

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**VARİKÖZ VEN HASTALARINDA MMP-9 VE
TIMP-2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ATİKE TEKELİ KUNT


**DANIŞMAN
PROF.DR.TURGAY İSBİR**

**MOLEKÜLER TIP A.D.
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2009



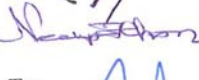


TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Tamer Demirel
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Moleküler Tıp
Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
Anabilim Dalı : Moleküler Tıp
Tez Sahibi : Atike TEKELİ KUNT
Tez Başlığı : Variköz Ven Hastalarında MMP-9 ve TIMP-2 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması
Sınav Yeri : İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 20 / 08 / 2009

Tez Sınav Jürisi

- Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı
1. Prof. Dr. Turgay İSBİR (Danışman) (İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı) 
 2. Prof. Dr. Hakan BERKCAN (İstanbul Bilim Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı) 
 3. Prof. Dr. Necip İLHAN (Fırat Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı) 
 4. Doç. Dr. Bedia AĞAÇHAN (İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı) 
 5. Doç. Dr. Ümit ZEYBEK (İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı) 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Atike Tekeli Kunt

İTHAF

Tezimi ođlum Hüseyin Burak Kunt'a ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince her konuda yardımlarını esirgemeyen başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Turgay İsbir'e daha sonra çok değerli hocalarım Prof. Dr. Hüsrev Hatemi, Prof. Dr. Esen Ö. Dural, Prof. Dr. Sinan Arsan, Doç. Dr. Selim İsbir, Doç. Dr. Serdar Akgün, Doç. Dr. Ali Civelek, Doç. Dr. İlhan Yaylım, Doç. Dr. Bedia Ağaçhan, Doç. Dr. Hülya Yılmaz, Doç. Dr. Oğuz Öztürk, Doç. Dr. Ümit Zeybek, Doç. Dr. Arzu Ergen'e ayrıca eğitimimin her aşamasında bana destek olan Yrd. Doç. Dr. Uzey Görmüş ve Uzm. Dr. Koray Ak'a ,

Eğitimim süresince birlikte çalıştığım tüm arkadaşlarıma, Moleküler Tıp A.D. ve Özel Bahçelievler Medicana Hastanesi KVC yoğun bakım, servis ve ameliyathanenin tüm personeline,

Ayrıca bugünlere gelmemde destek ve sevgileriyle her zaman yanımda olan anneme, kardeşime ve eşime,

Teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	İİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Variköz Venler ve Kronik Kronik Venöz Yetmezlik	3
2.1.1. Alt ekstremite venöz sistem anatomisi	3
2.1.2. Alt ekstremite venöz sistem fizyolojisi.....	6
2.1.3. Variköz Venlerin Patofizyolojisi	7
2.1.4. Variköz Venlerin Etiyopatogenezi.....	9
2.1.5. Variköz Venlerin Sınıflandırılması.....	9
2.1.6. Variköz Ven Tanı ve Tedavisi	10
2.2. Matriks Metalloproteinaz (MMP).....	11
2.2.1. Genel Özellikler	11
2.2.2. MMP Grupları	12
2.2.3. MMP Yapısı	14
2.2.4. MMP Aktivasyonu.....	15
2.2.5. MMP-9-1562 C/T Polimorfizmi.....	16
2.3. Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)	17
2.3.1. Genel Özellikler.....	17
2.3.2. TIMP-2-418 G/C Polimorfizmi.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1 Çalışma Grupları.....	21

3.2. Çalışma Yöntemi.....	21
3.3. Araç ve Gereçler.....	21
3.3.1. Alet ve Cihazlar.....	21
3.3.2. Kimyasal Maddeler.....	22
3.3.3. Çözeltiler.....	23
3.4. DNA İzolasyonunun Yapılışı.....	25
3.5. Moleküler Analiz.....	26
3.5.1. MMP-9 (-1562 C/T) Polimorfizminin Belirlenmesi.....	26
3.5.2. TIMP-2 (-418 G/C) Polimorfizminin Belirlenmesi.....	27
3.6. İstatistiksel Analiz.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. MMP-9 Genotip ve Allel Dağılımına Ait Bulgular.....	30
4.2. TIMP-2 Genotip ve Allel Dağılımına Ait Bulgular.....	32
5. TARTIŞMA.....	35
KAYNAKLAR.....	39
HAM VERİLER.....	46
FORMLAR.....	5353
ETİK KURUL KARARI.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	56

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: MMP tipleri

Tablo 4-1: Grupların demografik özellikleri

Tablo 4-2: MMP-9 -1562 C/T genotip ve allel dağılımları

Tablo 4-3: TIMP-2 -418 C/G genotip ve allel dağılımı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Alt ekstremitte venöz sistem anatomisi

Şekil 2-2: Alt ekstremitte perforan venleri

Şekil 2-3: Alt ekstremitte derin venöz sistem anatomisi

Şekil 2-4: Normal ve anormal kapakçıkların çalışması. Sağdaki kapağın fonksiyon bozukluğu kanın bacağına geriye kaçmasına ve yakınmalara yol açacaktır.

Şekil 2-5: Alt ekstremitte venöz sistem fizyolojisi

Şekil 2-6: Kapakçık yetmezliği nedeniyle derin venlerden yüzeysel venlere doğru oluşan ters yönlü kan akımı ve varikozite gelişimi

Şekil 2-7 : a; venöz ülser patofizyolojisi, b; venöz ülserli bir alt ekstremitte

Şekil 2-8: KEAP sınıflaması

Şekil 2-9: proMMP'nin üç boyutlu yapısı

Şekil 2-10: Pro-MMP aktivasyon kaskadı

Şekil 2-11: MMP-9 promoter bölgesinde bulunan polimorfizimler ve çalışılan bölgenin baz dizisi

Şekil 2-12: TIMP-2 üç boyutlu yapısı

Şekil 4-1: MMP-9 gen polimorfizminin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 4-2: Hasta ve kontrol gruplarında C ve T alel frekansları (p= 0.326).

Şekil 4-3: TIMP-2 gen polimorfizminin %3'lük agaroz jeldeki görünümü

Şekil 4-4: TIMP-2 -418 genotip dağılımı, * p=0.024.

Şekil 4-5: TIMP-2 -418 genotip dağılımı, * p=0.007

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

MMP : Matriks

ECM: Ekstraselüler matriks

TIMP: Doku matriks metalloproteinaz inhibitörü

DVT: Derin ven trombozu

KVY: Kronik venöz yetmezlik

PTS:Posttrombotik sendrom

KEAP: K: klinik, E: etiyolojik, A: anatomi, P: patolojik

SEPS: Subfasyal endoskopik perforatör ven cerrahisi

GPI: Glikozilfosfatidilinozitol

Hpx: Hemopeksin

EDTA: Etilendiaminasetat

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

NaCl: Sodyum klorür

SDS: Sodyum dodesil sulfat

HCl: Hidroklorik asit

TBE: Tris Borik Asit Etilendiamintetraasetat

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

RE: Restriksiyon enzimi

ÖZET

Kunt, A.T. (2009). Variköz ven hastalarında mmp-9 ve timp-2 gen polimorfizmlerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Variköz ven ve buna bağlı gelişen venöz yetmezlik toplumda oldukça sık rastlanmasına rağmen etiolojisi aydınlatılamamıştır. Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) enziminin damarsal yapıların oluşumunda ekstrasellüler matriks üzerine proteolitik etkileri olduğu bilinmektedir. Daha önce konu hakkında yapılmış olan çalışmalar genellikle kollajen ve elastin gibi temel ekstrasellüler proteinlerin düzeylerindeki değişimlere yönelik olmuştur ve matriks metalloproteinazların damarsal oluşumlardaki rolleri daha çok tümöral yapılardaki invazyonlara yönelik değerlendirmeye alınmıştır. Matriks metalloproteinazların yalnızca bu invazif durumlarda değil, damarsal yapı bozukluklarıyla seyreden diğer hastalıklarda ve dolayısıyla variköz venlerde de etkili olduğu bilinmektedir. MMP-9 ekstrasellüler matriks (ECM) remodeling prosesinde önemli bir enzimdir. Basement membranda bulunan denatüre kollajenlerin ve Tip IV kollajenin parçalanmasında görev alır. ECM’de MMPlerin aktivitesi spesifik MMP inhibitörleri ile kontrol edilir ve bunlara doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) denmektedir. TIMP ailesinin 4 üyesi mevcuttur. TIMP-1, -2, -3 ve -4. Bu moleküller aktive olmuş MMPlerin proteolitik aktivitelerini bu enzimlerle 1:1 stoichiometrik inhibitör kompleksi oluşturarak inhibe ederler. MMP-TIMP interaksiyonundaki bozulmalar artrit, amfizem, ateroskleroz ve periodontit gibi hastalıkların etiyojilerinde tanımlanmıştır ve bu hastalıklardaki temel bulgu ECM kaybıdır. Çalışmamızda MMP-9 (-1562) ve TIMP-2 (-418) gen polimorfizmlerinin variseal yapıların oluşumlarına etkilerini araştırarak konuya ileriye yönelik yeni takip ve tedavi yöntemlerine katkıda bulunmayı amaçladık.

Anahtar Kelimeler : Variköz ven, venöz yetmezlik, matriks metalloproteinaz-9, doku matriks metalloproteinaz inhibitörü-2, gen polimorfizmi.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1769

ABSTRACT

Kunt, A.T. (2009). Analysis of genetic polymorphisms of MMP-9 and TIMP-2 in varicose vein patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Doktora Tezi. İstanbul.

Varicose veins and their complication venous insufficiency are frequently encountered diseases however the exact etiology is still unknown. It is suggested that MMP-9 enzyme has a proteolytic effect on extracellular matrix (ECM) in formation of vascular structure. Recent literature about this subject studied mostly the basic extracellular proteins as collagen and elastin. Additionally the roles of matrix metalloproteinases were studied mostly with tumoral invasions. It is known that matrix metalloproteinases not only play important roles in tumoral invasions but also have an effect on deformities of vascular structure such as varicose veins. MMP-9 is an important enzyme in remodeling process of extracellular matrix. It plays an important role in migration of normal and tumoral cells. It works in disintegration of denatured collagens and collagen type IV. The activities of MMPs in ECM are controlled by specific MMP inhibitors (TIMP). TIMP family has 4 members, TIMP-1, -2, -3, and -4. These molecules inhibit the proteolytic activity of MMPs by forming a 1:1 stoichiometric inhibitor complex. The disruption in interaction of MMP and TIMP is determined in the etiology of diseases such as arthritis, emphysema, atherosclerosis and periodontitis. The basic finding in all these diseases is the loss of ECM. The purpose of this study is to investigate the effect of genetic polymorphisms of MMP-9 (-1562) and TIMP-2 (-418) on varicose vein formation and add on new follow-up and treatment modalities in this field.

Key Words: Varicose vein, venous insufficiency, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2, gene polymorphism.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 1769

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bacaklardaki yüzeysel venlerde oluşan variköz oluşumlar toplumda oldukça sık rastlanan, hastalarda yaşam kalitesini düşürmekle birlikte derin ven trombozu gibi ciddi sorunlara da yol açabilen patolojiler olarak tanımlanmaktadır. Geçmişte konuyla ilgili yapılmış çalışmalarda varis bölgesindeki kollajen ve elastin gibi ekstrasellüler doku elemanlarının değişimleri üzerinde durulmuş ve genel olarak variköz venlerde normal venlere göre elastin yapılanmalarında bozulmalar, hatta elastin miktarında düşüşler olduğu gösterilmiştir. Variköz venlerin gelişiminde en önemli risk faktörleri genetik yatkınlık, cinsiyet, hormonlar, gebelik ve yaşlılıktır. Uzun süre ayakta kalmak veya oturmak, obezite, ağır kaldırmak, trauma, derin ven trombozu (DVT) ve tromboflebit de önemli risk faktörleri arasındadır.

Matriksinler olarak da isimlendirilen matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyuma bağımlı nötral endopeptidaz ailesidir. Normal ve tümöral hücrelerin migrasyonunda önem taşımaktadır. Basement membranda bulunan denatüre kollajenlerin ve Tip IV kollajenin parçalanmasında görev alır. MMP'ler substrat özelliğine, bölge organizasyonuna ve dizi homolojisine göre, kollajenazlar, jelatinazlar, stromelezinler, matrilizinler, MT-MMP (Membran tipi MMP)'ler ve diğer MMP tipleri olmak üzere 6 gruba ayrılırlar. MMP-9 bir jelatinazdır ve kollajen tip IV, tip V, ve tip XI'i, tip I kollajenin N-telopeptitlerini, agrekan, kartilaj bağlantı proteinini ve elastini etkili bir şekilde yıkar. ECM'de MMPlerin aktivitesi spesifik MMP inhibitörleri ile kontrol edilir ve bunlara doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) denmektedir. TIMP ailesinin 4 üyesi mevcuttur. TIMP-1, -2, -3 ve -4. Bu moleküller aktive olmuş MMP'lerin proteolitik aktivitelerini bu enzimlerle 1:1 stoichiometrik inhibitör kompleksi oluşturarak inhibe ederler. TIMP-1 ve TIMP-2nin %40 oranında aminoasit dizin benzerliği vardır. Aktive olmuş MMP'lere bağlanma yönünden TIMP-1 ile benzerdir, ek olarak MMP-2nin proformu ile birebir kompleks yapar. MMP-TIMP interaksiyonundaki bozulmalar artrit, amfizem, ateroskleroz ve periodontit gibi hastalıkların etiyolojilerinde tanımlanmıştır ve bu hastalıklardaki temel bulgu ECM kaybıdır.

Çalışmamızda MMP-9 (-1562) ve TIMP-2 (-418) gen polimorfizmlerinin variköz ven oluşumuna etkilerini araştırarak konuya ileriye yönelik yeni takip ve tedavi yöntemlerine katkıda bulunmayı amaçladık.

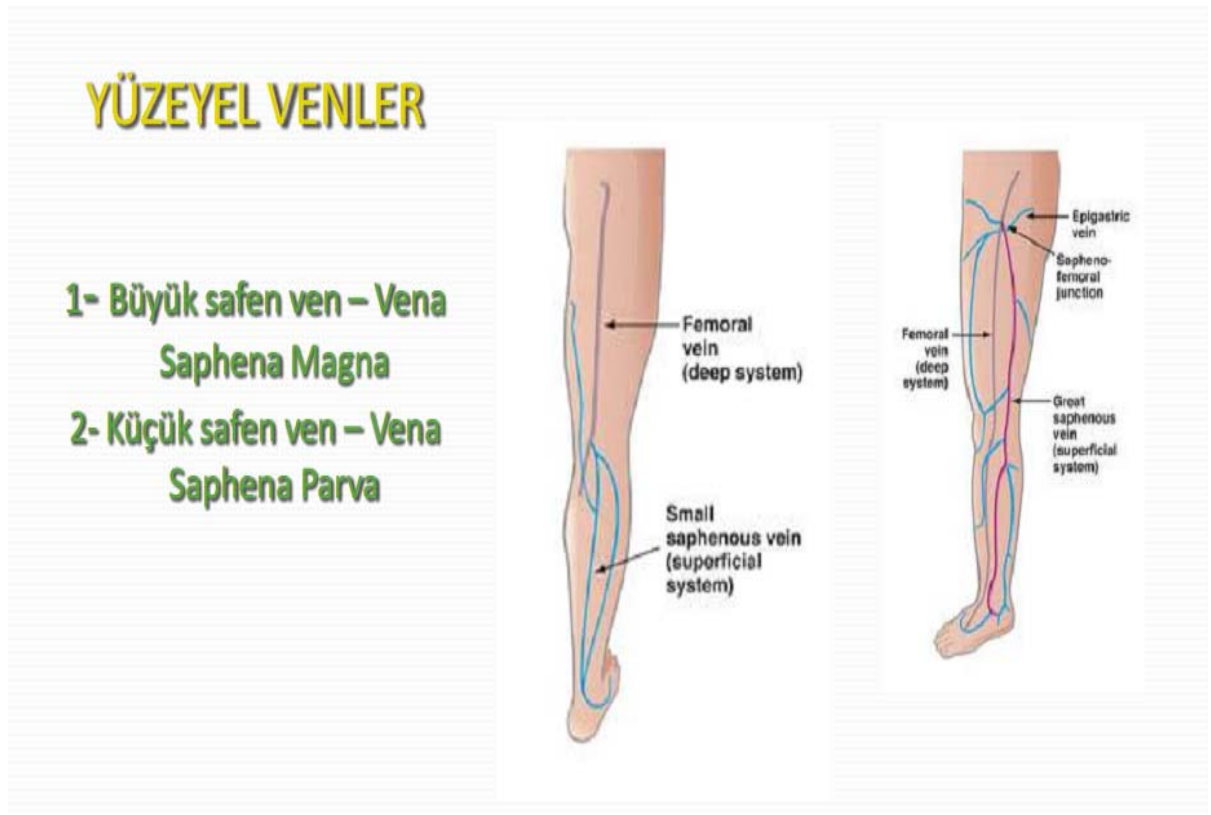
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Variköz Venler ve Kronik Kronik Venöz Yetmezlik

2.1.1. Alt ekstremitte venöz sistem anatomisi

Alt ekstremitte venöz dolaşımı derin, yüzeysel ve bunları birbirine bağlayan perforan venler olmak üzere üç ayrı sistemden oluşur. Derin venler arterlere eşlik ederler. Fasyanın ve kasların derininde yer alırlar. Yüzeysel venler, derin fasyanın üzerinde subkutenöz doku içinde yer alırlar. Perforan venler ise derin fasyayı geçerek yüzeysel ve dein sistemleri birbirine bağlarlar (1).

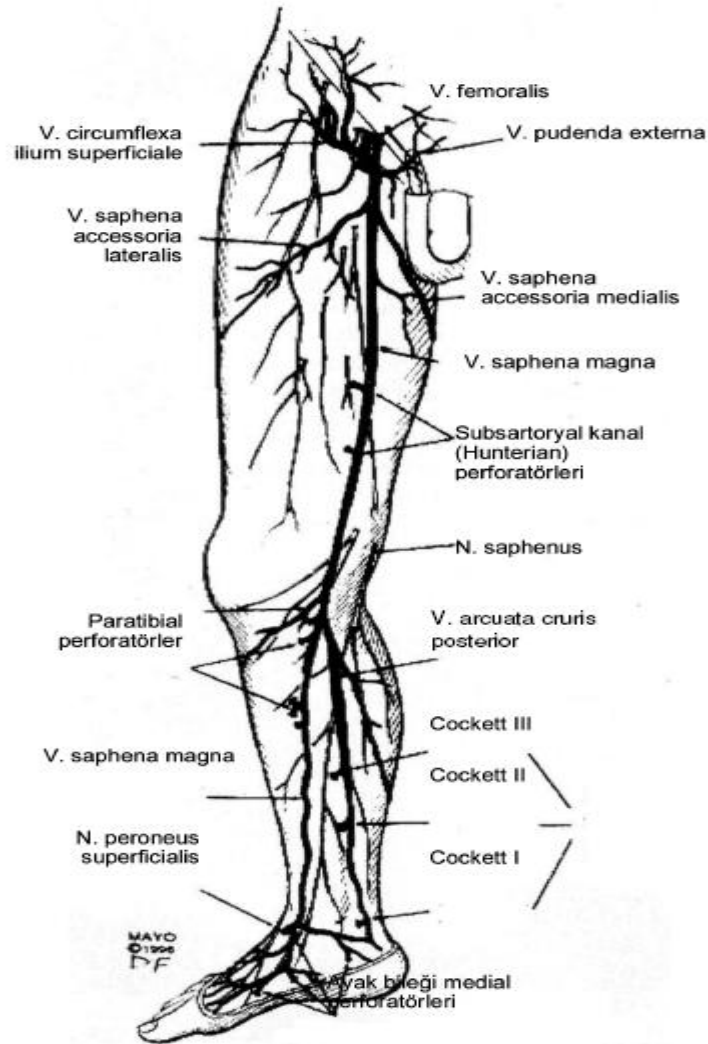
Yüzeysel venler (Şekil 2-1) vena safena magna ve vena safena parvadan oluşur. Yüzeysel venler membranöz fasyanın üstünde yüzeysel fasyanın iki yaprağı arasında seyrederek. Destek dokuları yoktur. Anatomik yerlerinin derinliğine göre tanımlanırlar. Üç venöz ağa karşılık gelen üst üste üç düzlem mevcuttur. Bu anatomik yapı intradermal varikozitelerin patogenezi açıklayabilir.



Şekil 2-1: Alt ekstremitte venöz sistem anatomisi

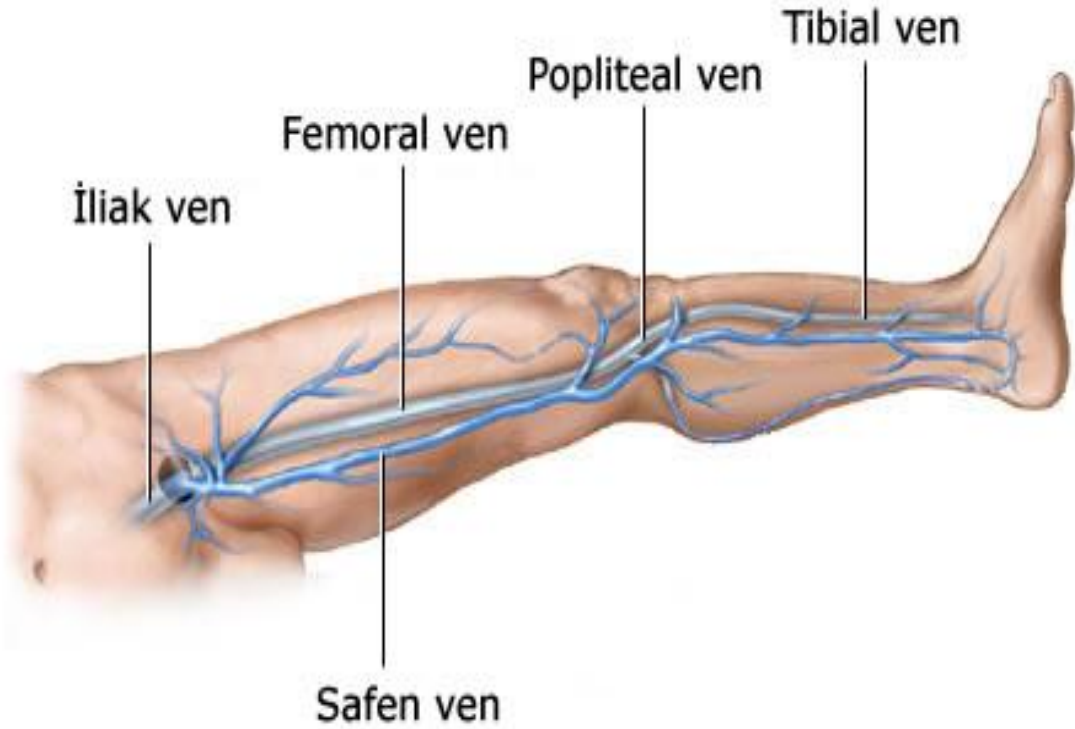
Perforan venler 6 gruptur (Şekil 2-2)

- Cockett perforanları (I,II,III); posterotibial bölgede yer alırlar.
- Body's perforanı; paratibial bölgede yer alır.
- Sherman's perforanları; paratibial bölgede yer alır.
- 24cm perforanları; paratibial bölgede yer alır.
- Hunter's ve Dodd's perforanları; femoral kanalda yer alırlar.
- May's (Kuser's) perforanları; ayak bileğinde yer alırlar



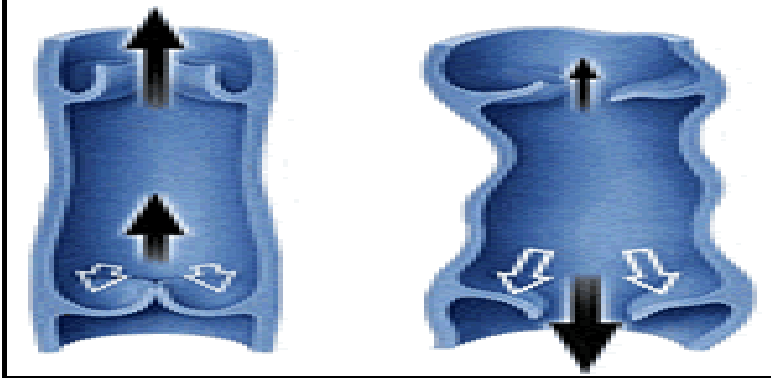
Şekil 2-2: Alt ekstremitte perforan venleri.

Derin venöz sistem iliak, femoral ve popliteal venlerden oluşmaktadır (Şekil 2-3). Popliteal ven addüktör kanala girdikten sonra yüzeysel femoral ven adını alır. Yüzeysel femoral ven inguinal kanal altında profunda femoral ven ile birleşerek ana femoral veni oluşturur. Ana femoral ven ise inguinal kanalın üzerinde eksternal iliak ven olarak ilerler ve internal iliak ven ile birleşerek ana iliak veni oluşturur.



Şekil 2-3: Alt ekstremitte derin venöz sistem anatomisi

Venöz akımın kanın yerçekimine ters akım yönünde akışını sağlamak ve geri akımı önlemek venöz kapakçıklar yardımı ile olmaktadır. Venöz kan akımı bu biküspid kapakçıklar sayesinde yüzeysel venlerden derin venlere doğru hareket eder ve geri akım önlenmiş olur (Şekil 2-4). Kapakçık sıklığı proksimalden distale doğru gidildikçe artar.



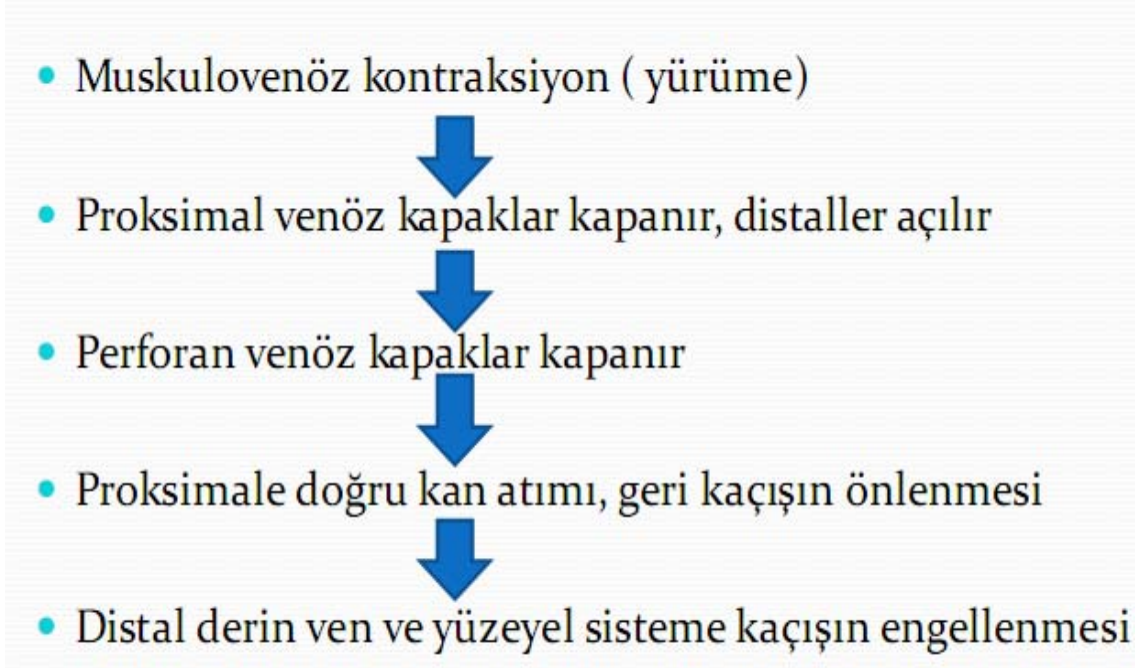
Şekil 2-4: Normal ve anormal kapakçıkların çalışması. Sağdaki kapağın fonksiyon bozukluğu kanın bacağına geriye kaçmasına ve yakınmalara yol açacaktır.

Ana iliak ven ve inferior vena kavada kapakçık yoktur. Ayak sırtındaki yüzeysel venlerde kan akımı derin venlerden yüzeysel venlere doğrudur. Variköz venler bu kapakçıkların yetersizliklerine bağlı olarak gelişirler (1-4).

2.1.2. Alt ekstremitte venöz sistem fizyolojisi

Alt ekstremitte venöz sistem fizyolojisi şekil 2-5’de özetlenmiştir (5). Alt ekstremitte venöz sisteminde pompa görevini kas kontraksiyonları yapmaktadır. Venöz sistem periferdeki kanı kas pompası ve tek yönlü kapakçıklar yardımı ile kalbe ve akciğerlere taşır. Kas pompası; ayak, baldır ve uyluk kaslarının kontraksiyonudur (6).

Venöz dolaşım solunumla faziktir ancak abdominal ve toraks basınçlarıyla da ilişkisi vardır. İstirahat halinde ayaktaiken ayak ven basıncı 90mmHg’dir, bu basınç damar içindeki kanın hidrostatik basıncından kaynaklanmaktadır. Egzersiz esnasında bu basınç %80 azalır ve egzersiz sonrası 13-25sn sonra normal değerlere döner. Bu süre derin venlerin tekrar dolması için gerekli bir süredir (7). Venöz yetmezlikte egzersiz süresinde olması gereken basınç azalması gerçekleşmez ve derin venlerin tekrar dolması için gerekli olan zaman kısalır.



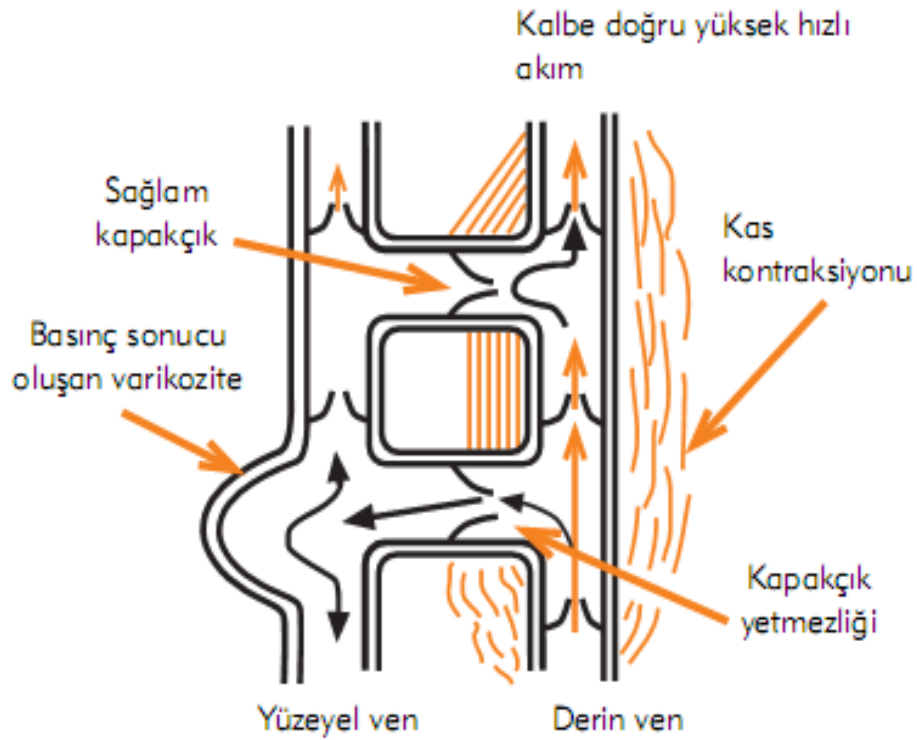
Şekil 2-5: Alt ekstremitte venöz sistem fizyolojisi

2.1.3.Variköz Venlerin Patofizyolojisi

Alt ekstremitte venöz dönüş bozulmasına neden olan 4 patolojik durum mevcuttur.

1. ***Ven duvarında elastisite kaybı:*** venlerin duvarında elastisite kaybı olduğunda venler dilate olur ve kapakçıklar kapanamaz, bu nedenle de geriye doğru ters akım olur.
2. ***Kapakçık yokluğu veya yetmezliği:*** bu durumda da yine aynı mekanizma ile ters akım gelişir.
3. ***Kas pompasının çalışmaması veya bozulması:*** bu durumda ise kanın distalden proksimale doğru pompalanması bozulur.
4. ***Venöz sistemde obstrüksiyon.***

Bu dört durumda kan akımı ters olarak artar ve venöz basınç yüzeysel venlerde genişlemeye neden olur (Şekil 2-6) (6). Derin venlerde fasya ve kaslardan oluşan destek doku nedeni ile varikozite gelişmez (6).

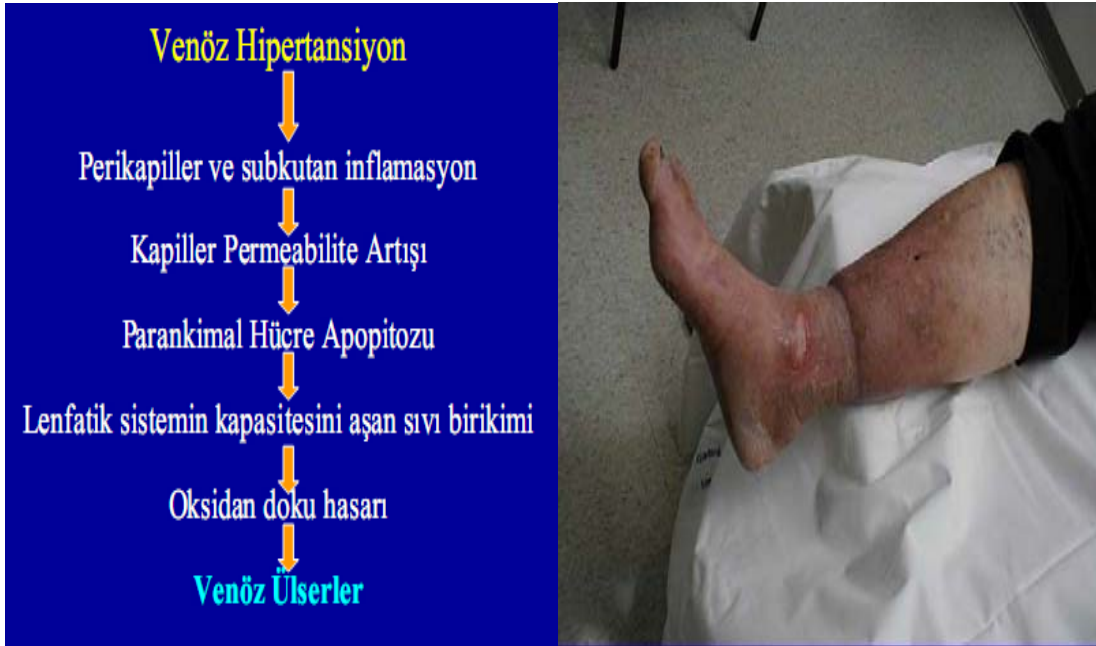


Şekil 2-6: Kapakçık yetmezliği nedeniyle derin venlerden yüzeyel venlere doğru oluşan ters yönlü kan akımı ve varikozite gelişimi

Kronik venöz yetmezlik (KVY) primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır.

Primer KVY genellikle ven duvarının elastisitesini kaybetmesinden dolayı gelişmektedir (8). Sekonder valvüler yetmezlikte ise etken sıklıkla derin ven trombozu (DVT) dir (9). DVT sonrası damar içerisinde rekanalizasyon gelişse bile valvüler hasar kalacaktır. Bu duruma posttrombotik sendrom (PTS) adı verilmektedir ve KVY'li olguların %60-85'inde etiyolojinin PTS olduğu düşünülmektedir (10).

KVY'den etkilenen son organ ciltaltı ve cilttir. Valvüler yetersizlik sonucunda ortaya çıkan venöz hipertansiyon kapiller permeabilite artışına, bacaklarda ödeme, azalmış oksijen difüzyonuna ve sonuç olarak lipodermatosiderozis ve venöz ülserle neden olmaktadır (Şekil 2-7a,b) (11-14).



Şekil 2-7 : a; venöz ülser patofizyolojisi, b; venöz ülserli bir alt ekstremitte

2.1.4. Variköz Venlerin Etiyopatogenezi

Variköz venlerin gelişiminde en önemli risk faktörleri genetik yatkınlık (15), cinsiyet (4), hormonlar (4,8,15), gebelik (4,15) ve yaşlılıktır (4). Uzun süre ayakta kalmak veya oturmak, obezite, ağır kaldırmak, trauma, DVT ve tromboflebit de önemli risk faktörleri arasındadır (4,14).

2.1.5. Variköz Venlerin Sınıflandırılması

1994 yılında Amerikan Venöz Forumu venöz yetmezlikli olguları KEAP sınıflandırmasına göre sınıflandırmıştır (Şekil 2-8). K= klinik, E= etiyolojik, A= anatomi, P= patolojik (16).

- **Klinik sınıflandırma (C₀₋₆)**
 - C0: Venöz hastalık yok
 - C1: Telenjektazi veya retiküler ven
 - C2: Variköz venler
 - C3: Ödem
 - C4: Deri değişiklikleri
 - C5: İyileşmiş ülser
 - C6: Aktif ülser
- **Etyolojik sınıflandırma,**
 - E_K Konjenital
 - E_P Primer
 - E_S Sekonder
- **CEAP sınıflaması**
 - C Klinik C₀₋₆
 - E Etyolojik: (E_c, E_p, E_s)
 - A Anatomik: Yüzeysel, Perforatör, Derin
 - P Patofizyolojik: Reflü, Obstrüksiyon, Hepsi

Şekil 2-8: KEAP sınıflaması

2.1.6. Variköz Ven Tanı ve Tedavisi

Günümüzde venöz yetmezliğin tanısı çok basit ve ağrısız bir işlem olan venöz doppler ultrasonografi ile yapılmaktadır. Tedavisi ise basit kompresyon çoraplarından başlayıp komplike venöz rekonstrüksiyonlara kadar değişmektedir.

• **Konservatif Tedavi**

- Medikal tedavi
- Kompresyon tedavisi

• **Cerrahi tedavi**

- Obstrüksiyon düzeltici tedaviler
- Reflü engelleyen tedaviler

Medikal tedavide doğal ve sentetik venoaktif ajanlar kullanılır. Medikal tedavide amaç venöz tonusu arttırmak, mikrosirkülasyonu düzenlemek, lenfatik drenajı arttırmak ve trombosit agregasyonunu azaltmaktır. Böylelikle oluşan kaşıntı, ağırlık hissi, ağrı, şişlik, kramp gibi semptomlar ortadan kaldırılmaktadır. Venöz ülser varlığında antibiyotikler, çinko, fibrinolitik tedavi, prostaglandinler ve pentoksfilin ile yapılmaktadır.

Kompresyon tedavisi farklı basınçlardaki varis çorapları veya elastik bandajlar ile yapılmaktadır. Amaç baldır kasında basınç oluşturularak kas pompasının etkisini arttırmak ve venöz kaçağı önlemektir.

Cerrahi tedavi derin venöz yetmezlik olmayan durumlarda uygulanır. Eğer bir obstrüksiyon söz konusu ise anjiyoplasti veya stent gerekmektedir. Yetersizlik durumunda ise ven ablasyonu, valvüloplastisi veya transpozisyon uygulanmaktadır. Ven ablasyonu skleroterapi, striping, endovenöz ablasyon ve subfasyal endoskopik perforatör ven cerrahisini (SEPS) içermektedir.

Tüm bunlara ek olarak hastanın yaşam şeklinde değişiklik, egzersiz ve alt ekstremité elevasyonu yapması gerekmektedir.

2.2. Matriks Metalloproteinaz (MMP)

2.2.1. Genel Özellikler

Matriksinler olarak da isimlendirilen MMP'ler ECM bileşenlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyuma bağımlı nötral endopeptidaz ailesidir (17). ECM hücrelerarası boşlukta hücrelerin bir arada tutulmasına yardımcı olan bir yapıdır (18,19). Bunun dışında hücre büyümesi ve farklılaşması için gerekli olan hormonlar için rezervuar görevi yaparlar. Vasküler ECM moleküllerinin yapılarında 3 temel protein mevcuttur (19). Bunlar kollajen fibrilleri, multiadhezif matriks glikoproteinleri ve proteoglikanlardır. Kollajen fibrilleri çözünür yapıda değildir, hücreye esneklik ve güç kazandırır. Proteoglikanlar visköz yapıdadır ve hücrelere yastık görevi yapar. Multiadhezif matriks glikoproteinleri ise proteoglikanlar ve kollajenin hücre yüzeyine bağlanmasını sağlar (19). Hücre matriks etkileşmesi ECM bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu olan proteolitik enzimler (ekstraselüler proteazlar) tarafından düzenlenir (20). Ekstraselüler proteazlar aynı zamanda matriks molekülleri tarafından oluşturulan

sinyallerin kontrolü, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve oluşumunda da rol oynarlar (21,22).

MMP'ler ekstraselüler proteazların önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, epitel hücreleri, nötrofiller, makrofajlar, trombositler, kondrositler, fibroblastlar, T lenfositler, keratinositler, mezenşimal hücreler, trofoblastlar ve osteoblastlar gibi birçok hücre tarafından eksprese edilirler (17,23).

2.2.2. MMP Grupları

Bugüne kadar insanlarda 24 MMP aile üyesi tanımlanmıştır (24). MMP'ler substrat özelliğine, bölge organizasyonuna ve dizi homolojisine göre, kollajenazlar, jelatinazlar, stromelezinler, matrilizinler, MT-MMP (Membran tipi MMP)'ler ve diğer MMP tipleri olmak üzere 6 gruba ayrılırlar (24,25) (Tablo 2-1)

Tablo 2-1: MMP tipleri

Kollajenazlar	MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18
Jelatinazlar	MMP-2 ve MMP-9
Stromelizinler	MMP-3 ve MMP-10
Matrilizinler	MMP-7 ve MMP-26
Membran Tipi MMP'ler	MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 ve MMP-25
Diğer MMP'ler	MMP-11, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-22, MMP-23 ve MMP-28

Kollajenazlar, kollajenaz-1 (MMP-1), kollajenaz-2 (MMP-8, nötrofil kollajenaz) ve kollajenaz-3'ü (MMP-13) içerir. Xenopus'ta (Kurbağa türü) 4. tip kollajenaz (MMP-18) bulunmasına karşın insandaki homoloğu tespit edilememiştir (24). Bu proteazlar, major fibriller kollajenleri (tip I, II, III) keserler.

Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9), denatüre kollajen ve jelatini etkili şekilde parçalar. MMP-2 (Jelatinaz A) kollajen tip IV, tip V, tip VII ve tip X'u, elastini, fibronektini, laminini ve çeşitli kemokinleri degrade eder ve pro mmp-1 ve pro mmp-9'u aktive eder (24). MMP-2'nin kardiyovasküler hastalıklardan ateroskleroz, anevrizma ve miyokard infarktüsünde rol oynadığı iddia edilmiştir (26,27). MMP-2'nin farmakolojik inhibisyonu veya gen delesyonunun, farelerde kardiyak rüptüre karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir, bunun ekstrasellüler matriks degradasyonunu önlediği gösterilmiştir (28). Anevrizmalar genellikle ateroskleroz ile ilişkilidir ve damarların mediasının yapısal ve hücresel elemanlarının yıkımı ile karakterizedir. MMP-2'nin knock out farelerin, deneysel olarak oluşturulan abdominal aortik anevrizmadan korunduğu tespit edilmiştir (29). MMP-9, kollajen tip IV, tip V, ve tip XI'i, tip I kollajenin N- telopeptitlerini, agrekan, kartilaj bağlantı proteinini ve elastini etkili bir şekilde yıkar (30). MMP-9, abdominal aortik anevrizmada eksprese edilmektedir (31). MMP-9 ekspresyon bozukluğunun, çeşitli deneysel modellerde anevrizma oluşumundan koruduğu ve jelatinaz B'nin damar duvarlarının parçalanmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (32). MMP-9'un kemik iliğinde uyarılması, sessiz halde duran endotelial ve hematopoetik kök hücrelerin proliferatif aşamaya geçmesine neden olarak hematopoetik yeniden yapılanmayı kolaylaştırır (33). MMP-9 ekspresyonu düzgün olmayan farelerin düz kas hücrelerinde in vitro olarak migrasyonun bozulduğu gösterilmiştir (34). Bulgular MMP-9 aktivitesinin, lezyon olgunlaşmasının kritik basamağı olan düz kas hücresi infiltrasyonunun olması için gerekli olduğunu göstermektedir (35).

Stromelizin 1 ve 2, proteoglikanlar, fibronektin, nidojen, laminin, kazein, jelatin, kollajen (tip IV, tip IX ve tip X), tenaskin, vitronektin ve dekorini yıkabilir. Stromelizinlerin her ikisi de pro MMP-9 ve prokollajenazı aktifleyebilir (17).

MMP-7 (Matrilizin 1), tip IV kollajen, laminin ve entaktini substrat olarak kullanmaktadır (24). Fizyolojik koşullar altında, MMP-7, mukoza ve epitel hücrelerinin ekzokrin gland hücrelerinden sekrete edilmekte ve bir antibakteriyal peptit olan defensini aktiflemektedir (36).

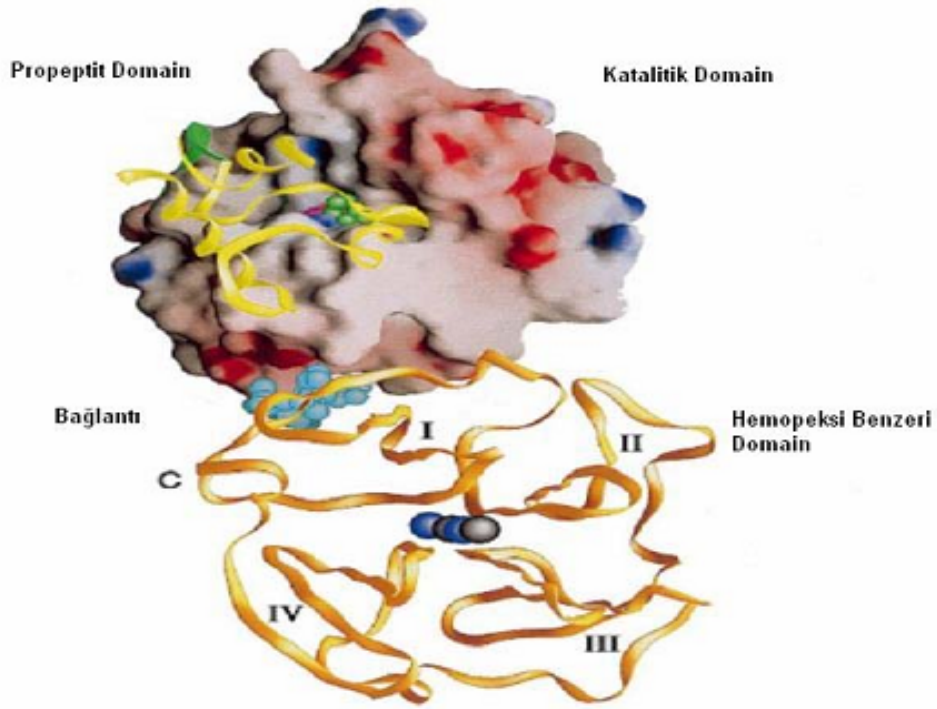
Membran tipi MMP (MT-MMP)'ler migrasyon, differansiasyon, apoptozis, proliferasyon gibi çeşitli fonksiyonları düzenleyen, hücre etrafındaki proteolizisin esas molekülleridir. MT-MMP grupları, dört transmembran enzimi (MMP-14, MMP-15,

MMP-16 ve MMP-24) ve glikozilfosfatidilinozitol (GPI) bağlayıcı proteazlardan (MMP-17 ve MMP-25) oluşmaktadır. MMP-14 (MT1-MMP), pro MMP-2'nin ve pro MMP-13'ün fizyolojik aktivatörüdür. MMP-14, major fibriller kollajeni (Ohuchi) içeren pek çok substratı kesebilir ve hücre migrasyonu, stroma yeniden modellenmesi, anjiogenezis ve doku tamiri gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır (24).

Diğer MMP'ler, MMP sınıfına ait olmasına karşın, dizi ve substrat özelliklerine göre MMP'in beş grubuna dahil edilmemiştir.

2.2.3. MMP Yapısı

MMP'ler yapısal olarak 3 bölge içerir: yaklaşık 80 aminoasitlik propeptit, yaklaşık 200 aminoasitlik hemopeksin domain ve yaklaşık 170 aminoasitlik katalitik domain (37). Propeptit domain enzimatik aktivitenin latent formda tutulmasını sağlar ve katalitik bölgedeki sistein rezidüsü içeren peptid zinciri ile etkileşir. Üç boyutlu yapı incelendiğinde sistein rezidüsünden oluşan bölgeye tutunan bir çinko atomu vardır. Sistein rezidüsünden çinkonun ayrılması katalitik bölgenin aktivasyonunu sağlar (38). MMP-7 dışında bütün vertebra ve insan MMP'leri C terminal hemopeksin benzeri domain (Hpx) ile eksprese edilir. Bazı hemopeksin benzeri domainler substrat tanınmasında ve substrata özel olmada görev yapar. Klasik MMP'lerin hemopeksin bölgeleri, elips benzeri bir yapı gösterir. Hpx polipeptit zinciri (Plazma hem bağlayıcı ve taşıyıcı protein hemopeksin ile dizi benzerliği olduğu için bu adı almıştır), dört β tabaka halinde organize olmuştur, merkezi bir eksen etrafında sıralanmışlardır. Her bir tabaka en iç zinciri aynı yönde birbirine paralel şekilde ilerleyerek merkezde baca şeklinde tünel oluşturur. Merkez tünelin içinde dört iyon tespit edilmiştir, tünelin girişinde kalsiyum iyonu, merkezinde klor kalsiyum iyon çifti vardır ve ikinci klor iyonu iki kalsiyum iyonu arasındadır(38) (Şekil 2-9).



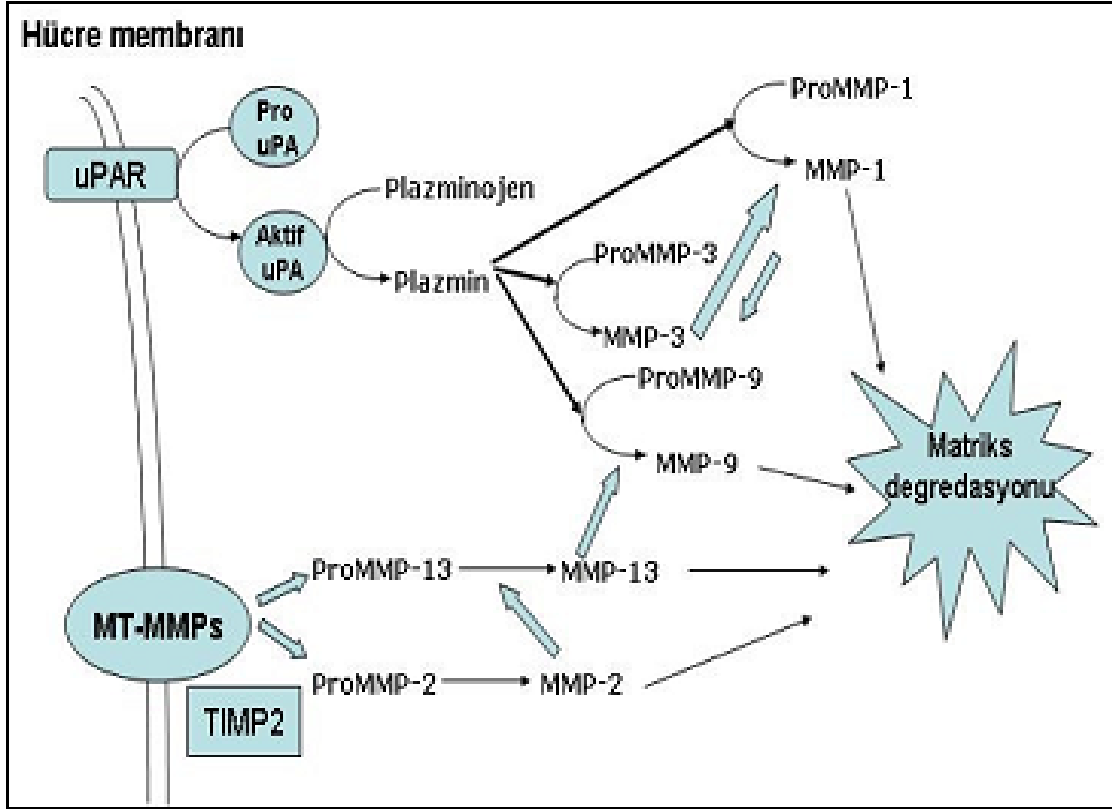
Şekil 2-9: proMMP'nin üç boyutlu yapısı (38).

2.2.4. MMP Aktivasyonu

Hücre dışı matriksin yıkımı, normal şartlar altında çok sıkı bir şekilde kontrol edilen bir süreçtir. Yetersiz yıkım normal hücre migrasyonunu engellerken, aşırı yıkım hücre dışı matrikse hücrenin yapışmasını engeller ve aynı zamanda bağ dokunun patolojik yıkımına neden olur (39). MMP'lerin zimojen formu inaktiftir. MMP aktivasyonunda primer mekanizma, sistein çinko etkileşiminin kesilmesi ile gerçekleşen "sistein switch" mekanizmasıdır. Sistein çinko bağının bozulması yapısal değişime neden olur ve katalitik bölgeyi ulaşılabilir hale getirir. Bu şekilde çinko atomundan sisteinin ayrılmasının aktivasyona neden olduğu gözlenmiştir (39,40).

Bütün MMP'ler gibi pro-MMP-9 da inaktif zimojenik formda üretilir ve aktivasyonu için enzimatik aktivite gerekmektedir. ProMMP9'un proteolitik ve proteolitik olmayan aktivasyon mekanizmaları çalışılmıştır. Stromelizin1 (MMP-3), proMMP-9'un en etkili aktivatörüdür, enzimin Glu59-Met60 peptid bağını keser, bunu takiben Arg106-Phe107 bağını ve ardından da, Arg106-Phe107 bağını keserek 85 kDa ağırlığında tam aktif formu oluşturur. MMP-2, MMP-7 ve MMP-13 (Kollajenaz-3),

proMMP-9'u aktive edebilir. MMP-2 ve MMP-13, proMMP-9'u MMP-9'ün kestigi bölgeden keserek aktiflerler (41) (Şekil 2-10).

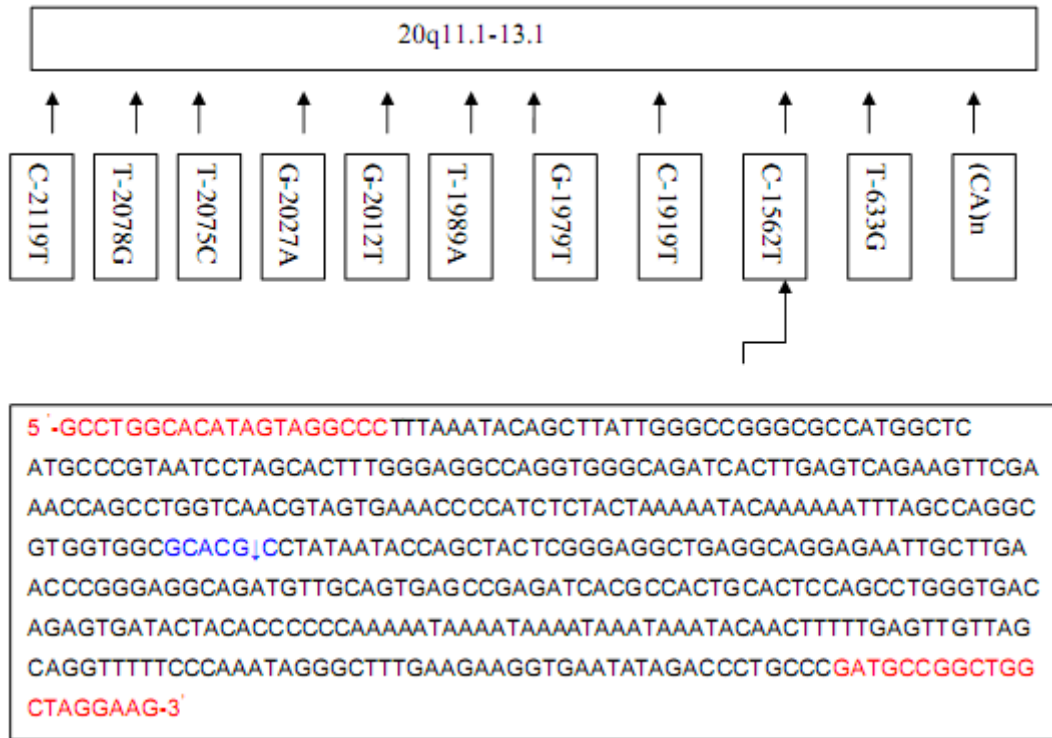


Şekil 2-10: Pro-MMP aktivasyon kaskadı (20).

2.2.5. MMP-9-1562 C/T Polimorfizmi

MMP-9 geni kromozom 20q11.1-13.1'de lokalizedir, 13 eksondan oluşmaktadır ve promoter bölgesi 2.2 kb uzunluğundadır (42,43). MMP-9 promoter bölgesinde bulunan polimorfizimler ve çalışılan bölgenin baz dizisi şekil 2-11'de gösterilmiştir. MMP-9 ekspresyonu esas olarak transkripsiyon düzeyinde kontrol edilir. MMP-9 geni promoter bölgesindeki çeşitli cis elamanlarının transkripsiyonu düzenlemede önemli olduğu gösterilmiştir (44). Promoter üzerinde 2AP-1 bölgesi (-533 ve -79, transkripsiyon faktörü c-fos ve c-jun tarafından bağlanır), PEA3 motifi (-540, transkripsiyon faktör ETS tarafından tanınır) ve nükleer faktör $\kappa\beta$ tarafından bağlanan (-

600) konsensus dizisi bulunur. Yapılan çalışmalarda, C-1562-T polimorfik bölgesini içeren 9 bp'lik bölgenin (GCGCAC/TGCC, -1567'den -1559'a kadar olan dizi), transkripsiyonu baskılayan proteininin bağlandığı önemli bir düzenleyici eleman olabileceği iddia edilmiştir (44). MMP geni, -1562 pozisyonunda fonksiyonel bir C-T değişiminin gözlemlendiği tek nükleotit polimorfizmine sahiptir. CC genotipi transkripsiyon aktivitesini baskılar (45). T allelinin artmış promotor aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (44).



Şekil 2-11: MMP-9 promotor bölgesinde bulunan polimorfizimler ve çalışılan bölgenin baz dizisi (42).

2.3. Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)

2.3.1. Genel Özellikler

MMP aktivitesi bazı faktörler tarafından inhibe edilmektedir. Bunlardan bir tanesi α 2- makroglobulindir (46). Bu molekül genel proteaz inhibitörüdür ve molekül ağırlığı yüksek olduğundan dolayı dokulara girişi zor olmaktadır. Bir diğer inhibitor ise

metalloproteazların doku inhibitörleridir (TIMP) (37). TIMP, MMP aktivitesini hem proenzim aktivasyonu aşamasında hem de substrat parçalanması sırasında regüle eder (46).

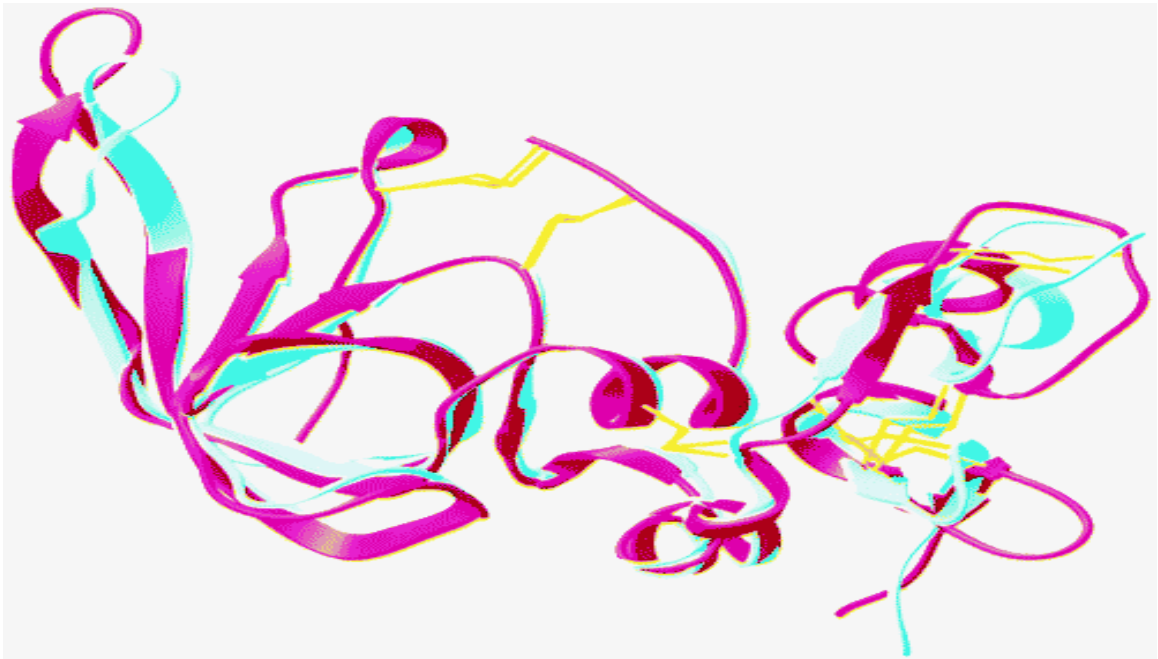
TIMP'ler, 21-28 kDa ağırlığında, bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan küçük proteinlerdir (17). Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar ve MMP'lerin aktif çinko bağlayıcı bölgesine bağlanarak aktivitesini bloke ederler (47). TIMP ailesinin 4 üyesi mevcuttur. TIMP-1, -2, -3 ve -4 (17), vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler . MMP ve TIMP arasında bulunan oran çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde değişmekte ve böylece bunlar arasındaki denge değişik patolojik durumların patogenezinde önemli bir rol oynayabilmektedir.

TIMP-1: 20 kDa ağırlığında X kromozomu üzerinde tanımlanmış bir proteindir. Yapısında 6 adet disülfid bağı içerir. Bu bağlar sayesinde konformasyonel mobilite sağlanmış olur. Aktif formu 28 kDa ağırlığında bir siyaloglikoproteindir (48). Özellikle makrofajlar olmak üzere pekçok hücrede üretilir , trombositlerde rezidü olarak bulunur ve çeşitli dokular ile vücut sıvılarında yer alır. TIMP1 spesifik olarak metalloproteinazlara karşı aktivite gösterir, diğer metalloendopeptidazlar üzerine inhibitör etkisi yoktur . TIMP-1 MMP'nin aktif formuna yüksek afinite ile nonkovalent bağlarla, bire bir oranında, irreversibl olarak bağlanır . Bu orandaki en ufak bir değişiklik MMP aktivitesi ile sonuçlanır .Ek olarak gelatinaz B nin proformuna bağlanabilir ve MMP-9 ile ilişkili olarak salgılanır (49).

TIMP-2: ilk kez melanom hücrelerinden izole edilen 21 kDa ağırlıkta non-glikolize bir proteindir (Şekil 2-12) 12 sistein rezidüsü vardır. TIMP-2, MMP-9 dışındakileri inhibe eder. MMP-2'yi inhibe eder ve fibroblast gibi bazı hücrelerde pro-MMP-2 ile birlikte sekrete edilir. Ancak alveolar makrofajlarda olduğu gibi tek başına da sekrete edilebilirler (50). TIMP-2, TIMP-1'den farklı bir şekilde regüle edilir, forbol esterleri ile üretimi uyarılmaz, TGF- β ile inhibe olmaz. TIMP-2'nin kan beyin bariyerinin proteolitik sızıntısını azalttığı saptanmıştır (49)

TIMP-3: meme kanserinden identifiye edilmiştir (50). TIMP-3; MMP-1,2,3,9 ve 13'ü inhibe eder. (51).

TIMP-4: MMP-2, 7 ve 9'u inhibe eder (52). Son zamanlarda insan kalbinde saptanan TIMP ailesinin son üyesi TIMP-4'ün de tümör invazyon ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (51). TIMP-3, %30 TIMP-1 ile %38 TIMP-2 ile homoloji gösterirken, moleküler klonlama sırasında ilk kez keşfedilen 22 kDa'luk TIMP-4, %37 TIMP-1 ile %51 TIMP-2 ve TIMP-3 ile homoloji gösterir (52).



Şekil 2-12: TIMP-2 üç boyutlu yapısı

2.3.2. TIMP-2-418 G/C Polimorfizmi

TIMP-2 geni kromozom 17q25.3'de lokalizedir, 5 eksondan oluşmaktadır. Gen 83kb uzunluğundadır. Genin 5' ucunda bulunan 2.6 kb'lık genomic DNA fragmanı beş Sp1, iki AP-2, bir AP-1 ve üç PEA-3 bağlanma bölgesi içeren birkaç düzenleyici bölge içerir. -281 pozisyonunda tam bir AP-1 olmasına rağmen promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-asetata yanıt vermemiştir. Ancak, -71 pozisyonunda bir yanıt

oluşmuştur. Promoter tipik CpG adası içerir ancak, bu adanın metilasyonu gen ekspresyonunu etkilememektedir. Genin 3' ucu analiz edildiğinde ise TIMP-2'nin mRNAları (1.2 and 3.8 kb) poliadenilasyon sinyali bölgeleri ile birbirlerinden ayrılırlar, ancak bu bölgelerin ayrımı RNA stabilitesini etkilememektedir. Özetle, TIMP-2 geni TIMP-1 ve TIMP-3 genlerinden belirgin olarak farklıdır. Bu farklılıklar matriks metalloproteinaz regülasyonundaki farklı özellikleri açıklamak için yeterlidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Grupları

Çalışmamızda 2 grup oluşturuldu. Kontrol grubu tamamen sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Deney grubu ise Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi kalp ve damar cerrahisi kliniğine varis şikayeti ile başvuran ve kalp damar cerrahları tarafından klinik olarak variköz dilatasyon tespit edilen hastalardan oluşturuldu.

Kontrol Grubu: Bu grup 70 sağlıklı kısıden olusturuldu. Olgular Marmara Tıp Fakültesi çalışanları arasından seçildi.

Deney Grubu: Bu grup kalp ve damar cerrahisi polikliniğine varis şikayeti ile başvuran ve klinik veya radyolojik olarak varis tanısı konulan 63 hastadan oluşturuldu.

Çalışma için hem İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi hem de Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesinden etik kurul onayları alındı. Hastalara bilgilendirilmiş onam formu dolduruldu ve imzalatıldı.

3.2. Çalışma Yöntemi

Gruplardan 10ml periferik kan örneği alındı ve EDTA'lı tüpe konuldu. Mümkün olan en kısa zamanda laboratuvar ortamına taşınarak DNA izolasyonu yapıldı.

3.3. Araç ve Gereçler

3.3.1. Alet ve Cihazlar

1. PCR cihazı (Applied Biosystems)
2. Dijital Görüntüleme sistemi (KODAK EDAS 290/UV Transilluminatör)
3. Elektroforez için güç kaynağı (Titan plus Helena Laboratories)
4. Hassas terazi (Shimadzu AX200)
5. Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Elektromag)
6. Mikrosantrifüj (TDX)

7. Pipet takımı (Brand)
8. Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208)
9. Su banyosu (Elektromag)
10. Elektroforez Sistemi (LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis)
11. Mikrodalga fırın (Philco)
12. Santrifüj (Hereaus)

3.3.2. Kimyasal Maddeler

1. Agaroz (Promega MBG)
2. Amonyum asetat (Sigma A-8920)
3. Amonyum klorür (Sigma A-5666)
4. Amonyum sülfat
5. Asetik asit (MERCK K-04134156)
6. Borik asit (Sigma B-6768)
7. Bromfenol blue (Sigma B-6896)
8. DNA marker (Fermentas)
9. EDTA (Merck K-90602121)
10. Etanol (%99 Tekel)
11. Etidyum Bromid (Sigma E-8751)
12. Hidroklorik asit (% 37 Merck K-13190114)
13. İzopropanol
14. Potasyum bikarbonat (Merck K-126223552)
15. Potasyum hidroksit (Sigma P 1767)
16. Primerler (Fermentas)
17. Proteinaz K (Stratagene 300-141)

18. Sodyum dodesil (lauryl)
19. Sülfat (Sigma L-5750)
20. Sodyum hidroksit (Merck C754962)
21. Sodyum klorür (Carlo Erba 368257)
22. Trizma baz (Sigma T-1503)
23. dNTP'ler (100 µmol/ml) (Fermentas)
24. Taq polimeraz (5U/µl) (Fermentas)
25. Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X)
26. Xylene blue (Fermentas)
27. HgaI kesim enzimi
28. Pae I kesim enzimi

3.3.3. Çözeltiler

Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)

25 mililitre 4 M NaCl ve 50 mililitre 0.5 M Etilendiaminasetat (EDTA) balon jojeye konuldu, 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

4 M Sodyum Klorür (NaCl)

233.6 gram NaCl tartılarak erlene alındı, 800 mililitre distile su ilave edilerek ve manyetik karıştırıcı ile çözündürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)

8.74 gram Amonyum klorür, 1 gram Potasyum bikarbonat, 200 µl 0.5 M EDTA erlen içine alındı. 900 mililitre distile su eklendi ve çözeltinin pH'sı 1N NaOH ile 7.4'e ayarlandı. Balon jojeye alınarak 1 litreye tamamlandı. Çözelti ısıya dayanıklı cam şişelere aktarılarak 120°C'de 15 dakika otoklavlandı ve +4°C'de saklandı.

0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8.0)

186.1 gram EDTA beher içine alındı. 800 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözüldürüldü. pH'sı NaOH çözeltisi ile 8.0'e ayarlandı ve distile su ile 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

%10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

10 gram Sodyum dodesil sülfat beher içine alındı. 80 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözüldürüldü, pH'sı 7.2'ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

Proteinaz K (20 mg/ml)

20 miligram Proteinaz K tartılarak steril bir tüp içinde steril distile su ile 1 mililitreye tamamlandı. -20 °C'de saklandı.

9.5 M Amonyum Asetat

73.22 gram amonyum asetat beher içine alındı. 80 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözüldürüldü. Balon jojeye aktarılarak distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4°C'de saklandı.

1 M Tris Tamponu (Stok)

121.1 gram Tris baz behere alındı. 42 µl hidroklorik asit (HCl) ile yaklaşık 800 mililitre distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile çözüldürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5X)

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 M ,etilendiamintetraasetat, 1 mililitre 1M Tris (pH 8.0), 200 miligram Bromfenol blue, 200 miligram xylene cyanol steril distile su ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

5X Tris-Borik Asit-Etilendiamintetraasetat (TBE)

54 gram Tris baz ve 27,5 gram borik asit beher içine alındı. 20 mililitre 0.5 M EDTA (pH 8.0) ve 800 ml. distile su ilave edildi manyetik karıştırıcı ile çözüldürüldü.Çözelti balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı ve 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

Etidyum Bromür (10 mg/ml)

1 gram Etidyum bromür tartılarak steril distile su ile 10 mililitreye tamamlandı.

3.4. DNA İzolasyonunun Yapılışı

DNA izolasyonunun ilk aşamasında 10 ml periferik kan örneği steril EDTA'lı tüplere alındıktan sonra falkon tüplere aktarıldı. Üzerine 1:3 oranında (30 ml) eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve +4°C'de 15 dakika bekletildi. +4°C'den çıkarılan örnekler 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi yapıldı. Tüplerde çökelmelerin başladığı bölgenin yakınına kadar olan süpernatant kısım atıldı. Üzerlerine tekrar 15-20 ml. eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atılarak süspanse edildi. İşlem tamamlandıktan sonra örnek üzerine 500 µl %10'luk SDS, 75 µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9.4 ml lökosit parçalama çözeltisi (WBL) eklenerek 56 °C su banyosunda 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her 1 ml. örnek başına 0.37 ml. olacak şekilde 9.5 M Amonyum asetat çözeltisi eklendi. Sonrasında yavaşça karıştırılarak 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edildi. Böylelikle proteinler çöktürülmüş oldu.

3.5. Moleküler Analiz

3.5.1. MMP-9 (-1562 C/T) Polimorfizminin Belirlenmesi

MMP-9 –1562'daki C/T dönüşümünün bulunduğu yeri belirlemek için, 435 bp'lik DNA bölgesi amplifiye edildi. Bu işlem için kullanılan primerler aşağıda verilmiştir.

MMP-9 (-1562 C/T) F 5' GCCTGGCACATAGTAGGCC 3'

MMP-9 (-1562 C/T) R 5' CTCCTAGCCAGCCGGCATC 3'

PCR reaksiyon karışımı yaklaşık 13 örnek için aşağıdaki gibi hazırlandı.

1-Bidistile Su.....	184.6 µl
2-10x PCR Buffer	32.5µl
3- dNTP Mix (2 mM).....	39 µl
4- Primer F.....	13 µl
5- Primer R.....	13 µl
6-MgCl ₂ .(25 mM).....	39 µl
7- Taq DNA Polimeraz.....	3.9µl

Hazırlanan PCR karışımından, 0,2 ml'lik ince çeperli eppendorf tüpüne 24'er µl konulduktan sonra her bir tüpe 1 µl DNA örneği eklenerek tüpler thermal cycler'a bırakıldı. Termal cycler'da, önce 1 döngü 5 dak. 95 °C de ilk denatürasyon, sonra 35 döngü; 30 sn 94 °C'de denatürasyon, 30 sn. 63 °C'de bağlanma (annealing), 45sn. 72 °C'de sentez (extension) ve 1 döngü 7 dak. 72 °C'de son sentez (final extension) aşamaları gerçekleştirildi. Yapılan PCR işlemi sonrasında, ürün oluşup oluşmadığını tespit etmek için agaroz jelde elektroforez işlemi yapıldı. Oluşması beklenen, 435 bp'lik DNA parçacığı gözlemlendi.

PCR aşaması sonucunda elde edilen 435 bp'lik PCR ürünü, bize sadece polimorfizmin olduğu bölgenin dizisini vermektedir. Ancak, bizim tespit etmeye çalıştığımız tek nükleotid değişimi olduğu için bu bölgeyi tanıyan bir Restriksiyon enzimi (RE) kullanılarak allel tespiti yapıldı. Bu işlem için, Pae I (Bbu I) enziminden

oluşan bir karışım hazırlandı. 1,5 µl bidistile su, 1,4 µl buffer B ve 0.3 µl Pae I (Bbu I)'dan oluşan enzim karışımı hazırlandı. 10 µl PCR ürünü bulunan her bir tüpe, 3,2 µl hazırlanan RE enzim karışımından eklendi ve 16 saat 37 °C etüvde bekletilerek kesme işlemi gerçekleştirildi.

Kesme işlemi gerçekleştirildikten sonra, % 2'lük agaroz plus jel hazırlandı. Kesim ürünleri DNA moleküler marker (Fermentas PUC 19, 50 bp marker veya 100 bp marker) ile birlikte yürütüldü. Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar UV ışık (304nm) altında incelendi.

Kesme işlemi sonucunda genotipleme aşağıdaki gibi yapıldı.

TT → 435 bp

CT → 435 bp, 247 bp, 188 bp

CC → 247 bp, 188 bp

3.5.2. TIMP-2 (-418 G/C) Polimorfizminin Belirlenmesi

TIMP-2 -418'deki G/C dönüşümünün bulunduğu yeri belirlemek için, 176 bp'lik DNA bölgesi amplifiye edildi. Bu işlem için kullanılan primerler aşağıda verilmiştir.

TIMP-2 (-418 G/C) F 5' GGATCCTGTCAGTTTCTCAA-3'

TIMP-2 (-418 G/C) R 5' TTTCCCCTTAGCTCGACTCT-3'

PCR reaksiyon karışımı yaklaşık 13 örnek için aşağıdaki gibi hazırlandı.

1-Bidistile Su.....	197.6 µl
2-10x PCR Buffer	32.5µl
3- dNTP Mix (2 mM).....	39 µl
4- Primer F.....	13 µl
5- Primer R.....	13 µl
6-MgCl ₂ .(25 mM).....	26 µl

7- Taq DNA Polimeraz.....3.9µl

Hazırlanan PCR karışımından, 0,2 ml'lik ince çeperli eppendorf tüpüne 24'er µl konulduktan sonra her bir tüpe 1 µl DNA örneği eklenerek tüpler thermal cycler'a bırakıldı. Termal cycler'da, önce 1 döngü 3 dak. 95 °C de ilk denatürasyon, sonra 35 döngü; 1 dk. 95 °C'de denatürasyon, 1 dk. 58 °C'de bağlanma (annealing), 1 dk. 72 °C'de sentez (extension) ve 1 döngü 1 dak. 72 °C'de son sentez (final extension) aşamaları gerçekleştirildi. Yapılan PCR işlemi sonrasında, ürün oluşup oluşmadığını tespit etmek için agaroz jelde elektroforez işlemi yapıldı. Oluşması beklenen, 176 bp'lik DNA parçacığı gözlemlendi.

PCR aşaması sonucunda elde edilen 176 bp'lik PCR ürünü, bize sadece polimorfizmin olduğu bölgenin dizisini vermektedir. Ancak, bizim tespit etmeye çalıştığımız tek nükleotid değişimi olduğu için bu bölgeyi tanıyan bir RE kullanılarak allel tespiti yapıldı. Bu işlem için, Hga I enziminden oluşan bir karışım hazırlandı. 1,5 µl bidistile su, 1,4 µl buffer B ve 0.3 µl Hga I'den oluşan enzim karışımı hazırlandı. 10 µl PCR ürünü bulunan her bir tüpe, 3,2 µl hazırlanan RE enzim karışımından eklendi ve 16 saat 37 °C etüvde bekletilerek kesme işlemi gerçekleştirildi.

Kesme işlemi gerçekleştirildikten sonra, % 2'lük agaroz plus jel hazırlandı. Kesim ürünleri DNA moleküler marker (Fermentas PUC 19, 50 bp marker veya 100 bp marker) ile birlikte yürütüldü. Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar UV ışık (304nm) altında incelendi.

Kesme işlemi sonucunda genotipleme aşağıdaki gibi yapıldı.

GG → 176 bp

GC → 176, 109, 67 bp

CC → 109, 67 bp

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizi SPSS 11.0 paket programı ile yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Polimorfizmlerin genotip frekansları Pierson Chi Square testiyle değerlendirildi. Genotiplerin Hardy Weinberg dengesinde olup olmadığı, Heliks Tri testiyle belirlendi. Gen polimorfizmi ve allel dağılımlarının değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda MMP-9 -1562 C/T ve TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizmleri ile variköz ven oluşumu arasındaki ilişkiyi belirlemek için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi kalp ve damar cerrahisi kliniğine başvuran ve klinik olarak varis tanısı alan 63 bireyden deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubu ise 70 tamamen sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Grupların demografik özellikleri Tablo 4-1’de verilmiştir. Deney grubundaki kadın hasta sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla bulunmuştur ($p<0.001$). Aynı şekilde deney grubunun aile öyküsü sorgulandığında 55 hastada ailesinden en az bir kişide varis olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise 9 bireyde aile öyküsü tanımlanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).

Tablo 4-1: Grupların demografik özellikleri

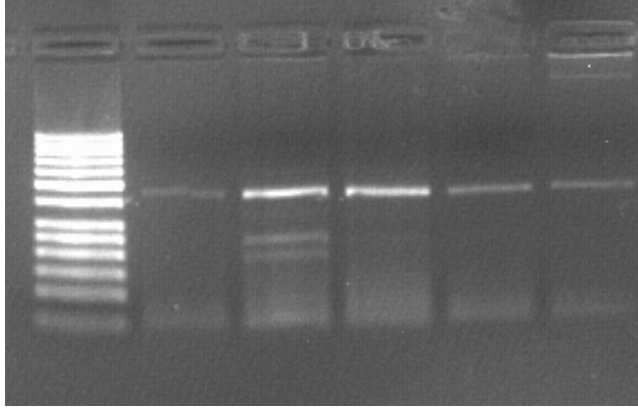
Klinik karakteristikler	Deney Grubu (63)	Kontrol Grubu (70)	p
Yaş	54.52 ± 16.73	57.99 ± 14.91	0.140
Kadın, n	34	22	0.007
Vücut kütle indeksi, kg/m ²	26.90 ± 4.19	25.84 ± 2.60	0.133
Sigara, n	51	59	0.390
Varis açısından aile öyküsü, n	55	9	<0.001

4.1. MMP-9 Genotip ve Allel Dağılımına Ait Bulgular

Çalışmamızdaki MMP-9 genotip ve allel dağılımı Hardy-Weinberg dekleminde uyumluydu. 70 Kontrol hastasının 23’ü (% 32.9) CT, 47’si (%67.1) TT olarak bulunmuştur. Deney grubunda ise 24’ü (%38.1) CT, 39’u (%61.9) TT olarak tespit edildi. Kontrol ve deney gruplarının hiçbirinde CC genotipi tespit edilememiştir.

Gruplardaki MMP-9 -1562 polimorfizmi genotipi ve allel dağılımları tablo 4-2’de gösterilmiştir. Deney ve kontrol grubu arasında MMP 9 gen ve allel dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p= 0.326$) (Şekil 4-2). Şekil4-1 de MMP-9 gen polimorfizminin %2’lik agaroz jeldeki görüntüsü verilmektedir.

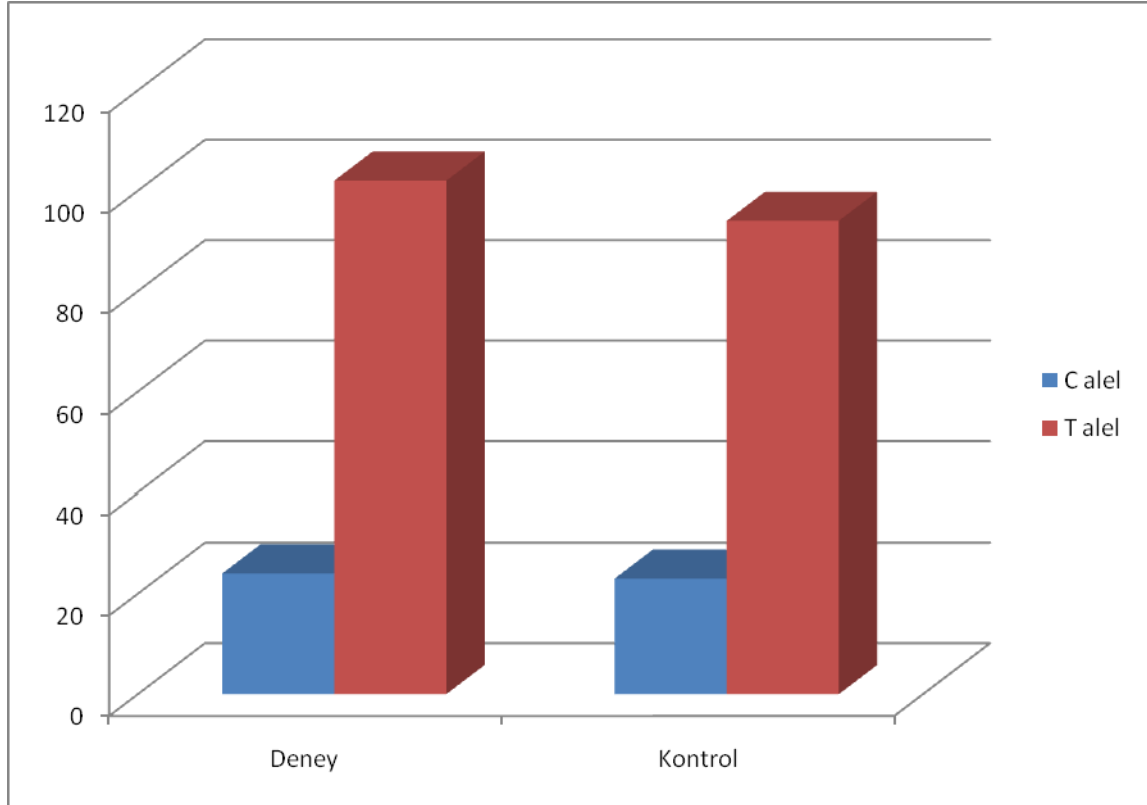
Marker TT CT TT TT TT



Şekil 4-1: MMP-9 gen polimorfizminin %2’lik agaroz jeldeki görüntüsü

Tablo 4-2: MMP-9 -1562 C/T genotip ve allel dağılımları

GEN	Deney (n=63)		Kontrol (n=70)	
	n	(%)	n	(%)
MMP-9 (-1562 C/T)				
CC	0	(0)	0	(0)
CT	24	(38.1)	23	(32.9)
TT	39	(61.9)	47	(67.1)
C	24	(19.05)	23	(19.66)
T	102	(80.95)	94	(80.34)

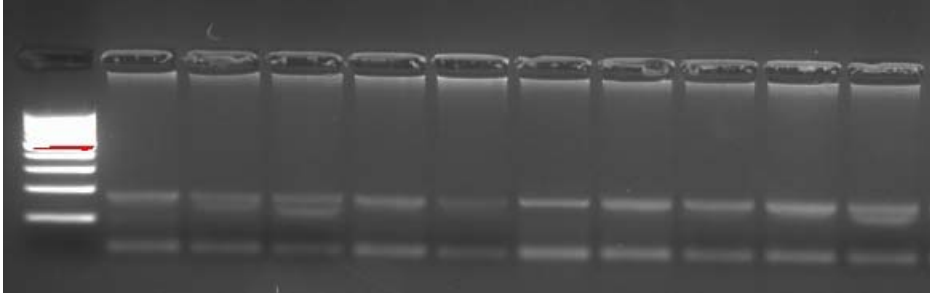


Şekil 4-2: Hasta ve kontrol gruplarında C ve T alel frekansları (p= 0.326).

4.2. TIMP-2 Genotip ve Allel Dağılımına Ait Bulgular

TIMP-2 genotip ve allel dağılımı Hardy-Weinberg denkleminde uyumluydu. 70 Kontrol hastasının 5'i (% 7.1) CC, 44'ü (%62.9) CG, 21'i (%30) ise GG olarak bulunmuştur. Deney grubunda ise 4'ü (%6.4) CC, 52'si (%82.5) CG ve 7'si ise GG olarak tespit edildi. Gruplardaki TIMP-2 -418 polimorfizmi genotipi ve allel dağılımları tablo 4-3'de gösterilmiştir. Deney ve kontrol grubu arasında TIMP-2 GG genotipi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p= 0.024) (Şekil 4-4). Bununla birlikte CC+CG genotipleri ile GG genotipleri açısından deney ve kontrol grubu karşılaştırıldığında deney grubunda CC+CG genotiplerinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. (p=0.007) (Şekil 4-5). Şekil 4-3'de TIMP-2 gen polimorfizminin %3'lük agaroz jeldeki görünümü verilmiştir.

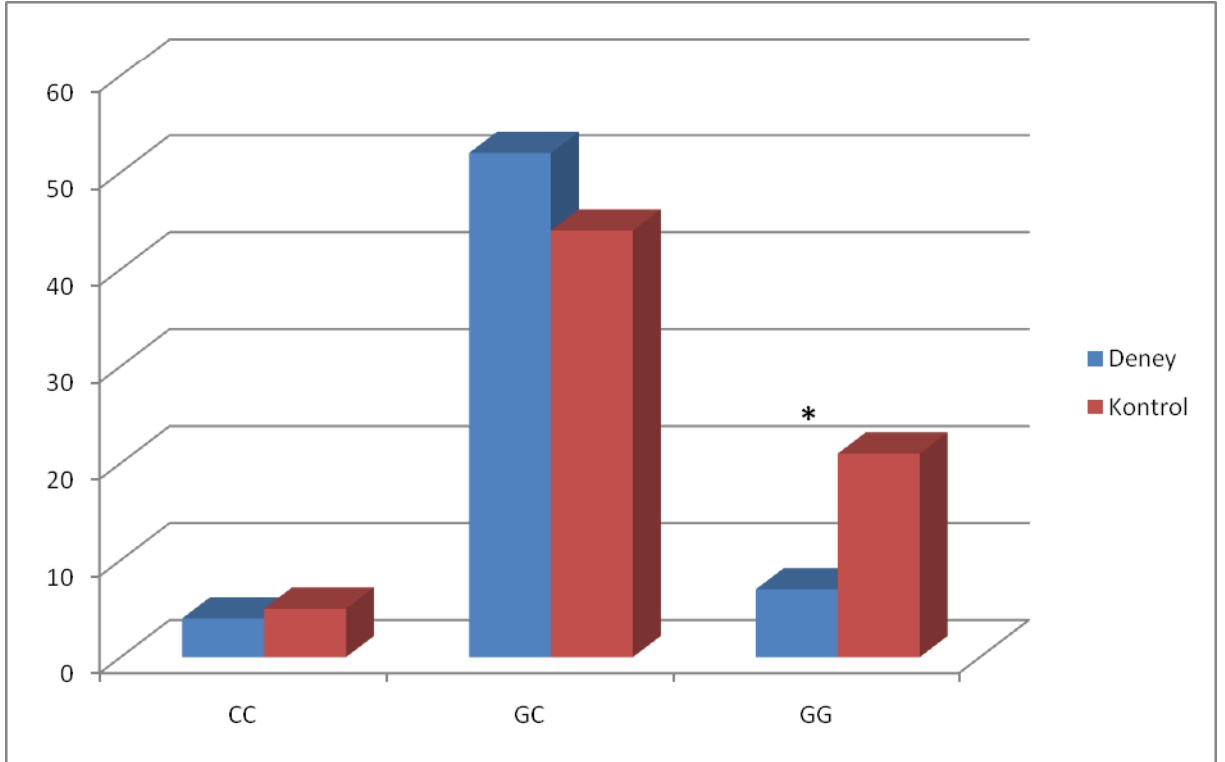
Marker GG GC GC GG GG GG GG GG GG GC



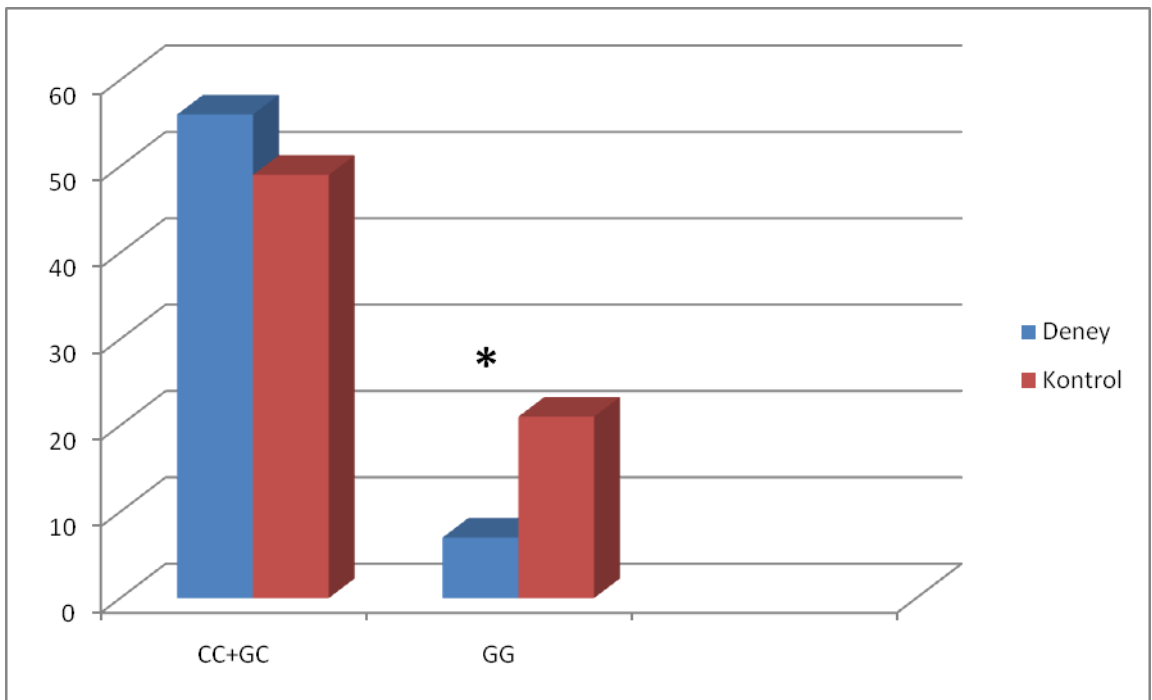
Şekil 4-3: TIMP-2 gen polimorfizminin %3'lük agaroz jeldeki görünümü

Tablo 4-3: TIMP-2 -418 C/G genotip ve alel dağılımı

GEN	Deney (n=63)		Kontrol (n=70)	
	n	(%)	n	(%)
TIMP-2 (-418 G/C)				
CC	4	(6.4)	5	(7.1)
CG	52	(82.5)	44	(62.9)
GG	7	(11.1)	21	(30.0)
C	60	(47.62)	54	(38.57)
G	66	(52.38)	86	(61.43)



Şekil 4-4: TIMP-2 -418 genotip dağılımı, * p=0.024.



Şekil 4-5: TIMP-2 -418 genotip dağılımı, * p=0.007.

5. TARTIŞMA

Variköz venler ve onun sonucu gelişen kronik venöz yetersizlik toplumda çok sık rastlanan ve hastaların yaşam kalitesini oldukça düşüren bir durumdur. Kadınlarda %25-32 erkeklerde ise %7-40 oranında gözükmetedir. Kronik venöz yetmezlik sonucu gelişen en kötü komplikasyonlardan biri olan venöz ülser oluşumu prevalansı ise %0.3-1'dir. Tedavisi çok uzun solukludur ve sağlık bütçesinin %1-3'ü bu hastalığın tedavisi için harcanmaktadır (14). Variköz ven gelişiminin sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik yatkınlığın önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Variköz veni olanların %50'sinde aile öyküsü saptanmıştır ve bu hastalarda genetik yatkınlık sonucu damar duvarında ve kapakçık yapısında zayıflık olduğu düşünülmektedir (8). Variköz venlerin içerisindeki kan akımında staz gelişmektedir. Kan akımındaki staz iskemiye neden olmakta ve bunun sonucunda da dokulara oksijen sağlanması azalmaktadır. Sonuçta endotel hücre aktivasyonu başlar, subendotel yapılarında belirgin değişiklikler gözlenir. Bu değişiklikler; lökosit infiltrasyonu, düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve bu hücrelerdeki değişikliklerdir (53).

MMP-9 birçok hücrenin yanı sıra endotelial hücreler tarafından da salgılanmaktadır. Pro MMP-9 tersiyer ve sekonder polimorfonükleer lökositlerin granüllerinde depo edilirler ve ufak bir aktivasyonda dahi ortaya çıkabilirler (54). Variköz ven oluşumunda rol oynadığı düşünülen kan stazının önemli bir markeri olarak pro MMP-9 düzeyleri gösterilmektedir (55).

Ven duvarı ECM ile çevrili bir endotelden oluşmaktadır. ECM ise kollajen, elastin, proteoglikanlar ve düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Variköz ven oluşumundaki bir diğer moleküler mekanizma elastin içeriğindeki azalmadır (8,56). Ancak kollajen hakkında tam bir görüş birliği yoktur. Bazı çalışmalarda variköz ven duvarında kollajen düzeyinin azaldığı, bazı çalışmalarda arttığı bazı çalışmalarda ise değişmediği rapor edilmiştir (57-59). Net kollajen miktarı kollajen biyosentezi ve MMPler tarafından (kollajenazlar, jelatinazlar ve stromelysinler) degradasyonu arasındaki denge ile ilgilidir. Plazma ve venöz dokuda bakılan MMP-1, 2, 3, 9 ve 13 düzeyleri variköz ven hastalarında artmış olarak bulunmuştur. Bu da MMP'lerin variköz ven oluşumunda rol oynadığını düşündürmektedir (60,61). Tromboflebit gelişen variköz ven hastalarının venöz duvarlarının tüm histolojik kısımlarında MMP'lerin fazlaca

eksprese edildikleri ve aktivitelerinin arttığı tespit edilmiştir (61). Bu durum MMP'lerin özellikle kronik hallerde daha çok eksprese edildiklerini düşündürtse de tam bir konsensus oluşmamıştır.

TIMP'ler MMP'lerin endojen inhibitörleridir. Endojen TIMP'lerin antianjiyogenik aktiviteleri bilinmektedir. TIMP-2 bFGF indüklenmiş endotelial hücre proliferasyonunu, TIMP-3 stimüle olmuş endotelial hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu, ve TIMP-4 bazal membranda endotel hücre tüp oluşumunu inhibe etmektedir. Literatürde TIMP gen transferi ile TIMP overekspresyonunun MMP aktivasyonunu azaltarak terapötik iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Örnek vermek gerekirse; TIMP-1 gen transferi uygulandığında tümör büyümesi ve anjiyogenez önlenmiştir (62). Benzer şekilde TIMP-1 ve TIMP-2 gen transferi yapıldığında aterosklerotik plak oluşumunda gerileme tespit edilmiştir. TIMP-2 makrofaj ve foam hücrelerinin migrasyon ve apoptozisini belirgin ölçüde inhibe etmiştir (63).

Variköz venlerde görülen ECM birikiminden MMP ve TIMP aktivitelerindeki dengesizlik sorumlu tutulmaktadır. Bu dengesizliğin sebeplerinden biri olarak MMP ve TIMP gen polimorfizmi düşünülmektedir. Matriks metalloproteinaz genlerinde doğal olarak oluşan bazı polimorfizmlerin, transkripsiyon faktörünün bağlanmasını değiştirerek MMP'lerin promoter aktivitesini etkilediği tespit edilmiştir. Buradan yola çıkarak çalışmamızda variköz ven hastalarında MMP-9 -1562 C/T ve TIMP-2 -418 G/C polimorfizmleri çalışılmıştır.

Çalışmamız; 63 varis hastası ve 70 sağlıklı kontrol grubundan oluşturuldu. Variköz ven oluşumu sebebi açısından MMP-9 1562 C/T ve TIMP-2 -418 G/C polimorfizmleri hasta ve kontrol gruplarında incelendi.

MMP ve TIMP gen polimorfizmleri çoğunlukla kanser hastalıklarında çalışılmıştır. MMP-9 1562 C/T polimorfizmi meme kanseri, gastrik kanser, renal hücreli karsinoma ve akciğer kanseri hastalarında çalışılmıştır ancak bu çalışmaların birçoğunda bu gen polimorfizmi ve hastalık açısından bir ilişki saptanamamıştır (64-67). Bunların dışında MMP-9 1562 C/T polimorfizmi abdominal aort anevrizması, diyabetik retinopati, koroner arter hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi birçok hastalıkta da çalışılmıştır (68-71).

Çalışmamızda MMP-9 genotip ve alel dağılımları deney ve kontrol grubu arasında farklılık göstermedi. Literatür taraması yapıldığında variköz ven ve buna bağlı

gelişen kronik venöz yetersizlik hakkında yapılan genetik çalışmalar arasında MMP-9 gen polimorfizmi ile yapılmış çalışmaya rastlamadık. Diğer MMP ailesi üyeleri ile ilgili pubmedde tarama yapıldığında ise konu ile ilgili tek bir makaleye rastladık. Çalışmada MMP-1 ve MMP-3 gen polimorfizmleri ve variköz ven oluşumu arasında ilişki araştırılmış ancak herhangi bir anlamlılık tespit edilememiştir (72).

TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizmi ise endometriyozis ve adenomyozis, gastrik kanser, kardiyak hastalıklar, periodontit, KOAH gibi hastalıklarda çalışılmıştır. Zhao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada endometriyozis ve adenomyozis (69). Yand ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise gastrik kanser ve TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizmi arasındaki ilişki çalışılmış ve CC+CG genotipi taşıyanlarda gastrik kanser gelişme oranı GG genotipine sahip bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş (70). TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizmi ve Qt uzaması ilişkisi üzerine yapılan bir çalışmada ise C alel taşıyıcılarında bu ritm problemi daha fazla yaşanmaktadır olarak rapor edilmiştir (71). Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise agresif periodontitin C alel taşıyıcılarında daha fazla görüldüğü saptanmıştır (73). Yine KOAH hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada ise TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizminin önemli olduğu gösterilmiştir (74).

Çalışmamızda TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizmi ile variköz ven oluşumu ilişkisi incelendi. GG genotipi kontrol grubunda deney grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulundu. Literatüre bakıldığında TIMP-2 gen polimorfizmleri ve varis oluşumunu araştıran bir çalışmaya rastlamadık ancak bulgularımız diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (70,71,73,74). Bu çalışmalarda da C allel taşıyanlarda hastalık görülme riski daha fazla bulunmuş ve GG genotipine sahip bireylerde hastalık görülme riski daha az tespit edilmiştir.

Sonuç olarak: Çalışmamızda, ilk defa variköz ven oluşumu ve MMP-9 -1562 C/T ve TIMP-2 -418 G/C gen polimorfizm ilişkisi analiz edildi. MMP-9 ile varis oluşumu arasında yakın bir ilişki olmasına karşın -1562 C/T polimorfizmi ile hastalık arasında bir ilişki tespit edilemedi. MMP inhibitörü olan TIMP-2 gen polimorfizmi de varis hastalarında ilk defa çalışıldı. GG genotipi kontrol grubunda belirgin olarak artmış bulundu. Bu durum literatür ile uyumluluk gösterdi. Çalışmamızda CC+CG genotip görülme sıklığı varis hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu durum C alel taşıyıcılığının venöz yetmezlik ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Bulgularımızın, farklı genetik varyantlara göre ilaçların geliştirilmesine ve hastalıkların tedavisine katkıda bulunacağı inancındayız. Hasta sayısı fazla olan ve MMP ailesinin diğer üyelerinin de çalışıldığı bir çalışma daha anlamlı sonuçlar elde edilmesine neden olabilir ancak yine de çalışmamızın bir ilk olması ve TIMP-2 gen polimorfizmi ve variköz ven hastalıkları arasında ilişki saptanması diğer çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Duran E. *Kalp ve Damar Cerrahisi*. I.Basım İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004,cilt I:p. 879-897.
2. Somjen GM. Anatomy of the superficial venous system. *Dermatol Surg* 1995;**21**:35-45.
3. Somjen GM, Ziegenbein R, Johston AH, Royle JP. Anatomical examination of leg telangiectases with duplex scanning. *J Dermatol Surg Oncol* 1993;**19**:940-945.
4. Weksberg F. Leg vein evaluation and therapy. *J Cutan Med Surg* 1999;**3**:43-48.
5. İnternet referansı Yrd. Doç.Dr. Şenol Gülmen KVY.
6. Saray Y, Güleç T. Variköz venler ve skleroterapi. *Dermatose* 2005;**4**:27-33.
7. Browse NL, Burnand KG, Irvine A, Wilson N, eds. Disease of the veins. London, 1999.
8. Rose SS, Ahmed A: Some thoughts on the aetiology of varicose veins. *J Cardiovasc Surg* 1986;**27**:534-543.
9. Van Bemmelen PS, Bedford G, Beach K, et al. Quantitative segmental evaluation of venous valvular reflux with duplex ultrasound scanning. *J Vasc Surg* 1989;**10**:425-431.
10. Cheatle TR, Perrin M. Venous valve repair; early results in fifty-two cases. *J Vasc Surg* 1994;**19**:404-414.
11. Colendge SPD. The roll of white cell trapping in the pathogenesis of venous ulceration. *Phlebol Gig* 1992;**4**:4-8.
12. Bollinger A, Leu AJ. Evidence for microvascular thrombosis obtained by intravital fluorescence videomicroscopy. *Vasa* 1991;**20**:253-257.
13. Leu AJ, Leu HJ. Microvascular changes in chronic venous insufficiency: A review. *Cardiovasc Surg* 1995;**3**:234-239.

14. Köksoy C. Kronik venöz yetmezlik 20.06.2009. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı. www.medicine.ankara.edu.tr/cerrahi_tip/genel_cerrahi/files Kronik venöz yetmezlik.
15. Sadick NS. Predisposing factors of varicose and telangiectatic leg veins. *J Dermatol Surg Oncol* 1992;**18**:883-886.
16. Porter JM, Moneta GL. Reporting standards in venous disease: an update. International Consensus Committee on Chronic Venous Disease. *J Vasc Surg* 1995;**21**:635-645.
17. Nagase H, Woessner JF, Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; **274**: 21491-94.
18. Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation* 2000;**102**:1874-1876.
19. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular Cell Biology* 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company 1999. p. 968-993.,
20. Reel B. Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006, **26**:527-537.
21. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: Structures, evolution and diversification. *FASEB J* 1998;**12**:1075-7095.
22. Garcia-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G, Spagnoli LG, Mauriello A, Conover C, Schwartz RS. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;**25**:1119-1127.
23. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis. The good, the bad and the ugly. *Circ Res* 2002;**90**:251-262.
24. Lemaitre V, D'Armiento J, Matrix metalloproteinases in development and disease. *Birth Defects Res. C Embryo Today* 2006; **78**: 1-10
25. John A, Tuszynski G, The role of Matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metasis. *Pathol Oncol Res* 2001; **7**: 14-23.

26. Goodall S, Crowther M, Hemingway DM, Bell PR, Thompson MM, Ubiquitous elevation of matrix metalloproteinase-2 expression in the vasculature of patients with abdominal aneurysms. *Circ Res* 2001; **104**: 304-309.
27. Spinale FG, Matrix Metalloproteinases: Regulation and dysregulation in the failing Heart. *Circ Res* 2002; **90**: 520-530.
28. Matsumura SI, Iwanaga S, Mochizuki S, Okamoto H, Oganawa S, Okada Y, Targeted deletion or pharmacological inhibition of MMP-2 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice. *J Clin Invest* 2005; **115**: 599-609.
29. Longo GM, Xiong W, Greiner TC, Zhao Y, Fiotti N, Baxter T, Matrix metalloproteinases 2 and 9 work in concert to produce aortic aneurysms. *J Clin Invest* 2002; **110**: 625-632.
30. Visse R, Nagase H, Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. *Circ Res* 2003; **92**: 827-839.
31. Thompson RW, Holmes DR, Mertens RA, Liao S, Botney MD, Mechem RP, Welgus HG, Parks WC, Production and localization of 92-Kilodalton Gelatinase in Abdominal Aortic Aneurysms. *J Clin Invest* 1995; **96**: 318-326.
32. Lutun A, Iutgens E, Manderveld A, Maris K, Collen D, Carmeliet P, Moons L, Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth. *Circ Res* 2004; **109**: 1408-1414.
33. Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MAS, Werb Z, Rafii S, Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; **100**: 625-637.
34. Cho A, Reidy MA, Matrix Metalloproteinase-9 Is Necessary for the Regulation of Smooth Muscle cell replication and migration after arterial Injury. *Circ Res* 2002; **91**: 845-851.
35. Gough PJ, Gomez IG, Wille PT, Raines EW, Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice. *J Clin Invest* 2006; **116**: 59-69.

36. Wilson CL, Ouellette, Andre J. Regulation of intestinal alfa-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate. *Science* 1999; **286**: 543-547.
37. Nagase H, Visse R, Murphy G, Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006; **69**: 562-573.
38. Bode W, Catalan FC, Tschesche H, Grams F, Nagase H, Maskos K, Structural properties of matrix metalloproteinases. *CMLS* 1999; **55**: 639-652.
39. Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T, Regulation of matrix metalloproteinases: An overview. *Mol Cell Biochem* 2003; **253**: 269-285.
40. Coussens LM, Werb Z, Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol* 1996; **3**: 895-904.
41. Fridman R, Toth M, Chvyrkova I, Meroueh SO, Mobashery S, Cell surface association of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B). *Cancer Metastasis Rev* 2003; **22**: 153-66.
42. Hirakawa S, Lange EM, Colicigno CJ, Freedman BI, Rich SS, Bowden DW, Evaluation of genetic variation and association in the matrix metalloproteinase 9 (MMP9) Gene in ESRD patients. *Am J Kidney Dis* 2003; **42**: 133-142.
43. Zhang B, Henney A, Ericsson P, Hamsten A, Watkins H, Ye S, Genetic variation at the matrix metalloproteinase-9 locus on chromosome 20q12.2-13.1. *Hum genet* 1999; **105**: 418-423.
44. Zhang B, Ye S, Herrmann SM, Ericson P, Maat M, Evans A, Arveiler D, Luc G, Cambien F, Hamsten A, Watkins H, Henney AM, Functional Polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circ Res* 1999; **99**: 1788-1794.
45. Souza AP, trevilatto PC, Scarel CRM, Brito JRB, Barros SP, Line SRP, analysis of the MMP-9 (C-1562T) and TIMP-2(G-418C) gene promoter polymorphisms in patients with chronic peridontitis. *J Clin Periodontol* 2005; **32**: 207-211.
46. Murphy G. The regulation of connective tissue Metalloproteinases by natural inhibitors. *Agents Actions Suppl.* 1991;**35**:69-76.
47. Stamenkovic I, Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *Semin. Cancer Biol* 2000; **10**: 415-433.

48. Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, Tanaka S, Ocmichi M, Abe S. Sputum Matrix Metalloproteinase-9:Tissue inhibitor of Metalloproteinase-1 ratio in acute asthma. *J.Allergy Clin Immunol* 2000;**105**:900-905.
49. Aksun SA, Özmen D, Bayındır O. Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin Tıp Bilimleri* 2001;**21**:332-342.
50. Curran S. and Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. *J Pathol* 1999;**189**:300-308.
51. Wang M, Liu Y.E, Greene J, Sheng S, Fuchs A, Rosen EM and Shi YE Inhibition of tumor growth and metastasis of human breast cancer cells transfected with tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *Oncogene*.1997;**12**:2767-2774.
52. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H and Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol.* 1997;**74**:111-122.
53. Michiels C, Arnould T, Remacle J. Hypoxia-induced activation of endothelial cells as possible cause of venous diseases: a hypothesis. *Angiology.* 1993;**44**:639–646.
54. Borregaard N, and Cowland J. Granules of the human neutrophilic leukocyte. *Blood.* 1997;**89**:3505–3521.
55. Jacob MP, Cazaubon M, Scemama A, Prié D, Blanchet F, Guillin MC, Michel JB. Plasma matrix metalloproteinase-9 as a marker of blood stasis in varicose veins. *Circulation.* 2002;**106**:535-538.
56. Venturi M, Bonavina L, Annoni F, Colombo L, Butera C, Peracchia A, Mussini E. Biochemical assay of collagen and elastin in the normal and varicose vein wall. *J Surg Res* 1996;**60**:245–248.
57. Gandhi RH, Irizarry E, Nackman GB, Halpern VJ, Mulcare RJ, Tilson MD. Analysis of the connective tissue matrix and proteolytic activity of primary varicose veins. *J Vasc Surg* 1993;**18**:814–820.

58. Haviarova Z, Weismann P, Stvrtinova V, Benuska J. The determination of the collagen and elastin amount in the human varicose vein by the computer morphometric method. *Gen Physiol Biophys* 1999;**18**:30–33.
59. Kockx MM, Knaapen MW, Bortier HE, Cromheeke KM, Bouterin-Falson O, Finet M. Vascular remodeling in varicose veins. *Angiology*. 1998;**49**:871–877.
60. Gillespie DL, Patel A, Fileta B, Chang A, Barnes S, Flagg A, Kidwell M, Villavicencio JL, Rich NM. Varicose veins possess greater quantities of MMP-1 than normal veins and demonstrate regional variation in MMP-1 and MMP-13. *J Surg Res* 2002;**106**:233–238.
61. Kowalewski R, Sobolewski K, Wolanska M, Gacko M. Matrix metalloproteinases in the vein wall. *Int Angiol* 2004;**23**:164–169.
62. Zacchigna S, Zentilin L, Morini M, Dell'Eva R, Noonan DM, Albini A, Giacca M. AAV-mediated gene transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 inhibits vascular tumor growth and angiogenesis in vivo. *Cancer Gene Ther* 2004;**11**:73–80.
63. Johnson JL, Baker AH, Oka K, Chan L, Newby AC, Jackson CL, George SJ. Suppression of atherosclerotic plaque progression and instability by tissue inhibitor of metalloproteinase-2: involvement of macrophage migration and apoptosis. *Circulation* 2006;**113**:2435–2444.
64. Grieu F, Li WQ, Lacopetta B, genetic polymorphisms in the MMP-2 and MMP-9 genes and breast cancer phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 2004; **88**: 197-204.
65. Matsumura S, Oue N, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Yamaguchi Y, Imai K, Nakachi K, Matsusaki K, Chayama K, Yasui W, A single nucleotide polymorphism in the MMP-9 promotor affects tumor progression and invasive phenotype of gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; **131**:19-5.
66. Awakura Y, Ito N, Nakamura E, Takahashi T, Kotani H, Mikami Y, Manabe T, kamoto T, Habuchi T, Ogawa O, Matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and renal cell carcinoma in a Japanese population. *Cancer Lett* 2006; **241**:1-5.

67. Wang Y, Fang S, Wei L, Wang R, Jin X, Wen D, Li Y, Guo W, Wang N, Zhang J, No association between the C-1562T polymorphism in the 97 promoter of matrix metalloproteinase-9 gene and non-small cell lung carcinoma. *Lung Cancer* 2005; **49**: 155-161.
68. Ogata T, Shibamura H, Tromp G, Sinha M, Goddard KA, Sakalihan N, Limet R, MacKean GL, Arthur C, Sueda T, Land S, Kuivaniemi H. Genetic analysis of polymorphisms in biologically relevant candidate genes in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 2005;**41**:1036-1042.
69. Zhao XW, Li Y, Wang N, Zhao J, Li XL, Liu Q, Jia JH, Yang ZF, Kang S. Study on the association of SNPs of MMP-2 and TIMP-2 genes with the risk of endometriosis and adenomyosis. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2008;**25**:280-283.
70. Yang L, Gu HJ, Zhu HJ, Sun QM, Cong RH, Zhou B, Tang NP, Wang B. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 G-418C polymorphism is associated with an increased risk of gastric cancer in a Chinese population. *Eur J Surg Oncol* 2008 ;**34**:636-641.
71. Lin TH, Chiu HC, Lee YT, Su HM, Juo SH, Voon WC, Lai WT, Sheu SH. The C-allele of tissue inhibitor of metalloproteinases 2 is associated with increased magnitude of QT dispersion prolongation in elderly Chinese - 4-year follow-up study. *Clin Chim Acta* 2007;**386**:87-93.
72. Kurzawski M, Modrzejewski A, Pawlik A, Drożdżik M. Polymorphism of matrix metalloproteinase genes (MMP1 and MMP3) in patients with varicose veins. *Clin Exp Dermatol* 2009;**34**:613-617.
73. Chen D, Wang Q, Ma ZW, Chen FM, Chen Y, Xie GY, Wang QT, Wu ZF. MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 gene polymorphisms in Chinese patients with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007; **34**:384-389.
74. Hirano K, Sakamoto T, Uchida Y, Morishima Y, Masuyama K, Ishii Y, Nomura A, Ohtsuka M, Sekizawa K. Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2001;**18**:748-752.

HAM VERİLER

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
HASTA * aileöykü	133	100,0%	0	,0%	133	100,0%
HASTA * BMI	31	23,3%	102	76,7%	133	100,0%
HASTA * var00004	133	100,0%	0	,0%	133	100,0%
HASTA * CÝNSÝYET	133	100,0%	0	,0%	133	100,0%

HASTA * aileöykü

Crosstab

Count		aileöykü		Total
		,00	1,00	
HASTA KONTROL		61	9	70
HASTA		8	55	63
Total		69	64	133

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	73,608 ^b	1	,000		
Continuity Correction ^a	70,656	1	,000		
Likelihood Ratio	82,519	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
Linear-by-Linear Association	73,055	1	,000		
N of Valid Cases	133				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 30,32.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval Pearson's R	,744	,058	12,742	,000 ^c
Ordinal by Ordinal Spearman Correlation	,744	,058	12,742	,000 ^c
N of Valid Cases	133			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

Chi-Square Tests

	Value
Pearson Chi-Square	. ^a
N of Valid Cases	31

a. No statistics are computed because HASTA is a constant.

Symmetric Measures

	Value
Interval by Interval Pearson's R	. ^a
N of Valid Cases	31

a. No statistics are computed because HASTA is a constant.

HASTA * SİGARA

Crosstab

Count		var00004		Total
		SÝGARA KULLAN MIYOR	SÝGARA KULLANIYOR	
HASTA KONTROL	59	11	70	
HASTA	51	12	63	
Total	110	23	133	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,258 ^b	1	,612		
Continuity Correction ^a	,077	1	,781		
Likelihood Ratio	,257	1	,612		
Fisher's Exact Test				,652	,390
Linear-by-Linear Association	,256	1	,613		
N of Valid Cases	133				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10,89.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval Pearson's R	,044	,087	,504	,615 ^c
Ordinal by Ordinal Spearman Correlation	,044	,087	,504	,615 ^c
N of Valid Cases	133			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

HASTA * CİNSİYET

Crosstab

Count		CİNSİYET		Total
		KADIN	ERKEK	
HASTA	KONTROL	22	48	70
	HASTA	34	29	63
Total		56	77	133

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	6,910 ^b	1	,009		
Continuity Correction ^a	6,017	1	,014		
Likelihood Ratio	6,960	1	,008		
Fisher's Exact Test				,013	,007
Linear-by-Linear Association	6,859	1	,009		
N of Valid Cases	133				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 26,53.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval	Pearson's R	-,228	,085	-2,679	,008 ^c
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,228	,085	-2,679	,008 ^c
N of Valid Cases		133			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
HASTA * MMP9	133	100,0%	0	,0%	133	100,0%

HASTA * MMP9 Crosstabulation

Count

		MMP9		Total
		CT	TT	
HASTA	KONTROL	23	47	70
	HASTA	24	39	63
Total		47	86	133

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,398 ^b	1	,528		
Continuity Correction ^a	,202	1	,653		
Likelihood Ratio	,398	1	,528		
Fisher's Exact Test				,588	,326
Linear-by-Linear Association	,395	1	,530		
N of Valid Cases		133			

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 22,26.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval	Pearson's R	-,055	,087	-,627	,532 ^c
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,055	,087	-,627	,532 ^c
N of Valid Cases		133			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
HASTA * TIMP2	133	100,0%	0	,0%	133	100,0%

HASTA * TIMP2 Crosstabulation

Count

		TIMP2			Total
		CC	GC	GG	
HASTA	KONTROL	5	44	21	70
	HASTA	4	52	7	63
Total		9	96	28	133

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	7,430 ^a	2	,024
Likelihood Ratio	7,736	2	,021
Linear-by-Linear Association	4,180	1	,041
N of Valid Cases	133		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,26.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval	Pearson's R	-,178	,083	-2,070	,040 ^c
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	-,187	,083	-2,184	,031 ^c
N of Valid Cases		133			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
HASTA * var00001	133	100,0%	0	,0%	133	100,0%

HASTA * TIMP-2 KOD Crosstabulation

Count

		TIMP-2 KOD		Total
		cc+gc	GG	
HASTA	KONTROL	49	21	70
	HASTA	56	7	63
Total		105	28	133

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7,118 ^b	1	,008		
Continuity Correction ^a	6,027	1	,014		
Likelihood Ratio	7,424	1	,006		
Fisher's Exact Test				,010	,006
Linear-by-Linear Association	7,064	1	,008		
N of Valid Cases	133				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 13,26.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Interval by Interval Pearson's R	-,231	,079	-2,722	,007 ^c
Ordinal by Ordinal Spearman Correlation	-,231	,079	-2,722	,007 ^c
N of Valid Cases	133			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.

FORMLAR**HASTA FORMU**

Form No:

Tarih :

Adı Soyadı :

Yaş :

Cinsiyet :

Boy:

Kilo:

Telefon no:

Öykü:**Özgeçmiş:**

Bacaklarda varis oluşma zamanı (ay):

Sigara tüketimi (süre, miktar)

İlaç kullanımı

Kardiyovasküler hastalıklar

Diabetes Mellitus

Hipertansiyon

Hiperlipidemi

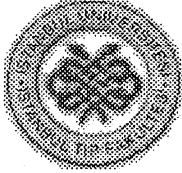
Diğer

Soy geçmişi:

Ailede varis öyküsü var/yok

Diğer

ETİK KURUL KARARI



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 20/06/2007

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 6

Sorumlu Araştırmacılığını Üniversitemiz Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Öğretim Üyesi Prof.Dr.Turgay İSBİR'in üstlendiği Uzm.Dr.Atike TEKELİ'nin yürüteceği 2007/1297 dosya no.lu "Variköz Ven Hastalarında MMP-9 ve TIMP-2 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı çalışma, Kurulumuzda incelendi etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

-Proje Yürütücüsü veya Sorumlu Araştırmacı PhD sahibi olan tıbbi ve sağlıkla ilgili (epidemiolojik olanlar dahil) hertürlü çalışmada mutlaka yardımcı araştırmacı olarak bir uzman klinikçi olmalı ve bu ilgili uzmanın çalışmanın (projenin) klinik kısmından veya insanla ilgili kısmından sorumlu olduğu etik kurul başvurusunda belirtilmelidir.

Prof.Dr. Zafer ARI

Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN

Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Ahmet GÜL

İç Hast. A.D, Romatoloji Bilim Dalı

Prof.Dr. Berrin UMMAN

Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Cahide GÖKKUŞU

Biokimya A.D

Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ

Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Sevinç EMRE

Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM

Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN

Nöroloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Ümit TÜRKOĞLU

Biokimya A.D

Prof.Dr. Çiçek BAYINDIR

Patoloji A.D., Nöropatolojik B.D

Prof.Dr. Yeşim ERBİL

Genel Cerrahi A.D.

Prof.Dr. Neşe ÇOLAK

İç Hast.A.D. End. Ve Metabolizma Hast. B.D

Prof.Dr. Nurhan ENGİNAR

Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Fatma Ceyda DÖNMEZER

Sivil Toplum Örgütü Üyesi

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ARAŞTIRMA ETİK KURULU

Sayı : B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/ 972

Konu :

08.06.2007

Sayın Doç. Dr. Selim İSBİR

MAR-YÇ-2007- 0152 protokol nolu "Variköz ven hastalarında MMP-9 ve TIMP-2 gen polimorfizmlerinin araştırılması" isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr. Haner DİRESKENELİ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Etik Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Atike	Soyadı	Tekeli Kunt
Doğ.Yeri	Uşak	Doğ.Tar.	06.12.1974
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	55609578948
Email	atikemd@gmail.com	Tel	0 532 746 78 69

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi A.D. Tıpta Uzmanlık	2004
Lisans	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi	1998
Lise	Uşak Anadolu Lisesi	1992

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Uzman Doktor	Özel Bahçelievler Medicana Hastanesi	2007-
2.	Uzman Doktor	Özel Academic Hospital	2005-2007
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	95	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows office programları	iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Sinema, tiyatro müzik