlı bir artış olduğunu saptamışlardır (de Carvalho SS ve ark., 2016).

ACE ve HPA genlerinin mutant allellerini birlikte taşıyanlar için bu iki gen ürününün ilişkisine bakıldığında ACE'nin kuvvetli vazokonstriktif oluşunun, trombosit aktivasyonu ve agregasyonundaki etkilerinin yanı sıra HPA-1 geni de trombosit kümesinin oluşumunda anahtar bir rol oynamaktadır. HPA-1'de meydana gelen L33P mutasyonu ve ACE ID allelinin birlikte oluşu trombositlerin damar yüzeylerine yapışmasını, adhezyonunu ve agregasyonunu arttırmakta ve KAH patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (Basar ve ark., 2006; Yılmaz ve ark., 2006).

Hasta grubumuzda özellikle ikiden fazla bileşik genotipe sahip olanların %50'den fazlasında kolesterol yüksek bulunmuştur. Yüksek kolesterolle ilişkili olan damar tıkanıklığı sayısına bakıldığında bu grubun %90'ında koroner anjiyografi ile birden fazla damar tıkanıklığı olduğu, %78'inde sigara kullandığı tespit edilmiştir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

*MTHFR A1298C* mutasyonu için AA:AC+CC genotipleri karşılaştırıldığında mutant genotip ile KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır [p=0,06, %95 güven aralığında OR=0,205 (0.0421-1.001)].

*ACE I/D* mutasyonu için incelenen genotipler DD: II+ID karşılaştırıldığında mutant genotip ile KAH arasında bir ilişki bulunamamıştır [p=0,89, OR= 1,089 (0,346-3,42)].

Çalışılan diğer genlerden *FVL*, *FV1299H/A*, *Protrrombin*, *Faktör XIII*, *Beta Fibrinojen*, *HPA-1* homozigot mutant genotipler gözlenmemiştir. *PAI-1* ve *MTHFR C677T* genlerinde ise tüm genotipler gözlenmiş olup bu sekiz gen için hasta ve kontroller arasında yüzde dağılımları açısından farklılık vardır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Bileşik genotipler açısından değerlendirildiğinde ikili genotip *ACE ID* ve *MTHFR A1298C* %56, üçlü genotip *PAI-1*, *MTHFR A1298C* ve *ACE ID* %53, dörtlü genotip *PAI-1*, *MTHFR A1298C*, *HPA-1*, *ACE ID* %33'dür.

Bileşik genotip veya birden fazla gende mutasyon taşıyan KAH hastalarında diğerlerine göre yüksek kolesterol, tıkanık damar sayısı ve sigara kullanımının yüksek oranda olduğu saptanmıştır.

Bileşik genotiplerin gözlendiği kişilerde mutant genotiplerin ve çevresel faktörlerin kümülatif etkisinin KAH için tetikleyici olabileceğini göstermektedir. Diğer genlere ait elde edilen mutasyonların hasta ve kontrollerde yüzde dağılımları açısından farklılık gözlenmesine rağmen hasta ve kontrol grubunda *ACE* ve *MTHFR A1298C* geni hariç sayısal eşleşme olmadığı için anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Üzerinde çalışılan 12 gene ait mutasyon analizlerinde hasta ve kontrol sayısının genişletilmesi durumunda KAH için daha belirleyici sonuçların elde edilebileceği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Abboud N, Ghazouani L, Saidi S, Ben-Hadj-Khalifa S, Addad F, Almawi WY, Mahjoub T. Association of PAI-1 4G/5G and -844G/A gene polymorphisms and changes in PAI-1/tissue plasminogen activator levels in myocardial infarction: a casecontrol study. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2010;14:23–27.
- Adams M, Smith PD, Martin D, Thompson JR, Samani NJ. Genetic analysis of thermolabile metylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for myocardial infarction. *Q J Med*. 1996;89:437-444.
- Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:484-492
- Akar N, Akar E, Dalgin G, Sözüöz A, Omürlü K, Cin S. Frequency of Factor V (1691 G --> A) mutation in Turkish population. *Thromb Haemost*. 1997;78:1527-1528.
- Akar N, Aras O, Omurlu K, Cin S: Deletion polymorphism at the angiotensin-converting enzyme gene in Turkish patients with coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 1998;58:49149-5.
- Akar N, Donmez B, Deda G. FXIII gene Val34Leu polymorphism in Turkish children with cerebral infarct. *J Child Neurol*. 2007;22:222-224.
- Aleksic N, Ahn C, Wang YW, Juneja H, Folsom AR, Boerwinkle E and, Wu K. Factor XIII A Val34Leu Polymorphism Does Not Predict Risk of Coronary Heart Disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. 2002;22:348-352.
- Alhenc-Gelas M, Nicaud V, Gandrille S, van Dreden P, Amiral J, Aubry ML, Fiessinger JN, Emmerich J, Aiach M. The factor V gene A4070G mutation and the risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1999;81:193-197.
- Alkhiary W, Azzam H, Yossof MM, Aref S, Othman M, El-Sharawy S. Association of Hemostatic Gene Polymorphisms With Early-Onset Ischemic Heart Disease in Egyptian Patients. 2015; DOI: 10.1177/1076029615572466.
- Anderson JL, Muhlestein JB, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE, Pearson RR. Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation*. 2000;102:1227-1232.
- Anderson JL, King GJ, Thomson MJ, Todd M, Bair TL, Muhlestein JB, Carlquist JF. A mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is not associated with increased risk for coronary artery disease or myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30:1206-1211.

- Andreassi MG. Coronary atherosclerosis and somatic mutations: an overview of the contributive factors for oxidative DNA damage. *Mutat Res.* 2003;543:67-86.
- Angeline HT, Bentley A, Arnold BH, Richard JM, Harsha AM, Nirmala J, Gregory JT. Prevalence of the Factor V G1691A and the Factor II/prothrombin G20210A gene polymorphisms among Tamilians. *Exp Mol Pathol.* 2005;79:9-13.
- Araz M, Aynacıoğlu S, Okan V, Akdemir I, Aktaran S. Angiotensin-converting enzyme gene and coronary artery disease in Turkish type II diabetic patients *Acta Cardiol.* 2002;57:265-269.
- Ariens RA, Philippou H, Nagaswami C, Weisel JW, Lane DA, Grant PJ. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. *Blood.* 2000;96:988-995.
- Assman G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerosis and coronary artery disease. (the PROCAM experience). *Am J Cardiol* 1992;70(7):733-737.
- Assmann G. Pro and con: high-density lipoprotein, triglycerides, and other lipid subfractions are the future of lipid management. *Am J Cardiol.* 2001;87:2B-7B.
- Attila G, Acartürk E, Eskandari G, Akpınar O, Tuli A, Kanadaşlı M, Kayrın L. Effects of apolipoprotein E genotypes and other risk factors on the development of coronary artery disease in Southern Turkey. *Clin Chim Acta.* 2001;312(1-2):191-196.
- Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol.* 1998;81:7B-12B.
- Bagley PJ, Jacob S. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Med Sci.* 1998;95:13217-13220.
- Bailey LB, Duhaney RL, Maneval DR, Kauwell GP, Quinlivan EP, Davis SR, Cuadras A, Hutson AD, Gregory JF 3rd. Vitamin B-12 status is inversely associated with plasma homocysteine in young women with C677T and/or A1298C methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *J Nutr.* 2002;132:24665-24709.
- Balkestein EJ, Staessen JA, Wang JG, van Der Heijden-Spek JJ, Van Bortel LM, Barlassina C, Bianchi G, Brand E, Herrmann SM, Struijker-Boudier HA. Carotid and femoral artery stiffness in relation to three candidate genes in a white population. *Hypertension.* 2001;38(5):1190-1197.
- Ballantyne CM, Andrews TC, Hsia JA, Kramer JH, Shear C, for the ACCESS Study Group. Correlation of non-high-density lipoprotein cholesterol with apolipoprotein B: effect of 5 hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on non-high-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol.* 2001;88:265-269.

- Balogh I, Szôke G, Kárpáti L, Wartiovaara U, Katona E, Komáromi I, Haramura G, Pfliegler G, Mikkola H, Muszbek L. Val34Leu polymorphism of plasma factor XIII: Biochemistry and epidemiology in familial thrombophilia. *Blood*. 2000;96:2479-2286.
- Banerjee AK, Pearson J, Gilliland EL, Goss D, Lewis JD, Stirling Y, Meade TW. A six year prospective study of fibrinogen and other risk factors associated with mortality in stable claudicants. *Thromb Haemost*. 1992;68:261-263.
- Bargahi N, Farajzadeh M, Poursadegh-Zonouzi A, Farajzadeh D. Prevalence of Thrombophilic Gene Polymorphisms in an Azari Population of Iran. *Hematol Rep*. 2014;6(2):5321.
- Basar Y, Ayalp K. Venöz Tromboembolizmin Plazma ACE Düzeyleri ve ACE gen Polimorfizmi ile İliksisi. *Turkish J Vasc Surg*. 2006;15(1):1-6.
- Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, Cambou J, Scarabin P, Bara L, Green F, Cambien F. b-Fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction: the ECTIM study. *Circulation*. 1996;93:440-449.
- Bernardi F, Faioni EM, Castoldi E, Lunghi B, Castaman G, Sacchi E, Mannucci PM. A factor V genetic component differing from factor V R506Q contributes to the activated protein C resistance phenotype. *Blood*. 1997;90:1552-1557.
- Biswas S, Ghoshal PK, Halder B, Ganguly K, Das Biswas A, Mandal N. Apolipoproteins AI/B/E gene polymorphism and their plasma levels in patients with coronary artery disease in a tertiary care-center of Eastern India. *Indian Heart J*. 2013;65(6):658-665.
- Bittner V, Hardison R, Kelsey SF, Weiner BH, Jacobs AK, Sopko G. Non-high density lipoprotein cholesterol levels predict five-year outcome in the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI). *Circulation*. 2002; 106(20):2537-2542.
- Blankenhorn DH, Selzer RH, Crawford DW et al. Beneficial effects of colestipol-niacin therapy on the common carotid artery. Two- and four-year reduction of intima-media thickness measured by ultrasound. *Circulation*. 1993;88:20-28.
- Board PG. Genetic polymorphism of the A subunit of human coagulation factor XIII. *Am J Hum Genet*. 1979;31:116-124.
- Bonithon-Kopp C, Ducimetière P, Touboul PJ, Fève JM, Billaud E, Courbon D, Héraud V. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening. *Circulation*. 1994;89:952-954.
- Boroumand M, Pourgholi L, Ziaee S, Anvari MS, Jalali A, Goodarzynejad H. The association between Factor V Leiden with the presence and severity of coronary artery disease. *Clin Biochem*. 2014;47(6):356-360.

- Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: *Am J Epidemiol.* 2000;151(7):862-778.
- Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA.* 1995;274:1049-1057.
- Bova I, Chapman J, Sylantiev C, Korczyn AD, Bornstein NM. The A677C methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and carotid atherosclerosis. *Stroke.* 1999;30:2180-2182.
- Böttiger C, Kastrati A, Koch W, Mehilli J, Seidl H, Schömig K, von Beckerath N, Schömig A. HPA-1 and HPA-3 polymorphisms of the platelet fibrinogen receptor and coronary artery disease and myocardial infarction. *Thromb Haemost.* 2000;83:559-562.
- Brown BG, Zhao XQ, Sacco DE, Albers JJ. Lipid lowering and plaque regression: New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation* 1993;87(6):1781-1791.
- Brown K, Luddington R, Williamson D, Baker P, Baglin T. Risk of venous thromboembolism associated with a G to A transition at position 20210 in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene. *Br J Haematol.* 1997;98(4):907-909.
- Brown MS, Goldstein JL. How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci Am* 1984;251:58-66.
- Buyru N, Altınışık J, Somay G, Ulutin T. Factor V Leiden mutation in cerebrovascular disease. *Clin. Appl. Thrombosis Hemostasis.* 2005;11(2):339-342.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature.* 1992;359(6396):641-4.
- Cambien F: Insight into the genetic epidemiology of coronary heart disease. *Ann Med.* 1996;28:465-470.
- Campbell D.J. Tissue renin-angiotensin system: sites of angiotensin formation. *J.Cardiovasc. Pharmacol.* 1987;7, S1-S8.
- Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, Patil N, Shaw N, Lane CR, Lim EP, Kalyanaraman N, Nemesh J, Ziaugra L, Friedland L, Rolfe A, Warrington J, Lipshutz R, Daley GQ, Lander ES. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *National Genetics.* 1999;22(3): 231-238.
- Carlson LA, Bottiger LE, Ahfeldt PE. Risk factors for myocardial infarction in the Stockholm prospective study. A 14-year follow-up focussing on the role of plasma triglycerides and cholesterol. *Acta Med Scand.* 1979;206:351-60.

- Castelli WP, Garrison RJ, Dawber TR, McNamara PM; Feinleib M, Kannel WB. Te fitler cigarette and coronary heart disease: The Framingham study. *Lancet* 1981;2: 109-113.
- Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease. The Framingham Heart Study. *Am J Med.* 1984;76:4-12.
- Castoldi E, Rosing J, Girelli D, Hoekema L, Lunghi B, Mingozzi F, Ferraresi P, Friso S, Corrocher R, Tans G, Bernardi F. Mutations in the R2 FV gene affect the ratio between the two FV isoforms in plasma. *Thromb Haemost.* 2000;83:362-365.
- Catto AJ, Kohler HP, Bannan S, Stickland M, Carter A, Grant PJ. Factor XIII Val34Leu: A novel association with primary intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 1998;29:813-816.
- Chambers JC, Ireland H, Thompson E, Reilly P, Obeid OA, Refsum H, Ueland P, Lane DA, Kooner JS. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C\_T mutation and coronary heart disease risk in UK Indian Asians. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2448-2452.
- Cheng SY, Zhao YD, Zeng JW, Chen XY, Wang RD. A polymorphism (455G>A) in the  $\beta$ -fibrinogen gene is associated with an increased risk of cerebral infarction in the Chinese population: A meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015;16(2):399-408.
- Chiodini BD, Barlera S, Franzosi MG, Beceiro VL, Inrona M, Tognoni G. APO B gene polymorphisms and coronary artery disease: A meta-analysis. *Atherosclerosis* 2003;167:355-366.
- Chmielewska J, Ranby M, Wiman B. Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb Res.* 1983;31:427-36.
- Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, Hennekens CH. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med.* 2000;160:422-434.
- Christensen B, Frosst P, Lussier-Cacan S, Selhub J, Goyette P, Rosenblatt DS, Genest J Jr, Rozen R. Correlation of a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with plasma homocysteine in patients with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17,569-573.
- Ciftdoğan DY, Coskun S, Ulman C, Tıkız H. The association of apolipoprotein E polymorphism and lipid levels in children with a family history of premature coronary artery disease. *J Clin Lipidol.* 2012;6(1):81-87.
- Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med.* 1991;324:1149-1155.
- Corral J, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Heras I, Vicente V. The venous thrombosis risk factor 20210 A allele of the prothrombin gene is not a major risk factor for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol.* 1997;99(2):304-307.



- Cumming AM, Keeney S, Salden A, Bhavnani M, Shwe KH, Hay CR. The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a UK anticoagulant clinic population. *Br J Haematol.* 1997;98(2):353-355.
- Dai Y, Gao RL, Ye Y, Wu YJ, Chen JL. The 4G/5G genetic polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is not associated with plasma PAI-1 antigen level and the risk of coronary artery disease in Chinese. *Chinese Circulation Journal.* 2001;16:275-278.
- Dalmon J, Laurent M, Courtois G. The human b-fibrinogen promoter contains hepatocyte nuclear factor 1-dependent interleukin-6-responsive element. *Mol Cell Biol.* 1993;13(2):1183-1193.
- Daly SF, Molloy AM, Mills JL, Lee YJ, Conley M, Kirke PN, Weir DG, Scott JM. The influence of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. *Brit J Obstet Gynaec.* 1999;106:1214-1218.
- Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-i locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1991;11:183-90.
- de Carvalho SS, Simões E Silva AC, Sabino Ade P, Evangelista FC, Gomes KB, Dusse LM, Rios DR. Influence of ACE I/D Polymorphism on Circulating Levels of Plasminogen Activator Inhibitor 1, D-Dimer, Ultrasensitive C-Reactive Protein and Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 in Patients Undergoing Hemodialysis. 2016;11(3):1-11.
- De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Casorelli I, Rossi E, Molinari M, Servidei S, Tonali PA, Leone G. Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood.* 1998;91:3562-3565.
- Doggen CJ, Bertina RM, Cats VM, Rosendaal FR. Fibrinogen polymorphisms are not associated with the risk of myocardial infarction. *Br J Haematol.* 2000;110:935-938.
- Doggen CJ, de Visser MC, Vos HL, Bertina RM, Manger Cats Rosendaal FR. The HR2 haplotype of factor V is not associated with the risk of myocardial infarction. *Thromb Haemost.* 2000;84:815-818.
- Doggen CJ, Cats VM, Bertina RM, Rosendaal FR. Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors. *Circulation.* 1998;97:1037-1041.
- Dönmez Y, Kanadası M, Tanrıverdi K, Demir M, Demirtaş M, Çaylı M, Alhan C, Baslamışlı F. Prothrombin 20210GA and factor V Leiden mutations in patients less than 55 years old with myocardial infarction. *Jpn Heart J.* 2004;45(3):505-512.
- Eftychiou C, Antoniadou L, Makri L, Koumas L, Costeas PA, Kyriakou E, Nicolaidou E, Papadogiannis D. Homocysteine levels

- and MTHFR polymorphisms in young patients with acute myocardial infarction: a case control study. *Hellenic J Cardiol.* 2012;53(3):189-194.
- Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC. Apolipoprotein E Polymorphism and Cardiovascular Disease. A HuGE Review, *American Journal of Epidemiology.* 2002;155:487-495.
- Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res* 1992;33(11):1569-1582.
- Ercan B, Tamer L, Sucu N, Pekdemir H, Camsari A, Atik U. Factor V Leiden and prothrombin G20210A gene polymorphisms in patients with coronary artery disease. *Yonsei Med J.* 2008;49:237-243.
- Eriksson P, Kallin B, Hoofst 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 USA.* 1995;92(6):1851-1855.
- Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med.* 1993;118:956-963.
- Eroğlu Z, Selvi N, Kosova B, Biray C, Kumral E, Topçuoğlu N, Kayıkçioğlu M. Absence of apolipoprotein B-3500 mutation in Turkish patients with coronary and cerebrovascular atherosclerosis. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2008;8(1):7-9.
- Estelles A, Tormo G, Aznar J, Espania F, Tormo V. Reduced fibrinolytic activity in coronary heart disease in basal conditions and after exercise. *Thromb Res.* 1985;40:373-83.
- Faioni EM, Castaman G, Asti D, Lussana F, Rodeghiero F. Association of factor V deficiency with factor V HR2. *Haematologica.* 2004;89:19-200.
- Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C, Cavallari E, Castoldi E, Mascoli F, Ardissino D, Palareti G, Bernardi F. The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):2418-2422.
- Festa A, D' Agostino R Jr, Rich SS, Jenny NS, Tracy RP, Haffner SM. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator inhibitor-1 levels in blacks, Hispanics and non-Hispanic whites: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation.* 2003;107:2422-2427.
- Fielding JE, Phenov KJ. Health effects of involuntary smoking. *N Eng J Med.* 1988; 319:1452-1488.
- Flavahan NA. Atherosclerosis or lipoprotein induced endothelial dysfunction: Potential mechanisms underlying reduction in EDHF/ nitric oxide activity. *Circulation.* 1992;85(5):1927-1938.
- Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassman G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol.* 2000;13(1):20-33.

- Franco RF, Trip MD, ten Cate H, van den Ende A, Prins MH, Kastelein JJ, Reitsma PH. The 20210 G3A mutation in the 3' untranslated region of the prothrombin gene and the risk for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol.* 1999;104:50-54.
- Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma: Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J.* 1991;277:133-138.
- Friedman G, Goldschmidt N, Friedlander Y, Ben-Yehuda A, Selhub J, Babaey S, Mendel M, Kidron M, Bar-On H. Common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: Association with plasma total homocysteine and folate concentrations. *J Nutr.* 1999;129:656-661.
- Fuster V, R. Alexander W, O'Rourke R. *Hurt's The Heart.* 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 1. Basım. 2002; 1065- 1109.
- Gardemann A, Arsic T, Katz N, et al. The factor II G20210A and factor V G1691A gene transitions and coronary heart disease. *Thromb Haemost.* 1999;81:208-213.
- Genest J Jr, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner JL, Silberman SR, Anderson KM, Wilson PW, Salem DN, Schaefer EJ. Lipoprotein cholesterol, apolipoprotein A-I and B and lipoprotein (a) abnormalities in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1992;19:792-802.
- Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, Daley J, Deedwania PC, Douglas JS, Ferguson TB Jr, Fihn SD, Fraker TD Jr, Gardin JM, O'Rourke RA, Pasternak RC, Williams SV, Gibbons RJ, Alpert JS, Antman EM, Hiratzka LF, Fuster V, Faxon DP, Gregoratos G, Jacobs AK, Smith SC Jr ACC/AHA Guideline Update for the Management of Patients With Chronic Stable Angina Summary Article. A Report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. (Committee on the Management of Patients With Chronic Stable Angina) *Circulation* 2003;107(1):149-158.
- Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease: Mechanisms and risk. *JAMA.* 1995;273: 1047-1053.
- Golenia A, Chrzanowska-Wasko J, Jagiella J, Wnuk M, Ferens A, Klimkowicz-Mrowiec A, Adamski M, Cieccko-Michalska I, Slowik A. The  $\beta$ -fibrinogen -455G/A gene polymorphism and the risk of ischaemic stroke in a Polish population. *Neurol Neurochir Pol.* 2013;47(2):152-156.
- Gordon DJ, Probsfelt JL, Garrison JW, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR Jr, Bangdiwala S, Tyroler HA. High density lipoprotein cholesterol

- and cardiovascular disease: Four perspective American Studies. *Circulation* 1989;79(1):8-15.
- Gordon T, Kannel WB, McGee D, Dawber TR. Death and coronary attacks in men after giving up cigarette smoking : A report from the Framingham study. *Lancet*. 1974 ;2:1345-1348.
- Grundy SM, Vega GL. Two different views of the relationship of hypertriglyceridemia to coronary heart disease: Implications for treatment. *Arch Intern Med*. 1992;152(1):28-34.
- Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S Jr, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple risk factor assessment equations: A statement for healthcare professionals from the AHA and ACC. *Circulation* 1999;100:1481-1492.
- Grundy SM, Wilhelmsen L, Rose G, Campbell RW, Assman G. Coronary heart disease in high-risk populations: Lessons from Finland. *Eur Heart J* 1990;11(5):462-471.
- Grundy SM. HMG-CoA reductase inhibitors for treatment of hypercholesterolemia. *N Engl J Med*.1988;319(1):24-33.
- Grundy SM. The optimal ratio of fat-to carbohydrate in the diet. *Annu Rev Nutr* 1999;19:325-341.
- Guney AI, Ergeç D, Kirac D, Ozturhan H, Caner M, Koc G, Kaspar C, Ulucan K, Agirbasli M. Effects of ACE polymorphisms and other risk factors on the severity of coronary artery disease. *Genet Mol Res*. 2013;12(4):6895-6906.
- Gurgey A, Rustemov R, Parlak H, Balta G. Prevalence of factor V Leiden and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations in Azerbaijan. *Thromb Haemost*. 1998;80:520-521.
- Gurgey A, Mesci L, Renda Y, Olcay L, Kocak N, Erdem G. Factor V Q 506 mutation in children with thrombosis. *Am J Hematol*. 1996;53(1):37-39.
- Gül A, Ozbek U, Oztürk C, Inanç M, Koniçe M, Özçelik T. Coagulation factor V gene mutation increases the risk of venous thrombosis in Behçet's disease. *Br J Rheumatol*. 1996;35:1178-1180.
- Gül İ. Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Beta Fibrinojen 445G/A ,Faktör V 1691G/A ve 1299H/A, Glikoprotein IIb/IIIa PL A1/A2 Polimorfizmleri. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri, Tıpta Uzmanlık Tezi.2006;37.
- Haffner SM, Alexander CM, Cook TJ, Boccuzzi SJ, Musliner TA, Pedersen TR, Kjekshus J, Pyörälä K. Reduced coronary events in simvastatin-treated patients with coronary heart disease and diabetes or impaired fasting glucose levels. Subgroup analysis in the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Arch Intern Med*. 1999;159: 2661-2667.

- Hakan Kültürsay, Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Korunma Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. 2001;101-190.
- Haliloğlu B. Açıklanamayan tek bir 3. trimester fetal kayıp olgularında Faktör V Leiden ve protrombin gen mutasyonunun yeri. Uzmanlık tezi. Zeynep Kamil Kadın Hastalıkları ve Çocuk Hastanesi. 2004;31.
- Hamsten A, Walldius G, Szamosi A, Dahlen G, de Faire H. Relationship of angiographically defined coronary artery disease to serum lipoproteins and apolipoproteins in young survivors of myocardial infarction. *Circulation*. 1986;73:1097-1110.
- 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;313:1557-63.
- He M, Guo H, Yang X, Zhou L, Zhang X, Cheng L, Zeng H, Hu FB, Tanguay RM, Wu T. Genetic variations in HSPA8 gene associated with coronary heart disease risk in a Chinese Population. *PLoS ONE*. 2010;5(3):e9684. doi: 10.1371/journal.pone.0009684.
- Hermanson B, Omenn GS, Kronmal RA, Gersh BJ. Beneficial six-year outcome of smoking cessation in older men and women with coronary artery disease: Results from the CASS Registry. *N Eng J Med*. 1988;319(21):1365-1369.
- Hillarp A, Zoller B, Svensson PJ, Dahlback B. The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1997;78(3):990-992.
- Hoffstedt J, Andersson IL, Persson L, Isaksson B, Arner P. The common 675 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is strongly associated with obesity. *Diabetologia*. 2002;45:584-587.
- Homberger A, Linnebank M, Winter C, Willenbring H, Marquardt T, Harms E, Koch HG. Genomic structure and transcript variants of the human methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Hum Genet*. 2000;8:725-729.
- Huang Y, Liu XQ, Rall SC Jr, Taylor JM, von Eckardstein A, Assmann G, Mahley RW. Overexpression and accumulation of apolipoprotein E as a cause of hypertriglyceridemia. *J Biol Chem*. 1998;273:26388-263893.
- Huber K. Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 (Part One): Basic Mechanisms, Regulation, and Role for Thromboembolic Disease. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2001; 11(3):183-193.
- Humphries SE, Cook M, Dubowitz M, Stirling Y, Meade TW. Role of genetic variation at the fibrinogen locus in determination of fibrinogen concentrations. *Lancet*. 1987;1:1452-1455 .
- Inbal A, Freimark D, Modan B, Chetrit A, Matetzky S, Rosenberg N, Dardik R, Baron Z, Seligsohn U. Synergistic Effects of Prothrombotic

- Polymorphisms and Atherogenic Factors on the Risk of Myocardial Infarction in Young Males. *Blood*. 1999;93(7):2186-2190.
- Ink JB, Fehily AM, Pickering J, Elwood PC, Vermaak WJ. Homocysteine and ischaemic heart disease in the Caerphilly cohort. *Atherosclerosis*. 1998;140:349-356.
- Isbir T, Yılmaz H, Agachan B, Aydın M, Isbir CS: Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and coronary artery disease. *IUBMB Life*. 1999;48:205-207.
- Islam MS, Lehtimäki T, Juonala M, Kähönen M, Hutri-Kähönen N, Kainulainen K, Miettinen H, Taittonen L, Kontula K, Viikari JS, Raitakari OT. Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) and angiotensinogen (AGT) genes and their associations with blood pressure and carotid artery intima media thickness among healthy Finnish young adults the Cardiovascular Risk in Young Finns Study *Atherosclerosis* 2006;188(2):316–322.
- Isordia-Salas I, León-Miranda A, Sainz IM, Reyes-Maldonado E, Borrayo-Sánchez G. Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevation acute myocardial infarction in young patients. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62:365–372.
- İliçin G, Biberöglü K, Süleymanlar G, Ünal S. Güneş Kitabevi, 2. baskı, 2003;449-474.
- Jadaon MM, dashti AA. HR2 haplotype in Arab population and patients with venous thrombosis in Kuwait. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1467-1471.
- Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation*. 1998;97:1029-1036.
- Jiang B, Ryan KA, Hamedani A, Cheng Y, Sparks MJ, Koontz D, Bean CJ, Gallagher M, Hooper WC, McArdle PF, O'Connell JR, Stine OC, Wozniak MA, Stern BJ, Mitchell BD, Kittner SJ, Cole JW. Prothrombin G20210A mutation is associated with young-onset stroke: the genetics of early-onset stroke study and meta-analysis. *Stroke*. 2014;45(4):961-967.
- Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: An inherited risk factor for coronary artery disease. *J Hum Genet*. 1991;48:536-545.
- Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, McNamara PM. Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease: the Framingham study. *Ann Intern Med*. 1971;74:1-12.
- Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. *JAMA*. 1987; 258:1183-1186.
- Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA* 1996; 275:1571–1576.

- Kaya H, Karkucak M, Salifoğlu H, Torun D, Kozan S, Tunca Y. The investigation of angiotensin converting enzyme I/D and plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphisms in venous thromboembolism patients. *Tuberk Toraks*. 2013;61(2):88-95.
- Khaled KA, Wyngaard CA, Dzmiri N. Prevalence and role of methylenetetrahydrofolate reductase 677 CT and 1298 AC polymorphisms in coronary artery disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127:1349-1352.
- Kim Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: A paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev*. 2000;58:205-217.
- Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR studies collaboration group. MTHFR 677C→T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA*. 2002;288:2023–2031.
- Knekt P, Reunanen A, Alfthan G, Heliovaara M, Rissanen H, Marniemi J, Aromaa A. Hyperhomocystinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease? *Arch Intern Med*. 2001;161:1589-1594.
- Koçak N, Özen F, Yıldırım EM, Özdemir Ö. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (Mthfr) C677T ve A1298C Gen Polimorfizmleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2009;16(3):157-161.
- Kohler HP, Mansfield MW, Clark PS, Grant PJ. Interaction between insulin resistance and factor XIII Val34Leu in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost*. 1999;82:1202-1203.
- Komsuoğlu B. *Kardiyoloji, Trabzon. Karadeniz Üniversitesi Basımevi*. 1985:89-107.
- Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briet E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1994;71:719-722.
- Kretowski A, McFann K, Hokanson JE, Maahs D, Kinney G, Snell-Bergeon JK, Wadwa RP, Eckel RH, Ogden L, Garg S, Li J, Cheng S, Erlich HA, Rewers M. Polymorphisms of the renin–angiotensin system genes predict progression of subclinical coronary atherosclerosis. *Diabetes*. 2007;56:863-871.
- Kupherminc MJ, Peri H, Zwang E, Yaron Y, Wolman I, Eldor A. High prevalence of the prothrombin gene mutation in women with intrauterine growth retardation, abruptio placenta, and second trimester loss. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79(11):963-967.
- Kvasnicka J, Hájková J, Bobčíková P, Kvasnicka T, Dusková D, Poletínová S, Kieferová V. Prevalence of thrombophilic mutations of FV Leiden, prothrombin G20210A and PAI-1 4G/5G and their combinations in a group of 1450 healthy middle-aged individuals in the Prague and Central Bohemian regions (results of FRET real-time PCR assay). *Cas Lek Cesk*. 2012;151(2):76-82.

- Lagercrantz J, Bergman M, Lundman P, Tornvall P, Hjemdahl P, Hamsten A, Eriksson P. No evidence that the PLA1/PLA2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa is implicated in angiographically characterized coronary atherosclerosis and premature myocardial infarction. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2003;14:749-53.
- Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ, Cantin B, Bernard PM, Dagenais GR, Després JP. Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart disease during a five-year follow-up of men in the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation*. 1996;94:273-278.
- Lane, DA, Grant, PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood*. 2000; 95:1517-1532.
- Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ* 1994; 308(6925):367-372.
- Lee IM, Hsieh CC, Paffenbarger RS Jr. Exercise intensity and longevity in man. The Harvard Alumni Health Study. *JAMA*. 1995;273(15):1179-1184.
- Lehtinen S, Lehtimäki T, Sisto T, Salenius JP, Nikkilä M, Jokela H, Koivula T, Ebeling F, Ehnholm C. Apolipoprotein E polymorphism, serum lipids, myocardial infarction and severity of angiographically verified coronary artery disease in men and women. *Atherosclerosis*. 1995;114(1):83-91.
- Lendon CL, Davies, MJ, Born, GV, Richardson PD. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophages density is increased. *Atherosclerosis*. 1991;87: 87-90.
- Lenzen HJ, Assmann G, Buchwalsky R, Schulte H. Association of apolipoprotein E polymorphism, low-density lipoprotein cholesterol, and coronary artery disease. *Clin Chem*. 1986;32:778-781.
- Li X, McGue M, Gottesman, II. Two sources of genetic liability to depression: interpreting the relationship between stress sensitivity and depression under a multifactorial polygenic model. *Behavior Gen* .2012;42(2):268-277.
- Liang R, Zhou Y, Xie J, Lv W, Kang B, Liang Y, Chen Y, Li Y. Association of C677T gene polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and plasma homocysteine level with hyperlipidemia. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2014;34(8):1195-1198.
- Lievers KJ, Boers GH, Verhoef P, den Heijer M, Kluijtmans LA, van der Put NM, Trijbels FJ, Blom HJ. A second common variant in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine and cardiovascular disease risk. *J Mol Med (Berl)*. 2001;79(9):522-528.
- Lin KG, Taib MNM, Kandiah M, Hashim N, Hashim JK, Nor M, Don S. Appraising the current food and nutrition situation with policy implications. *Mal J Nutr*. 1998;4:91-106.



- Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J, Malinow MR, Willett WC, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians *Circulation*. 1996;94:2410-2416.
- Mahley RL. Apolipoprotein E: Cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*. 1988;240:622-629.
- Major DA, Sane DC, Herrington DM. Cardiovascular implications of the factor V Leiden mutation. *Am Heart J*. 2000;140:189-195.
- Makris M, Preston FE, Beauchamp NJ, Cooper PC, Daly ME, Hampton KK, Bayliss P, Peake IR, Miller GJ. Coinheritance of the 20210A allele of the prothrombin gene increases the risk of thrombosis in subjects with familial thrombophilia. *Thromb Haemost*. 1997;78(6):1426-1429.
- Mannami T, Katsuya T, Baba S, Inamoto N, Ishikawa K, Higaki J, Ogihara T, Ogata J. Low potentiality of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism as a useful predictive marker for carotid atherogenesis in a large general population of a Japanese city: the Suita study. *Stroke*. 2001;32:1250-1256.
- Manninen V, Huttunen JK, Heinonen OP, Tenkanen L, Frick MH. Relationships between aseline lipid and lipoprotein values and the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart study. *Am J Cardiol* 1989;63(16):42H-47H.
- Many A, Elad R, Yaron Y, Eldor A, Lessing JB, Kuphermanc MJ. Third trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *Obstet Gynecol*. 2002; 99(5):684-687.
- Margaglione M, Bossone A, Coalizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E, Di Minno G. FV HR2 haplotype as additional inherited risk factor for deep vein thrombosis in individuals with a high-risk profile. *Thromb Haemost*. 2002;87:32-36.
- Matsubara Y, Murata M, Isshiki I, Watanabe R, Zama T, Watanabe G, Watanabe K, Ikeda Y. Genotype frequency of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G polymorphism in healthy Japanese males and its relation to PAI-1 levels. 1999;69(1):43-47.
- McGinnis JM, Foege W. Actual causes of death in United States. *JAMA*. 1993;270(18):2207-2212.
- Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North WR, Haines AP, Stirling Y, Imeson JD, Thompson SG. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*. 1986; 2:533-537.
- Mikkola H, Muszbek L, Haramura G, Hamalainen E, Jalanko A, Palotie A. Molecular mechanisms of mutations in factor XIII A-subunit deficiency: in vitro expression in COS-cells demonstrates intracellular degradation of the mutant proteins. *Thromb Haemostasis*. 1997;78:1068-1074.

- Mikkola H, Muszbek L, Laiho E, Syrjala M, Hamalainen E, Haramura G, Salmi T, Peltonen L, Palotie A. Molecular mechanism of a mild phenotype in coagulation factor XIII (FXIII) deficiency: a splicing mutation permitting correct splicing of FXIII A-subunit mRNA. *Blood*. 1997;89:1279-1287.
- Mikkola H, Syrjala M, Rasi V, Vahtera E, Peltonen L, Palotie A. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. *Blood*. 1994;84:517-525.
- Mikkola H, Yee VC, Syrjala M, Seitz R, Egbring R, Petrini P, Ljung R, Ingerslev J, Teller DC, Peltonen L, Palotie A. Four novel mutations in deficiency of coagulation factor XIII: consequences to expression and structure of the A-subunit. *Blood* 1996;87:141-151.
- Miller GJ, Bauer KA, Barzegar S, Cooper JA, Rosenberg RD. Increased activation of the hemostatic system in men at high risk of fatal coronary heart disease. *Thromb Haemost*. 1996;75:767-771.
- Molloy AM, Daly S, Mills JL, Kirke PN, Whitehead AS, Ramsbottom D, Conley MR, Weir DG, Scott JM. Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: Implications for folate intake recommendations. *Lancet*. 1997;49(11):1591-1593.
- Morita H, Taguchi J, Kurihara H, Kitaoka M, Kaneda H, Kurihara Y, Maemura K, Shindo T, Minamino T, Ohno M, Yamaoki K, Ogasawara K, Aizawa T, Suzuki S, Yazaki Y. Genetic polymorphism of 5,10-methylene tetrahydrofolate reductase as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation*. 1997;95:2032-2036.
- Moshfegh K, Wuillemin WA, Redondo M, Lämmle B, Beer JH, Liechti-Gallati S, Meyer BJ. Association of two silent polymorphisms of platelet glycoprotein Ia/IIa receptor with risk of myocardial infarction: a case-control study. *Lancet*. 1999;353:351-354.
- Motulsky AG. Nutritional ecogenetics: homocysteine-related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defects, and folic acid. *Am J Hum Genet*. 1996;58:17-20.
- Munger MA, Hawkins DW. Atherothrombosis: epidemiology, pathophysiology, and prevention. *J Am Pharm Assoc* 2004;44:5-12.
- Muszbek L. Deficiency causing mutations and common polymorphisms in the factor XIII-A gene. *Thromb Haemost*. 2000;84:524-527.
- Natesirinilkul R, Sasanakul W, Chuansumrit A, Kadegasem P, Visudtibhan A, Wongwerawattanakoon P, Sirachainan N. Global fibrinolytic activity, PAI-1 level, and 4G/5G polymorphism in Thai children with arterial ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23(10):2566-72.

- National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation and the treatment of overweight and obesity in adults:the evidence report. *Obes Res* 1998;6(supp2):s51-209.
- Nauck M, Wieland H, März W. Rapid, homogeneous genotyping of the 4G/5G polymorphism in the promoter region of the PAII gene by fluorescence resonance energy transfer and probe melting curves. *Clin Chem*. 1999;45(8 Pt 1):1141-1147.
- Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten BJ, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Fogelman AM. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak: A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 1996;16(7):831-842.
- Nikzamir A, Nakhjavani M, Golmohamadi T, Dibai L. Association of angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with metabolic syndrome in Iranians with type 2 diabetes mellitus. *Arch Iranian Med*. 2008;11(1):3-9.
- Nishiuma S, Kario K, Yakushijin K, Maeda M, Murai R, Matsuo T, Ikeda U, Shimada K, Matsuo M. Genetic variation in the promoter region of the beta-fibrinogen gene is associated with ischemic stroke in a Japanese population. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1998;9: 373-379.
- Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B, Erer B, Ceyhan K, Eryonucu B, Sansoy V, Onat, İA, Keleş A, Çetinkaya Ö. On yıllık TEKHARF çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı yüksek. *Türk Kardiyol Arş*. 2001;29:8-19.
- Onat A, Sansoy V, Soydan İ, Tokgözoğlu L, Adalet K. TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. Temmuz 2003, İstanbul.
- 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.
- Otrock ZK, Taher AT, Shamseddeen WA, Zaatari G, Bazarbachi A, Mahfouz RA. Factor V HR2 haplotype: a risk factor for venous thromboembolism in individuals with absence of Factor V Leiden. *Ann Hematol*. 2008;87:1013-1016.
- Öztuzcu S, Ergun S, Ulaşlı M, Nacarkahya G, Iğci YZ, Iğci M, Bayraktar R, Tamer A, Çakmak EA, Arslan A. Evaluation of Factor V G1691A, prothrombin G20210A, Factor XIII V34L, MTHFR A1298C, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G genotype frequencies of patients subjected to cardiovascular disease (CVD) panel in south-east region of Turkey. *Mol Biol Rep*. 2014;41(6):3671-3676.

- Öztürk S. Apolipoprotein E ve Alzheimer Hastalığı DEMANS Dizisi. 1999;1:62-67.
- P. Cullen, H. Funke, H. Schulte, G. Assmann. Lipoprotein and cardiovascular risk-from genetics to CHD prevention, *European Heart Journal* 1998;19: C5-C11.
- Paramo JA, Colucci M, Collen D, Van de Werf F. Plasminogen activator inhibitor in the blood of patients with coronary artery disease. *Br Med J.* 1985;291:573-4.
- Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, Buchner D, Ettinger W, Heath GW, King AC. Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995;273(5):402-407.
- Pecheniuk NM, Morris CP, Walsh TP, Marsh NA. The factor V HR2 haplotype: prevalence and association of the A4070G and A6755G polymorphisms. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2001;12:201-206.
- Peng F, Labelle LA, Rainey BJ, Tsongalis GJ. Single nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are common in US Caucasian and Hispanic American populations. *Int J Mol Med.* 2001;8(5):509-11.
- Pitsavos C, Choumerianou DM, Skoumas J, Maumus S, Stefanadis C, Dedoussis GV, Visvikis-Siest S. Apolipoprotein E polymorphism is not associated with lipid levels and coronary artery disease in Greek patients with familial hypercholesterolaemia. *Clin Exp Med.* 2005;5(4):196-201.
- Pocock SJ, Shaper AG, Phillips AN. HDL-Cholesterol, triglycerides and total cholesterol in ischaemic heart disease. *Br Med J.* 1989; 298(6679): 998-1002.
- Poirier J, Davignon J, Bouthillier D, Kogan S, Bertrand P, Gauthier S. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet.* 1993;342:697-699.
- Poorgholi L, Saffar H, Fathollahi MS, Davoodi G, Anvari MS, Goodarzynejad H, ZiaeeS, BoroumandMA. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism and its association with coronary artery disease in an Iranian population. *J Tehran Heart Cent.* 2013;8(2):89-94.
- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3-prime-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood.* 1996;88:3698-3703.
- Price DT, Ridker PM. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective. *Ann Intern Med.* 1997;127:895-903.
- Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM, Frost PH, Malloy MJ, Schumaker VN, Kane JP. Familial liganddefective

- apolipoprotein B: identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. *J Clin Invest* 1995;95:1225-34.
- Rallidis LS, Gialeraki A, Merkouri E, Liakos G, Dages N, Sionis D, et al. Reduced carriership of 4G allele of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in very young survivors of myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis*. 2010;29(4):497-502.
- Raslova K, Smolkova B, Vohnout B, Gasparovic J and Frohlich JJ. Risk factors for atherosclerosis in survivors of myocardial infarction and their spouses: comparison to controls without personal and family history of atherosclerosis *Metabolism*. 2001;5:24-29.
- Reiner AP, Kumar PN, Schwartz SM, Longstreth WT, Pearce M, Rachel FR, Rosendaal BM, Psaty DSS. Genetic variants of platelet glycoprotein receptors and risk of stroke in young women. *Stroke*. 2000;31:1628-1633.
- Reiner AP, Rosendaal FR, Reitsma PH, Lemaitre RN, Pearce RM, Friedlander Y, Raghunathan TE, Psaty BM, Siscovick DS: Factor V Leiden, Prothrombin G20210A and Risk of Sudden Coronary Death in Apparently Healty Persons. *The American Journal of Cardiology*. 2002;90:66-68.
- Resch KL, Ernst E, Matrai A, Paulsen HF. Fibrinogen and viscosity as risk factors for subsequent cardiovascular events in stroke survivors. *Ann Intern Med*. 1988;19:634-636.
- Rey E, Kahn SR, David M, shier I. Trmbophlic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*. 2003;361(9361):901-908.
- Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet*. 1993;341:1165-1168.
- Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half of the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*. 1990;86:1343-1346.
- Rissanen AM. Familial aggregation of coronary heart disesase in a high incidence area. *Br Heart J*. 1979;42(3):294-303.
- Rival J, Riddle JM, Stein PD. Effects of chronic smoking on platelet function. *Thromb Res* 1987;45:75-85.
- Rosenblatt DS. Methylenetetrahydrofolate reductase. *Clin Invest Med*. 2001; 24:56-59.
- Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Beverly RK, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood*. 1997;89:2817-2821.
- Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL: A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1. 1997;90(5):1747-50.

- Rubattu S, Di Angelantonio E, Nitsch D, Gigante B, Zanda B, Stanzione R, Evangelista A, Pirisi A, Rosati G, Volpe M. Polymorphisms in prothrombotic genes and their impact on ischemic stroke in a Sardinian population. *Thromb Haemost.* 2005;93:1095-1100.
- Sabbagh AS, Daher RT, Otroock ZK, Khalek RN, Zaatari GS, Mahfouz RA. ApoB-100 R3500Q mutation in the Lebanese population: prevalence and historical review of the literature. *Mol Biol Rep.* 2007;34(4):267-270.
- Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, Wun CC, Davis BR, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators. *N Engl J Med.* 1996;335(14):1001-1009.
- saglik.gov.tr. Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı, 2010. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 812.
- Salazar LA, Hirata MH, Giannini SD, Forti N, Diament J, Lima TM, Hirata RDC. Seven DNA Polymorphisms at the candidate genes of atherosclerosis in Brazilian women with angiographically document coronary artery disease. *Clinica Chemica Acta.* 2000;300:139-149.
- Sartori MT, Vettor R, De Pergola G, De Mitrio V, Saggiorato G, Della Mea P, Patrassi GM, Lombardi AM, Fabris R, Girolami A. Role of the 4G/5G polymorphism of PaI-1 gene promoter on PaI-1 levels in obese patients: influence of fat distribution and insulin-resistance. *Thromb Haemost.* 2001;86(5):1161-1169.
- Sayin Kocakap BD, Sanli C, Cabuk F, Koc M, Kutsal A. Association of MTHFR A1298C polymorphism with conotruncal heart disease. *Cardiol Young.* 2015;25(7):1326-1331.
- Scarabin P, Bara L, Ricard S, Poirier O, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Evans AE, Samama MM, Cambien F. Genetic variation at the b-fibrinogen locus in relation to plasma fibrinogen concentrations and risk of myocardial infarction: the ECTIM study. *Arterioscler Thromb.* 1993;13:886-891.
- Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. *Circulation.* 1996;94:1812-1814.
- Schneider JA, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Am J Hum Genet.* 1998;62:1258-1260.
- Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, Lorell BH, Riegger GA. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med.* 1994;330:1634-1638.
- Schutt M, Kluter H, Wiedemann GJ, Richardt G. Coexistence of factor V Leiden and primary antiphospholipid syndrome: a patient with recurrent

- myocardial infarctions and thrombocytopenia. *Z Kardiol.* 2000;89(12):1067-1071.
- Schwartz SM, Siscovick DS, Malinow MR, Rosendaal FR, Beverly RK, Hess DL, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Koepsell TD, Raghunathan TE, Reitsma PH. Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation.* 1997;96:412-417.
- Segev A, Ellis MH, Segev F, Friedman Z, Reshef T, Sparkes JD, Tero J, Pauzner H, David D. High prevalence of thrombophilia among young patients with myocardial infarction and few conventional risk factors. *International Journal of Cardiology.* 2005;98:421-424.
- Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med.* 2001;344:1222-1231.
- Shemirani AH<sup>1</sup>, Antalfi B, Pongrácz E, Mezei ZA, Bereczky Z, Csiki Z. Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism in fatal atherothrombotic ischemic stroke. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014;25(4):364-368.
- Sibani S, Christensen B, O'Ferrall E, Saadi I, Hiou-Tim F, Rosenblatt DS, Rozen R. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Hum Mutat.* 2000;27(15):280-287.
- Slowik A, Dziedzic T, Turaj W, Pera J, Glodzik-Sobanska L, Szermer P, Malecki MT, Figlewicz DA, Szczudlik A. A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males. *Stroke.* 2004;35(7):1589-1593.
- Snehalatha C, Ramachandran A, Sivasankari S et al. Is increased apolipoprotein B-A major factor enhancing the risk of coronary artery disease in type 2 diabetes? *J Assoc Physicians India.* 2002;50:1036-1038.
- Som AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, Davis CE. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1998;98:204-210.
- Sonel A. *Kardiyoloji.* 3. Baskı. Ankara: Türk Tarih Kurumu Basımevi 1987;414-416.
- Sperr WR, Huber K, Roden M, Janisw M, Lang T, Graf S, Maurer G, Mayr WR, Panzer S. Inherited Platelet Glycoprotein Polymorphisms and a Risk for Coronary Heart Disease in Young Central Europeans. *Thrombosis Research.* 1998;90:117-123.
- Stamler J, Wentworth D, Neaton JD, for the MRFIT Research Group. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in

- 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA*. 1986;256:2823–2828.
- Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, Tishler PV, Hennekens CH. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA*. 1992;268:877-881.
- Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull W Jr, Richardson M, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis prone regions. *Circulation*. 1992;85:391-405
- Stary HC, Chandler A, Dinsmore R, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-1363.
- Steer P, Hulthe J, Miligård J, Sarabi DM, Basu S, Vessby B, Lind L. Endothelial vasodilatory function is predicted by circulatory apolipoprotein B and HDL in healthy humans. *Lipids*. 2002;37(12):1135-40.
- Stepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, Macfarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*. 1995;333(20):1301-1307.
- Stern LL, Bagley PJ, Rosenberg IH, Selhub J. Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr*. 2000;130:2238-2242.
- Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2004;84(4):1381-1478.
- Suzuki K, Iwata M, Ito S, Matsui K, Uchida A, Mizoi Y. Molecular basis for subtypic differences of the “a” subunit of coagulation factor XIII with description of the genesis of the subtypes. *Hum Genet*. 1994;94:129-135.
- Talmud PJ, Hawe E, Miller GJ, Humphries SE. Nonfasting apolipoprotein B and triglyceride levels as a useful predictor of coronary heart disease risk in middle-aged UK men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1918-23.
- Tanira MOM, Al Balushi KA. Genetic variations related to hypertension: a review. *J Hum Hypertens*. 2005;19:7-19.
- Taymaz H, Erarslan S, Oner ET, Alkan T, Agirbasli M and Kirdar B. Sequence variations within the genes related to hemostatic imbalance and their impact on coronary artery disease in Turkish population. *Thromb Res*. 2007;119(1):55-62.



- Teng YN, Pan JP, Chou SC, Tai DY, Lee-Chen GJ. Familial defective apolipoprotein B-100: detection and haplotype analysis of the Arg3500.Gln mutation in hyperlipidemic Chinese. *2000*;152:385–390.
- Tezcan H, Yavuz D, Toprak A, Akpınar I, Koç M, Deyneli O, Akalin S. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial function and insulin sensitivity in hypertensive patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2003;4(2):119-123.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation.*2002;106(25):3143-3421.
- Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marques-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, Kee F, Ducimetière P. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet.* 1994;344:910-913.
- Tokgözoğlu SL, Alikashiöğlu M, Atalar E, Tunçbilek E, Ovünç K, Aksöyek S, Kabakçi G, Anar B, Unsal I, Kes S. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk and extent of ischemic heart disease among Turkish patients. *Coron Artery Dis.* 1997;8:137-141.
- Tsevat J, Weinstein MC, Williams LW, Tosteson AN, Goldman L. Expected gains in life expectancy from various coronary heart disease risk factor modifications. *Circulation.* 1991;83(4):1194-1201.
- Tug E, Aydın H, Kaplan E, Doğruer D. Frequency of genetic mutations associated with thromboembolism in the Western Black Sea Region. *Intern Med.* 2011;50(1):17-21.
- Tybjærøg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, Abildgaard S, Schnohr P, Nordestgaard BG. A common mutation (G-455-A) in the beta-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease. A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study. *J Clin Invest.* 1997;99:3034–3039.
- Tybjærøg-Hansen A, Humphries SE. Familial defective apolipoprotein B-100: a single mutation that causes hypercholesterolaemia and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 1992;96:91-107.
- Tybjærøg-Hansen A, Steffensen R, Meinertz H, Schnohr P, Nordestgaard BG. Association of mutations in the apolipoprotein B gene with hypercholesterolemia and the risk of ischemic heart disease. *New Engl J Med.* 1998;338:1577-84.
- UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 1998;352: 837-853.

- Ulu A, Yilmaz E, Akar E, Akar N. Factor V A4070G (His1299Arg) mutation in Turkish pediatric patients with thrombosis. *Turk J Haemtol.* 2005; 4:173-178.
- Ulutin T, Cengiz M, Yüksel A. Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü Tıbbi Biyoloji Ders Notları 1, Nobel Tıp Kitapevleri, 2000;45-109.
- Van Bockxmeer FM, Mamotte CD, Vasikaran SD, Taylor RR. Methylene tetrahydrofolate reductase gene and coronary artery disease. *Circulation.* 1997;95:21-23.
- Van der Krabben MD, Rosendaal FR, Van der Bom JG, Doggen CJ. Polymorphisms in coagulation factors and the risk of recurrent cardiovascular events in men after a first myocardial infarction. *J Thromb Haemost.* 2008;6:720-725.
- Van Horn L. Fiber, lipids, and coronary heart disease: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation.* 1997;95:2701-2704.
- Var A, Utük O, Akçali S, Sanlıdağ T, Uyanık BS, Dinç G. Impact of hemostatic gene single point mutations in patients with non-diabetic coronary artery disease. *Mol Biol Rep.* 2009;36(8):2235-2243.
- Verdoia M, Casseti E, Schaffer A, Barbieri L, Giovine GD, Nardin M, Marino P, Sinigaglia F, Luca GD; Novara Atherosclerosis Study Group (NAS). Relationship between glycoprotein IIIa platelet receptor gene polymorphism and coronary artery disease. *Angiology.* 2015;66(1):79-85
- Visanji JM, Seargent J, Tahri D, Croft SA, Makris M, Preston FE, et al. Influence of the -675 4G/5G dimorphism of the plasminogen activator inhibitor 1 promoter on thrombotic risk in patients with factor V Leiden. *Brit J Haematol.* 2000;110(1):135-138.
- Voetsch B, Loscalzo J. Genetic Determinants of Arterial Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:216-229.
- Vogel RA. The management of hypercholesterolemia in patients with coronary artery disease: guidelines for primary care. *Clin Cornerstone.* 1998;1:51-64.
- Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit A, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet.* 2001;358: 2026-33.
- Wang XL, McCredie RM, Wilcken DEL. Polymorphisms of the apolipoprotein E gene and severity of coronary artery disease defined by angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:1030-1034.
- Warner D, Mansfield MW, Grant PJ. Coagulation factor XIII and cardiovascular disease in UK Asian patients undergoing coronary angiography. *Thromb Haemost.* 2001;85:408-411.

- Wartiovaara U, Mikkola H, Szôke G, Haramura G, Kárpáti L, Balogh I, Lassila R, Muszbek L, Palotie A. Effect of Val34Leu polymorphism on the activation of the coagulation factor XIII-A. *Thromb Haemost.* 2000;84:595-600.
- Watzke HH, Schüttrumpf J, Graf S, Huber K, Panzer S. Increased prevalence of a polymorphism in the gene coding for human prothrombin in patients with coronary heart disease. *Thromb Res.* 1997;87:521-526.
- Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab.* 1998;64:69-172.
- Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med.* 1996;334(17):1090-1094.
- Westerveld HT, van Lennep JE, van Lennep HW, Liem AH, de Boo JA, van der Schouw YT, Erkelens DW. Apolipoprotein B and coronary artery disease in women: a cross-sectional study in women undergoing their first coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1101-1107.
- Wilhelmsson C, Vedin JA, Elmfeldt D, Tibblin G, Wilhelmsen L. Smoking and myocardial infarction. *Lancet.* 1975;1: 415-419.
- Wong ND, Cupples LA, Ostfeld AM, Levy D, Kannel WB: Risk factors for long-term coronary prognosis after initial myocardial infarction: Framingham Study. *Am J Epidemiol.* 1989;130:469-480.
- Wood D, De Backer G, Faergeman O, Graham I, Mancia G, Pyörälä K. 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* 1998; 19(10):1434-1503.
- Wu HB, Tsongalis GJ. Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am J Cardiol.* 2001;87(12):1361-1366.
- Xenophontos SL, Hadjivassiliou M, Ayrton N, Karagrigoriou A, Pantzaris M, Nicolaides AN, Cariolou MA. Spectrum and prevalence of prothrombotic single nucleotide polymorphism profiles in the Greek Cypriot population. *Int Angiol.* 2002;21(4):322-329.
- Ye Z, Liu EH, Higgins JP, Keavney BD, Lowe GD, Collins R, et al. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet.* 2006;367(9511):651-658.
- Yılmaz S, Bayan ., Tüzün Y, Batun ., Altıntaş A. A comprehensive analysis of 12 thrombophilic mutations and related parameters in patients with inflammatory bowel disease: data from Turkey *J Thromb Thrombolysis.* 2006;22:205-212.

- Yilmaz H, Isbir S, Agachan B, Ergen A, Faesak B, Isbir T. C677T Mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and serum homocysteine levels in Turkish patients with coronary disease. *Cell Biochem Funct.* 2006;24(1):87-90.
- Zhang MD, Gu W, Qiao SB, Zhu EJ, Zhao QM, Lv SZ. Apolipoprotein E gene polymorphism and risk for coronary heart disease in the Chinese population: a meta-analysis of 61 studies including 6634 cases and 6393 controls. *PLoS One.* 2014;9(4):1-9
- Zheng YZ, Tong J, Do XP, Pu XQ and Zhou BT. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and its association with arterial and venous thrombosis in the Chinese population. *Br J Haematol.* 2000;109:870-874.
- Zidan HE, Rezk NA, Mohammed D. MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and their relation to homocysteine level in Egyptian children with congenital heart diseases. *Gene.* 2013;529(1):119-124.
- Zorio E, Gilabert-Estellés J, España F, Ramón LA, Cosín R, Estellés A. Fibrinolysis: the key to new pathogenetic mechanisms. *Curr Med Chem.* 2008;15(9):923-9299.
- Zotz RB, Winkelmann BR, Müller C, Boehm BO, MärzW, Scharf RE. Association of polymorphisms of platelet membrane integrins alpha IIb (beta) 3 (HPA-1b/PI) and alpha2 (beta) 1 (alpha807TT) with premature myocardial infarction. *J Thromb Haemost.* 2005;3:1522-1529.
- Zöller B, Svensson PJ, He X, Dahlback B: Identification of the Same Factor V Leiden Mutation in 47 out of 50 Thrombosisprone Families with Inherited Resistance to Activated Protein C. *The American Society for Clinical Investigation.* 1994;94:2521-2524.

**EK 1**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: 69

04.06.2012

Sayın: Doç. Dr. Nurten Kara

Etik Komisyonumuza sunmuş olduğunuz **Koroner arter hastalarında Faktör V, Protrombin, faktör XIII,  $\beta$ -Fibrinojen, PAI-1, HPA1, MTHFR, ACE, ApoB ve ApoE gen mutasyonlarının sıklığı** başlıklı Tıbbi Araştırma Etik Komisyonu 2011/330 Karar nolu Genetik çalışma nitelikli araştırma projeniz : Amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, OMÜ-TAEK yönergesine göre incelenmiş etik açıdan bir sakınca olmadığına, çalışmanın süresi 6 ayı geçerse 6 aylık bildirimlerinin yapılmasına; çalışma tamamlandıktan sonra sonucunun tarafımıza en geç üç(3) ay içerisinde bildirilmesine 30.06.2011 tarihli etik komisyonumuzda oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.



Prof. Dr. Abdulkemir BEDİR  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
Başkanı

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Gülşah DURMUŞ

**Doğum Yeri:** Merzifon

**Doğum Tarihi:** 17.04.1986

**Medeni Hali:** Evli

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

### **Eğitim Durumu:**

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Tıbbi Biyoloji 2008-

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji 2004-2008

### **Çalıştığı Kurumlar**

Özel Zengintest Dershaneleri- Biyoloji Öğretmeni- 2013-2015

Özel Humanus Laboratuvarları- Kalite ve Akreditasyon Yöneticisi- 2010-2013

Özel Acuner Tıbbi Tahliller Laboratuvarı- Biyolog-2009-2010

Özel Ar Dershaneleri- Biyoloji Öğretmeni- 2008-2009

E-Posta: gulsah\_topal\_\_@hotmail.com