

**T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
DR. SIYAMI ERSEK
GÖĞÜS KALP VE DAMAR CERRAHİSİ
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**



**GENÇ YAŞTA MİYOKARD İNFARKTÜSÜ GEÇİREN HASTALAR
İLE ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTETAZ GEN 4b/4a
POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR.NEŞE ÇAM (KLİNİK ŞEFİ)

KARDİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

DR.ZEKİ YÜKSEL GÜNAYDIN

İSTANBUL-2010

TEŞEKKÜR;

Türkiye’de Göğüs Kalp Damar Cerrahisinin kurulması ve gelişmesinde büyük emeği olan hastanemizin kurucusu, merhum Prof.Dr. Siyami Ersek’i saygıyla anıyorum.

Sayın başhekimimiz Prof.Dr. İbrahim Yekeler ve şahsında, daha önce görev yapmış tüm başhekimlere, uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgi ve desteğini benden esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur duyduğum hocam Doç.Dr. Neşe Çam’a, ayrıca değerli kardiyoloji klinik şeflerimiz Doç.Dr.Kemal Yeşilçimen, Doç.Dr. Kadir Gürkan, Doç.Dr. Mehmet Eren, Doç.Dr. Osman Bolca,Doç.Dr. Gülşah Teyyareci’ye, kardiyoloji şef yardımcılarımız Dr.Recep Öztürk,Dr. Hasan Sunay, Dr. Mehmet Öner Engin, Doç.Dr. İzzet Erdinler, Doç.Dr.Şennur Ünal’a,Doç.Dr.Nurten Sayar’a .Kardiyovasküler cerrahi, anestezi, radyoloji ve pediyatrik kardiyoloji şef ve şef yardımcılara.

Eğitimim sırasında bana birçok şey katan Doç.Dr.Nihat Özer’e,aynı ekibin bir parçası olmaktan mutluluk duyduğum, eğitimim ve tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen klinik şef yardımcısı Doç.Dr.Hülya Kaşıkçıoğlu, Uz.Dr.Şükrü Aksoy’a,diger başasistan, uzman ve asistan arkadaşlarıma, hastane hemşireleri, personeli ve tüm çalışanlarına,tez çalışmasında bana her türlü konuda yardımcı olan Uz.Dr.Turgay Işık’a,

Bugünlere gelmemde büyük katkısı olan, anneme, babama ,kardeşlerim ve tüm dostlarıma , “Teşekkürlerimi sunarım.”

Dr.Zeki Yüksel Günaydın

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	7
MATERYAL VE METOD.....	41
BULGULAR.....	48
TARTIŞMA VE SONUÇ	51
KAYNAKLAR.....	55

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ACC/AHA: American heart association

AMI: Akut miyokard enfarktüsü

BMI: Body mass index

CK: Kreatin Kinaz

cTnT: Troponin T

cTnI: Troponin I

DM: Diabetes Mellitus

EKG: Elektrokardiyografi

HDL: High densitiy lipoprotein

HT: Hipertansiyon

IKH: İskemik kalp hastalığı

KAH: Koroner arter hastalığı

KKH: Koroner kalp hastalığı

KKY: Konjestif kalp yetersizliği

LDH: Laktat dehidrogenaz

LDL: Low density lipoprotein

MI: Miyokard infarktüsü

TG: Trigliserit

T.Kol: Total kolesterol

USAP: Anstabil Angina Pectoris

DNA: Deoksiribonükleik Asit

HCRP:High Sensitive C-Reaktif Protein

PCR:Polimeraz Zincir Reaksiyonu

GİRİŞ

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de ölüm nedenlerinin başında iskemik hastalıklar gelmektedir. Bunların altında yatan neden ise ateroskleroz ve bunun üzerine yerleşen trombüstür. Aterosklerotik damar hastalığı yaşamın erken dönemlerinde başlar, yavaş ve progresif bir seyir gösterir. Klinik yansımalarını ileriki yaşlarda gördüğümüz bu süreç yaşam boyu devam eder. Türk Erişkinlerinde Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışması verilerine göre 2000 yılı itibariyle ülkemizde 2.000.000 koroner arter hastası vardır ve bu rakam 2010 yılında yaklaşık 3.400.000'e ulaşacaktır.

Ülkemizde her yıl yaklaşık 65.000 kişi koroner arter hastalığına bağlı ani ölüm nedeni ile kaybedilmektedir. ST yükselmeli akut miyokarda enfarktüsü (STEMI) olguların çoğunda aterosklerotik plak yırtılması ile açığa çıkan trombojenik maddelerin bir yandan trombositleri, diğer yandan trombin yoluyla koagülasyon mekanizmasını uyarması ile koroner içi tıkayıcı trombüs gelişmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır. Koroner arter tam tıkanığında yeterli kollateral dolaşım da yoksa ilerleyici miyokarda nekrozu gelişmektedir. Bu nedenle Akut miyokard enfarktüsü (AMI)'de reperfüzyonun mümkün olduğunca hızlı sağlanması gerekmektedir. Uzun yıllardır aterosklerozun en erken lezyonu olan yağlı çizgilerin, erken çocukluk döneminde aortta saptandığı bilinmektedir. Bugün aterosklerozun fetal gelişme döneminde başladığı, yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Koroner arter hastalığının klinik belirtilerinin görüldüğü dönemde, hastalık genellikle ilerlemiştir ve alternatif tedavi yöntemleri çoğu zaman hastalığın ilerleyişini geciktirmek için geçici olarak uygulanır. Miyokard enfarktüsünde çevresel faktörlerin yeri, yapılan çalışmalarda ortaya açık bir şekilde ortaya konmuştur. Hipertansiyon diyabet, hiperkolesterolemi, yaş, cinsiyet ve ailede öyküsünün varlığı aterosklerozun klasik risk faktörleri olarak anılmaktadır. Bu faktörlerin ötesinde klinik ve biokimyasal bazı etmenlerde son yıllarda artan sayılarda çalışmalara konu olmuştur. Homosisteinemi, lip (a) yüksekliği, obezite, metabolik sendrom ve psikojenik faktörler bunların bir kaçıdır. Hastalığın klinik bulgulara neden olmadan, erken evrelerde tanınması fikri, hastalığın patogenezi multifaktoriyel kabul edilmesine rağmen, genetik çalışmalar üzerinde yoğunlaşmaya yol açmıştır. Çevresel faktörlerin de etkisi altında olan

genetik tanımlayıcılar, hastalığın başlangıcı ve ilerlemesi safhalarında etkili gözükmemektedir.

Bunların ötesinde genç yaşta enfarktüs geçiren hastaların klasik risk faktörlerine sahip olmaması ve önemli bir kısmında aile öyküsünün bulunması bu genetik faktörlerin önemini arttırmıştır.

Tablo 1

<u><i>NCEP risk faktörleri*:</i></u>	<u><i>Diğer risk faktörleri:</i></u>
1-Yaş: Erkek > 45 Kadın > 55	1-Serum Lipoprotein(a) > 33 mg/dl
2-Hipertansiyon (kan basıncı >140/90 ya da antihipertansif tedavi alan)	2-Serum homosistein > 10nmol/l
3-Sigara içimi	3-Küçük yoğun LDL partikülleri
4-Ailede erken yaşta koroner kalp hastalığı: 1. dereceden erkek akraba<55 yaş 1. dereceden kadın akraba<65 yaş	4-Serum VLDL/trigliseride > 0,3
5-Serum HDL < 40mg/dl	5-Hiperinsülinemi ve insülin direnci
*Diabetes mellitus koroner kalp hastalığının risk eşdeğeri olarak kabul edilmektedir.	6-Abdominal obezite
	7-Yüksek serum CRP konsantrasyonu
	8-Yüksek lökosit ve/veya yüksek hematokrit
	9-ACE için DD genotipi
	10-Antioksidan vitaminlerin eksikliği
	11-Arkus senilis
	12-Klamidya enfeksiyonu
	13-Yüksek plazma fibrinojen, Faktör VII,VIII, plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 konsantrasyonları

Kardiyovasküler hastalık ve ateroskleroz gelişimi için iyi bilinen risk faktörleri 2001 yılında “National Cholesterol Education Program” (NCEP) tarafından yayınlanmıştır. Klasik faktörlerin yanı sıra diğer başka risk faktörleri de tanımlanmıştır .1 2 3

TEZİN AMACI

Genç yaşta enfarktüs geçirenlerin gelişteki klinikleri yaşlı hastalardan daha farklıdır. Genç grupta daha az oranda enfarktüs öncesi angina varlığı, damar tutulumunun az olması, normal ve normale yakın koroner anatomili enfarktüslerin artmış sıklığı, klasik risk faktörlerinin yokluğu gözlenmektedir. Tablo bu hastalarda aterosklerotik sürecin (yani artmış plak yükünün) ötesinde, plak vulnerabilitesi ve trombotik sistem aktivasyonunun varolan klinik olaylarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu temelden yola çıkarak bu tablonun genetik arka planını ve genç yaşta miyokard infarktüsü geçiren hastalarda endotelyal Nitrik oksit geni intron 4a/b polimorfizmi ile arasındaki ilişkiyi araştırmayı hedefledik.

GENEL BİLGİLER

ATEROSKLEROZ

Ateroskleroz; koroner, karotis ve periferik arter hastalığının en sık nedenidir. Aortadan epikardiyal koroner arterlere kadar değişen büyüklükte büyük ve orta boy musküler arterlerin primer olarak intimasını, sekonder olarak medya ve adventisya tabakalarını fokal olarak tutan fibroproliferatif karakterde kronik inflamatuvar bir hastalıktır.¹ Ateroskleroz hayatın erken dönemlerinde başlayıp, tüm yaşam boyunca ilerleme göstermektedir. En önemli komplikasyonları olan miyokard infarktüsü ve ani kardiyak ölüm ise dakikalar içinde gerçekleşmektedir. Aterosklerozun büyüme hızı tahmin edilememektedir. Her insanın sahip olduğu yaşam tarzı, maruz olduğu etkenler, genetik faktörler mevcut olan ateroskleroz gelişimini etkilemektedir. Herşeye rağmen bu sürecin klinik olarak anlam teşkil etmesi için uzun yıllara ihtiyaç vardır.

Ateroskleroz Patogenezi

Erken Dönem Aterogenez

Normal endotel damar iç yüzeyinde bir bariyer oluşturmalarının yanında otokrin ve parakrin salgılar yapan, kan akışkanlığı, vazomotor tonus düzenlenmesi, anti-inflamasyon ve antitrombotik görevleri olan dinamik bir organdır. Hasar-yanıt hipotezine göre ateroskleroz patogenezinde ilk olay endotel hasarıdır. Bunun sonucunda endotel disfonksiyonu veya aktivasyonu gelişir. Endotel disfonksiyonu ile aterosklerotik süreç başlamış olarak kabul edilir. Fokal olarak inflamasyonun tetiklenmesi ile aterosklerozun ilk lezyonları olarak karşımıza çıkan asimetrik intimal kalınlaşma oluşur. Asimetrik intimal kalınlaşma, mevcut olan intimal düz kas hücreleri tarafından salgılanan proteoglikanlar (asıl olarak kondroitin sulfat proteoglikan) ve diğer ekstraselüler matriks bileşenleri tarafından oluşmaktadır. Aktive endotelde nitrik oksit/NO ve prostaksiklin/PGI₂ salınımı azalır ve sonuçta vazodilatatör rezerv bozulur. Normal bariyer fonksiyonları kaybolur ve endotelin aterojenik partiküllere karşı geçirgenliği artar. Ayrıca endotelin/ET-1 ve anjiyotensin II ekspresyonu artar, vazokonstriktör cevapta artışın yanı sıra bu medyatörler büyüme faktörlerini aktive ederler.(şekil-1)

Aktive endotelden nükleer faktör kapp beta/NF-kB'nın aşırı salgılanması adhezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, Selektinler), büyüme faktörlerinin (TNF-alfa, PKBF) ve kemoatraktanların (MKP-1, M-KSF, IL-beta, IL-8, IL-6, IL-18, IFN) artmış salınımına neden olur. Disfonksiyone endotel antikoagülan özelliklerini kaybeder, prokoagülan aktivite gösterir. Platelet aktive edici faktör/PAF, plazminojen aktivatör inhibitör-1/PAI-1, Von Willebrand faktör/VWF, doku faktörü/TF ve trombomodulin disfonksiyone endotelden aşırı salınarak prokoagülan bir durum oluşturur.

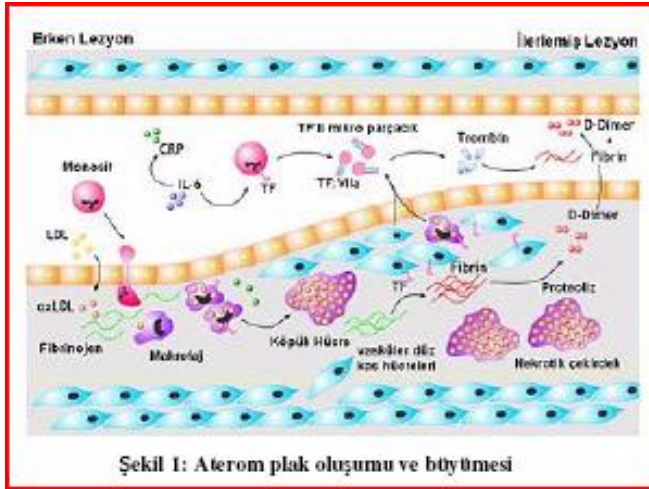
Disfonksiyone endotelde düşük dansiteli lipoprotein/LDL transportu ateroskleroz patogenezinde en önemli mekanizmalardan biridir. LDL transportu, apo B'nin proteoglikanlar, kollajen ve fibronektin gibi matriks proteinleriyle iyonik etkileşmesi sonucu oluşmaktadır. Bu etkileşim, aterosklerotik süreçte intimada LDL toplanması dışında inflamatuvar reaksiyonları arttırması ve köpük hücrelerinin oluşması açısından da çok önemlidir. LDL, intimada agregasyon, oksidasyon ve degradasyonu içeren bir seri modifikasyona ve enzimatik olmayan glikasyona maruz

kalır. LDL'nin oksidasyonu lizofosfotidilkolin gibi modifiye lipidlerin salınımına yol açar. Bu lipid türlerinin bazıları sinyal molekülü gibi davranıp endotel hücrelerini aktive eder ve vasküler selüler adezyon molekülü-1/VCAM-1 ekspresyonuna neden olur.

Aterogeneze en erken yanıtlardan biride kemik iliği kaynaklı

monositlerin ve daha az oranda T lenfositlerin toplanmasıdır. Bu hücrelerin kalıcı ve tekrarlayıcı yanıtı ateroskleroz patogenezinde oldukça önemli bir role sahiptir.²⁻⁴ Monositlerin ve T lenfositlerin adezyonu endotel inflamasyonu sonucunda salgılanan adezyon molekülleri ile oluşmaktadır.

T hücreleri aterosklerozun başlangıcından itibaren vardır ancak makrofajlara göre sayıları daha azdır. T hücreleri, makrofajlardan salınan IL-12 ve IL-18'e cevap olarak interferon -gama/IF-g, tümör nekrotizan faktör/TNF-alfa, IL-2-4-6-8-10 ve trombosit kökenli büyüme faktörü/PKBF salgılar. Bu inflamatuvar sitokinler



aterosklerotik plağın progresyonunda görev alırlar. Ayrıca PKBF vasküler düz kas hücreleri için bir uyarandır. İleri aterosklerotik plaklarda adventisya tabakasında B hücreleri de bulunur.

Vasküler düz kas hücreleri normalde aterom plağından internal elastik lamina ile ayrılmıştır. Hastalığın erken dönemlerinde düz kas hücreleri özellikle PKBF'ye yanıt olarak plak bölgesine göç eder ve prolifer olmaya başlar. Düz kas hücreleri fibröz doku (ekstraselüler matriks) üretimini arttırarak plağın fibröz başlığını oluşturur. Böylece plak stabilizasyonunda ve plak progresyonunda görev alır. Ayrıca rüptüre plaklarda aterom plağının iyileşmesi düz kas hücreleri tarafından sağlanmaktadır. Rüptür atakları sonrası düz kas hücreleri tarafından oluşturulan ekstraselüler matriks ile iyileşme plak stabilizasyonu sağlarken bir yandan da plağın hızlı büyümesine neden olur.

İleri Dönem Aterotromboz

Eksantrik vasküler remodeling, neovaskülarizasyon, lipid plağın büyümesi, matriks metalloproteinaz/MMP salınımı, programlı hücre ölümü (apoptoz) ve trombogenez ileri aterotromboz evresinde gözlenmektedir.

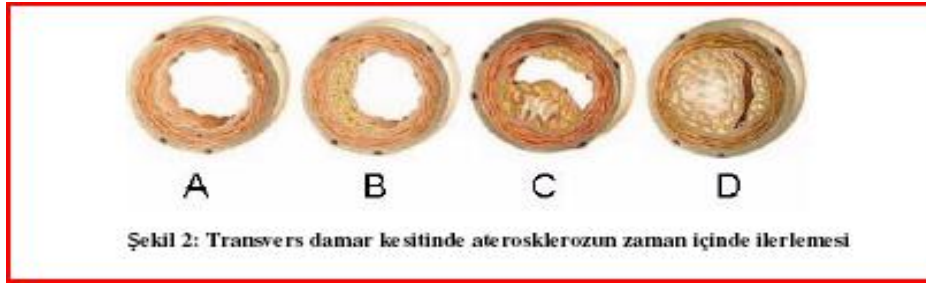
Aterom plağının olduğu bölgede damar duvarının lümenini tıkamaksızın dışarı doğru genişlemesi ekspansif (pozitif) remodeling olarak bilinirken, lümeni daraltacak şekilde içeri doğru büyümesi ise konstriktif (negatif) remodeling olarak tarif edilir.(şekil-2)

Pozitif (ekspansif) remodeling gösteren plaklarda daha çok lipid çekirdek ve makrofaj, daha az düz kas hücresi ve fibröz doku izlenmiştir. Ayrıca pozitif remodeling paterni gösteren plaklar negatif remodelinge uğrayan plaklara göre daha yüksek serum MMP-2 ve MMP-9 seviyeleriyle ilişkili bulunmuştur.^{5,6}

Ekspansif remodelinge uğrayan vasküler bölgelerde internal elastik laminada dışa doğru çekilme ve bütünlük kaybı izlenmiştir.Özellikle medyal düz kas tabakasında atrofi, fibrozis ve adventisya tabakasıyla beraber inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmiştir. Bu özellikler itibariyle pozitif remodeling gösteren plaklar, plak yırtılması ve akut koroner olay gelişmesi açısından yüksek riskli olarak kabul edilmektedir.^{2,6} Pozitif remodelinge uğrayan plaklarda rüptür ve akut olaylar daha sık izlenirken negatif remodeling daha çok kararlı anjina pectoris ile ilişkilidir Normal bir damarda tunika adventisya ve medyanın eksternal elastik laminaya komşu bölümü

vasa vasorumlar aracılığıyla beslenirken, endotel ve tunika medyanın internal elastik laminaya komşu kısmı damar lümeninden difüzyonla beslenir. Aterosklerotik damar duvarındaki kalınlaşmalar difüzyon mesafesini artırır. Difüzyonun bozulması nedeniyle oluşan hipoksiye sekonder büyüme faktörleri salınarak yeni damar gelişimi tetiklenir. Oluşan bu yeni damarlar iyi gelişmemiş, kanamaya ve sızdırmaya müsait damarlardır. Bu olaya plak neovaskülarizasyonu adı verilir. Neovaskülarizasyon, aterom plağının hızlı büyümesine ve plak yırtılmasına zemin hazırlar.

Aterosklerozun ilerlemesi esnasında makrofajlar, düz kas hücreleri ve endotelyal apoptotik ölümle izlenmektedir. Apoptoz plağın stabil yapısını bozar ve plak yırtılmasına zemin hazırlar. Düz kas hücrelerinin ölümü ekstraselüler matriks üretiminin azalmasına dolayısıyla fibröz başlığın zayıflamasına, endotel hücrelerinin ölümü ise plak erozyonuna neden olur.



Stabil plaklara göre yırtılma ve akut koroner sendroma yol açma ihtimali yüksek plaklara hassas plak adı verilir.

Hassas plakların histopatolojik özellikleri;⁷⁻⁹

Uygun koşullar altında lipid çekirdeği saran fibröz kapsül rüptüre olur. Böylelikle yüksek trombojeniteye sahip lipid çekirdek pıhtılaşma faktörleri ve trombositler ile temasa geçerek tıkaçıcı olan veya olmayan lümenal trombus oluşumuna neden olur. Fibröz kapsül en sık omuz bölgesinden yırtılır. Çünkü plağın bu bölgesi en zayıf bölge olarak kabul edilir. Bu bölgede yüksek hemodinamik stresin yanısıra incelmış fibröz kapsül, yüksek düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve az sayıda düz kas hücresi bulunmaktadır.

Plak rüptürlerinin ancak %1-5'i akut koroner sendroma neden olmaktadır. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle beraber intrinsik fibrinolitik/antikoagülan sistem ile sistemik ve lokal trombojenik faktörler arasındaki denge sorumlu

gösterilmektedir. AKS'a neden olan koroner trombüslerin %75'i plak rüptürüne bağlı gelişmektedir.^{10,11} Plak rüptürü izlenmeyen durumlarda en önemli mekanizma plak erozyonudur. Plak erozyonunda altta yatan bir plak rüptürü olmayıp, plak ile trombüs arasındaki endotel devamlılığı kaybolmuş olmasına rağmen plak yüzeyi intaktır. Plak erozyonları daha az darlık, daha az makrofaj ve inflamatuvar hücre ve neredeyse hiç kalsifikasyon olmayan darlıklarla ilişkili bulunmuştur. Erozyona uğramış plak üzerinde tromboz oluşma mekanizması tam olarak bilinmese de sistemik trombojenik faktörlerin rol oynadığı tahmin edilmektedir. Plak rüptürüne bağlı trombogenez mekanizmaları plak erozyonuna bağlı trombogenezden daha iyi bilinmektedir. Ateroskleroz zemininde disfonksiyone endotelden ve inflamatuvar hücrelerden salınan PAF, VWF ve TF gibi trombojenik faktörler serumda yüksek düzeyde bulunur. Rüptür sonrası yüksek trombojeniteye sahip lipid kor ve subendotelyal kollajen açığa çıkar. VWF, trombosit glikoprotein Ib/IX-V reseptörüyle subendotelyal kollajen arasında köprü görevi görerek trombositlerin rüptür bölgesine adhezyonunu sağlar. VWF ile etkileşim sonrası trombositler şekil değişikliğine uğrar ve aktive olur. Aktivasyonla birlikte trombositlerin degranülasyonu gelişir ve alfa ve dense granüllerden serotonin, adenosin difosfat/ADP, tromboksan A2/TXA2 gibi potent vazokonstriktör ve trombosit aktivatörü medyatörler salınır.⁹ Aktivasyondan sonra agregasyon gerçekleşir. Trombosit membran glikoprotein IIb/IIIa reseptörü fibrinojen ile etkileşime girerek trombositler arasında çapraz bağların oluşumu sağlanır. Bu mekanizmayla sağlanan trombosit-trombosit etkileşimi trombüsün büyümesini ve dolaşan trombositlerin trombüs formasyonuna katılmasını sağlar. Eş zamanlı koagülasyon kaskadı aktive olduğundan oluşan trombüs fibrin ile stabilize edilir. Özellikle transmembran glikoproteini olan TF ile faktör VII'nin etkileşimi ekstrinsik koagülasyon kaskadının aktive olmasını sağlamaktadır. . Yapılan çoğu çalışmada, akut koroner sendromlarda özellikle kararsız anjina pectoris hastalarında TF yüksek düzeyde saptanmış olup kötü sonlanım ile ilişkisi gösterilmiştir.^{12,13}

AKUT KORONER SENDROM

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

değişken derecelerde obstrüksiyon izler. Klinik bulgular miyokard iskemisinin genişliği ve şiddetine göre değişir. Akut koroner sendrom başlığı altında klinik bulgular, elektrokardiyografi ve biyokimyasal belirteçler kullanılarak üç ayrı klinik tanımlama yapılmıştır:

-
1. ST Yükselmeli Miyokard infarktüsü/STYMI
 2. ST Yükselmeli Olmayan Miyokard infarktüsü/STYOMİ
 3. Stabil Olmayan Anjina Pektoris/SOAP
-

ST yükselmeli olmayan miyokard infarktüsü ve stabil olmayan anjina pektoris, ST Yükselmesi Olmayan Akut Koroner Sendrom/STYO-AKS olarak da adlandırılabilir.¹⁴ Kollateral perfüzyonun olmadığı durumlarda tam koroner oklüzyonun varlığı, ST yükselmeli miyokard infarktüsü ile neticelenir. Bununla beraber geçici ya da kısmi koroner oklüzyon, trombüsün veya plak parçalarının distal koroner dolaşıma embolize olmaları neticesinde miyosit nekrozuna yol açarak miyokard infarktüsüne neden olabilir. Özellikle STYMI tanısında nekrozuna duyarlı belirteçler (örneğin troponinler) kullanılır. Eğer kan biyokimyasal kardiyak enzimlerinde yükselme saptanamaz ise klinik durumun adı USAP olarak tanımlanır.

Akut Koroner Sendromun Görülme Sıklığı

Son dört dekatta tanı ve tedavide kaydedilen önemli ilerlemelere rağmen STYMI gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde halen ciddi bir halk sağlığı problemi olarak devam etmektedir. Göğüs ağrısı nedeniyle acil servise başvuran hastaların % 15 ile 25'i AKS tanısı ile taburcu edilmektedir.¹⁵⁻¹⁷ AKS olarak değerlendirilen hastaların, 1/3 oranında STYMI olduğu saptanmıştır.¹⁸ Yılda bir milyon Amerikalı akut miyokard infarktüsüne/AMI maruz kalmaktadır.¹⁹ Avrupa genelinde ise yıllık AKS görülme sıklığı 1/80-1/170 arasında değişmektedir. Ülkemizde her yıl yaklaşık 65.000 kişi koroner arter hastalığına bağlı ani ölüm nedeniyle kaybedilmektedir.²⁰

Akut koroner sendrom ve risk faktörleri

Akut koroner sendrom gelişimi için çeşitli risk faktörlerinin predispozan olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Risk faktörleri, modifiye edilebilen ve modifiye edilemeyen olmak üzere esas olarak iki grupta toplanırlar.

Modifiye edilebilen risk faktörleri; hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabetes mellitus, sigara kullanımı, obezite, metabolik sendrom, beslenme alışkanlığı ve fiziksel aktivite eksikliğidir.

Modifiye edilemeyen risk faktörleri; yaş, cinsiyet, ailede koroner arter hastalığı (genetik yatkınlık) öyküsünün olmasıdır.

Klasik risk faktörlerine ilaveten; endotel disfonksiyonu, lipoprotein (a), homosistein, fibrinojen ve C reaktif protein düzeyleri yüksekliği yeni risk faktörleri olarak kabul edilmektedirler.

Akut Koroner Sendrom Patofizyolojisi

Ateroskleroz, KAH'nın en önemli ve yaygın nedenidir.^{10,11} AKS aterosklerozun komplike olması ile meydana gelir. Altta yatan neden genellikle rüptüre aterom plağının ya da daha az sıklıkla yüzeyi erozyona uğramış plağın akut trombozudur. Nadir de olsa akut koroner sendromlar non aterosklerotik bir nedene bağlı olarak da gelişebilirler. Arterit, travma, diseksiyon, spazm, tromboemboli, konjenital anomaliler, hematolojik hastalıklara bağlı in situ tromboz, kokain kullanımı ya da kardiyak kateterizasyonu takiben gelişen bir komplikasyon sonucunda akut koroner sendromlar oluşabilir.

Plak rüptürü nedeniyle gelişen akut koroner sendromlarda önemli olan, lezyonun darlık derecesi değil, plağın biyolojik durumudur; buna plak hassasiyeti de denir. Rüptüre olmaya eğilimli pek çok plak koroner anjiyografide/KAG tespit edilememektedir. Seri anjiyografik ve patoanatomik gözlemler koroner arter hastalığının temelde iki farklı zeminde yol aldığını gösterirler. Bunlardan birincisi fiks, geri dönüşümü zor olan, kademeli lümen daralmasına yol açan aterosklerozdur. İkinci yol ise potansiyel olarak geri dönüşümlü, dinamik yapıda, öngörülemez şekilde yavaş ilerleyen fazı kesintiye uğratıp, hızlı koroner tam tıkanıklığa yol açabilen tromboz ya da vazospazm yoludur. Bunun içindir ki koroner lezyonlar değişen derecelerde kronik ateroskleroz ve akut tromboz bileşenlerine sahiptirler (aterotromboz, şekil-3). Genel olarak aterosklerozun baskın olduğu lezyonlar kronik stabil anjina pectoris kliniğinden sorumlu iken, aterotromboz ise akut koroner sendromlardan sorumlu olan lezyonların ana bileşenidir.¹⁰⁻¹²

AKS koroner plağın, incelmış olan fibröz kapsülünün yırtılması ile başlar. Hassas plağın yırtılması için çoğu zaman tetikleyici bir faktöre ihtiyaç vardır. Emosyonel stres, fiziksel aktivite, ilaç alımı, akut enfeksiyon ve travma tetikleyici

faktörler olarak rol oynayabilir. Fakat AKS oluşumu için tetikleyici faktör şart değildir. Plakın hassas ve büyük olması AKS oluşumu için en önemli rolü teşkil eder. Plak yırtılması sıklıkla plakın büyümesi esnasında görülür. Bunun sonucunda trombüs oluşumu gözlenir. Koroner plak yırtılması esnasında, fibrinoliz, trombosit ve koagülasyon aktivasyonu arasındaki ilişki oldukça önemlidir.



Şekil 3: Komplike aterom plakın rüptürü ve tromboz

Plak yırtılmasına karşı dinamik bir trombotik cevap süreci izlenmektedir. Tromboz ve tromboliz bu süreç içinde birlikte oluşur. Bu süreçte koroner akım tıkanması ve distal emboliler gözlenir.¹⁰ İşte bu distal emboliler nedeni ile koroner arter rekanalize edilse de miyokard reperfüzyon tam olarak sağlanamaz. Meydana gelen bu durum

hastalığın uzun dönem seyrinde oldukça önemlidir.²¹

Akut koroner sendromda anormal vazospazm sık görülür. Bu spazmlar genel olarak sorumlu lezyon bölgelerinde sınırlıdır. Bu duruma o bölgeden salınan mediyatörlerin neden olduğu düşünülmektedir.²² Bu süreç içinde plak ve beraberindeki yapılardan vazospazma neden olan vazoaktif maddeler(endotelin, serotonin, tromboksan) salgılanmaktadır.

Akut koroner sendromda erken dönemde vasküler inflamasyon oluşumunda makrofaj aktivasyonu ve serbest radikal salınımı ilk sırada yer almaktadır. Bunun sonucunda metallerproteinazlar aktive olur ve plak destabilize olur. Paradoks vazokonstriksiyon görülmektedir. Bu duruma endotel disfonksiyonu eşlik etmektedir. Doku faktörü ve endotel kaynaklı apoptotik mikropartiküllerin tetiklediği protrombotik uyarı artmaktadır. Bunun sonucunda nitrik oksit, prostasiklin, protein C/S, doku plazminojen aktivatörü oluşumu ve aktivitesinde denge bozukluğu meydana gelir.²³ Endotel disfonksiyonu sonucu nitrik oksit salınımı ve biyoyararlılığı azalırken, endotelin-1, anjiyotensin ve oksidan vazoaktif maddelerin salınımı artış göstermektedir. Bütün bu bilgiler ışığında endotel disfonksiyonu, KAH'nın tüm safhalarında ve komplikasyonlarında en önemli patogenezi oluşturmaktadır.²⁴

Plak rüptürü veya erozyonu sonucu gelişen AKS'da inflamasyon sadece sorumlu plak bölgesinde artış göstermez. Aynı zamanda tüm sistemik dolaşım ve diğer plaklarda da inflamasyon artışı mevcuttur.²⁵ Stabil anjinada aynı oranda koroner arter tutulumu olsa da, sistemik inflamasyonda artış gözlenmez. Vasküler

duvarlardan kaynaklanan sistemik inflamasyonun tespiti, bizlere AKS için risk altındaki kişilerin tespitinde ve tedavinin yönlendirilmesinde yardımcı olur. Sistemik inflamasyon, periferik kan damarlarındaki inflamasyon belirteçleri (selektin, interselüler ve vasküler adezyon molekülleri) ve akut faz reaktanlarının (C-reaktif protein, amiloid A ve fibrinojen) tespiti ile belirlenir.

Miyokard infarktüsü (dönüşümsüz hasar) koroner arterin tamamen tıkanması ve şiddetli iskemi sonucu 15-20 dakika sonra gelişir. Tıkalı koroner arterin beslediği alanda şiddetli iskemi ilk olarak subendokardiyal alanda gözlenir ve epikardiyal alana doğru ilerler.²⁶ Ayrıca iskemik nekroza yatkınlık kişisel farklılıklar gösterir. Miyokardın iskemi öncesi durumu (prekondisyon), oksijen sunumu ve ihtiyacı bu farklılığı belirleyen unsurlardır.

Koroner oklüzyon esnasında mevcut kollateral damarlarca miyokardiyal akımın sağlanması miyokard hasarını tamamen veya büyük ölçüde engellemektedir. SOAP'li hastaların %10'unda sorunlu lezyon koroner arteri tamamen tıkamıştır. Kollateral damarlar sayesinde bu hastalarda miyokard hasarı gözlenmez.¹⁰ Yine STYOMİ' de sorumlu koroner arter tam olarak tıkanmıştır. Kollateraller aracılığı ile miyokard hücrelerinin büyük bölümü korunmuştur.¹⁰ İyi gelişmiş kollateral damarları olmayan hastalar ise erken dönemde revaskülerize edilmediği durumlarda yaygın miyokard hasarı ve bunun sonucunda STYMI' ne maruz kalmaktadırlar.

ST SEGMENT YÜKSELMELİ MYOKARD İNFARKTÜSÜ

Tüm dünyada ve özellikle gelişmiş ülkelerdeki önde gelen ölüm nedenidir. Ortalama mortalitesi yaklaşık olarak %45'dir. Koroner yoğun bakım ünitelerinin modernizasyonu, trombolitik tedavide kullanılabilen ilaçların geliştirilmesi ve kateter laboratuvarında acil olarak uygulanan mekanik reperfüzyon girişimlerinin kullanıma girmesiyle hastalıktan ölümlerde belirgin bir azalma görülse de hastalık multifaktoriyel patogenezi nedeniyle halen önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir.

Akut miyokard infarktüsünü başlatan olay, koroner plak yırtılması ya da rüptürüdür. Ateromun fibröz şapkası rüptüre olunca, subendotelyal matriks ile kan ile temas eder ve trombositler aktive olur ve trombin sentezlenir. Meydana gelen trombin ve trombosit tıkaç trombüs oluşumuna yol açar. Sonuç damarın tamamen ya da kısmen tıkanmasıdır. Anlamlı kollateral damar yokluğunda tıkaçıcı trombüs sıklıkla ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü ile sonuçlanır. Hastalığın en önemli sebebi epikardiyal koroner arterlerin aterosklerotik hastalığıdır. Miyokard

infarktüslerinin büyük kısmı, hemodinamik olarak önemli olmayan (< %60) lezyonların aktivasyonu sonucu oluşur.

Klinik

Anamnez

ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü ayırıcı tanısında oldukça önemlidir. STYMI oldukça geniş bir semptom ve klinik tablo ile karşımıza çıkmaktadır. En önemli semptom iskemik göğüs ağrısıdır. Akut miyokard infarktüsünde semptomlar genellikle önceden asemptomatik olan kişilerde aniden ortaya çıkar. Ağrı genellikle istirahat esnasında başlar. Bazen cerrahi girişim, travma, hemoraji ve hipotansiyon neticesinde de semptomlar tetiklenebilir. Göğüs ağrısı genellikle retrosternal bölgede, tam olarak lokalize edilemeyen, baskı, sıkışma, basınç hissi ya da yanma şeklinde tariflenen, sıklıkla sol kol ve sırta yayılan karakterdedir. İstirahatle ve nitrogliserin ile geçmez ve 20 dakikadan daha uzun sürer. Göğüsteki sıkıntı hissi boyuna, alt çeneye, bileklere, sırta, omuza, sağ kola, epigastriyuma da yayılabilir. Yapılan çalışmalar, toplumda insanların %30 oranında sessiz MI geçirdiğini göstermiştir.²⁷ Akut miyokard infarktüsü özellikle yaşlı, diyabetik ve postoperatif hasta grubunda göğüs ağrısı olmaksızın da gelişebilir.²⁸ Akut miyokard infarktüsü ile ilişkili diğer semptomlar terleme, nefes darlığı, halsizlik, çarpıntı, baş dönmesi, bilinç bulanıklığı, bulantı, kusma ve hazımsızlık olarak sayılabilir. Gastrointestinal sistem ile ilişkili semptomlar özellikle inferior infarktüslerde sık gözlenir. STYMI oluşumunda sirkadiyen bir ritim gözlenmektedir. Bu durum daha çok katokolamin, kortizol, ve trombosit agregasyonundaki artışa bağlıdır. Ayrıca STYMI karşımıza atipik semptomlar ile çıkabilmektedir. Bu durum genel olarak genç(25-40 yaş) veya yaşlı (75 yaş üzeri), diyabetik ve bayan hastalarda görülebilir.²⁹

Fizik Muayene

Hastaların fizik muayenesinde asıl amaç kalp dışı ve iskemik olmayan kalp hastalıklarının tespitidir. Aynı zamanda akut miyokard infarktüsünün şiddeti, erken ve geç dönem komplikasyonlarının tespiti, hastalığın tedavi stratejilerinin belirlenmesi ve prognoz açısından büyük önem taşır. Hasta genellikle huzursuz, terli ve ajitedir. Sok bulguları izlenebilir. Tabloya sol kalp yetersizliği kliniği hakimse dispne, takipne ve oskültasyon ile akciğer alanlarında kreptan raller duyulabilir. Kussmaul bulgusu, sağ ventrikül miyokard infarktüsüne ait bir bulgu olarak kaydedilebilir. Kardiyak oskültasyon ile dördüncü kalp sesi sıklıkla duyulur. Kalp yetersizliği var ise üçüncü

kalp sesi de oskültasyon ile saptanabilir. Mekanik komplikasyon varlığında (papiller kas rüptürü ya da disfonksiyonu, ventriküler septal rüptür ve serbest duvar rüptürü gibi) üfürüm ve tril saptanabilir.

Elektrokardiyografi

Akut miyokard infarktüsü tanısında kullanılan en önemli tanı yöntemlerinden birisidir. Kullanımının kolaylığı ve hızla uygulanabilir oluşunun yanında maliyetinin düşük oluşu, elektrokardiyografi/EKG'yi akut miyokard infarktüsü tanısında köşe taşlarından biri haline getirmiştir. Göğüs ağrısı ile değerlendirilen her hastanın 12 derivasyonlu EKG'si çekilmeli ve 10 dakika içerisinde değerlendirilmelidir.

ST segment yükselmeli miyokard infarktüsü tanısı için; iki ya da daha fazla ardışık derivasyonda 1 mm veya daha fazla tipik j noktasında ST segment yükselmesinin (V2-V3 için erkek için 2 mm ve kadın için 1.5 mm veya daha fazla) tespit edilmesi gereklidir. Sıklıkla ST yükselmesinin karşı bölge derivasyonlarında resiprokal ST çökmeleri izlenir. Göğüs ağrısı ya da iskemi ile ilişkili olabilecek semptomları olan bir hastada yeni gelişen sol dal bloğu/LBBB, ST elevasyonu eş değer kabul edilir ve kontrendikasyonu yoksa hastalar fibrinolitik tedavi ya da kateter ile reperfüzyon tedavisi için değerlendirilmeye alınır.

Laboratuvar

Günümüzde akut miyokard infarktüsü tanısında laktat dehidrogenaz/LDH, kreatin kinaz/CK ve aktivite kreatin kinaz-MB/CK-MB gibi geleneksel ölçümlerin yerine, daha duyarlı ve özgül olan troponin T/TnT, troponin I/TnI, kütle CK-MB gibi enzimler kullanılmaktadır.

Kreatin kinaz ve Kreatin kinaz-MB

Kreatin kinaz da sitozolik bir enzimdir. 3 izoformu bulunur; CK-BB, CK-MB, CK-MM. Kalpte baskın formu CK-BB'dir; ancak spesifik olan izoformu CK-MB'dir. CKMB miyokard infarktüsü sonrası 3.-12. saatte yükselir; 24 saatte pik yapar; 2.-3. günde normale döner. Erken reperfüzyon "wash-out" fenomenine neden olarak erken (12.saatten önce) ve yüksek konsantrasyonda pike neden olur.^{30,31} Herhangi bir nedene bağlı miyokardiyal hücre ölümü CKMB' de artışa neden olacaktır. Bu artışlar kardiyak kontüzyon, elektriksel hasar, miyokard tutulumu ile birlikte ciddi perikardit ve miyokardit olan hastalarda açık bir şekilde gözlenmiştir. Yine iskelet kası hasarına neden olan herhangi bir durum ya da hastalık varsa CK-MB yüksek düzeylerde saptanabilir. Böbrek yetersizliği bulunan hastaların %20'sinde de CK-MB değerleri

yüksek saptanır. Diğer bir yalancı pozitif sonuç yaratan durum CK-MB klirensinin bozuk olduğu hipotiroidizmdir.³²

Miyoglobin

Nekroz başlangıcından sonraki ilk 1-4 saat içinde nekrotik miyokarttan salınan ve seviyeleri 24 saat serumda yüksek kalan düşük moleküler ağırlıklı bir proteindir. Ancak miyokard için spesifik olmadığı gibi kaslarla ilgili major veya minör her türlü travmada yükselir. Bu yüzden akut miyokard infarktüsünde kullanımı pratik değildir.

Troponin T ve Troponin I

Troponinler kalp kasında aktin ve miyozin bantları arasındaki etkileşimde önemli rol oynamaktadırlar. Kalp kası hasarının duyarlı ve özgül belirteçleridirler. Üç farklı yapıda troponin molekülü vardır: Troponin T, troponin I ve troponin C. Klinik sensitivitelerinin yüksek oluşu, kalp dokusunda diğer belirteçlere göre daha yüksek düzeylerde bulunmalarına ve sağlıklı kişilerdeki dolaşım düzeylerinin çok düşük konsantrasyonlarda olmasına bağlıdır.^{33,34} Spesifitelerinin çok yüksek olması, kalbe spesifik olan TnT ve TnI izoformlarından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle iskelet kası hasarına bağlı olarak CK ve CK-MB'de görülen yüksek değerlere bağlı olarak gelişen sorunlar kardiyak troponinler için söz konusu olmamaktadır. TnT ve TnI, akut miyokard infarktüsünden sonra ortalama 3-12 saatte yükselmeye başlar; 24 saatte pik yapar ve 7-14 günde normale döner.³⁵

Miyokardit, pulmoner emboli, sepsis ve septik şokta, konjestif kalp yetersizliği, böbrek yetersizliği, akut strok, siroz, hipotiroidi ve adriamisin gibi ajanlar troponin düzeylerinde yüksekliğe neden olabilmektedir.

Günümüzde akut Mİ tanısında biyokimyasal belirteçler başta olmak üzere klinik, EKG ve görüntüleme metodları birlikte rol almaktadır.

Miyokard İnfarktüs Tanısı

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

1-Miyokard nekrozu biyokimyasal belirteçlerinin 99. persantil üst referans limitinin en az

bir değer üstüne tipik yükselişi ve/veya inişine ilave olarak aşağıdakilerden en az 1 tanesinin olması:

a- İskemik semptomlar

b- EKG'de patolojik Q dalgası oluşumu

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

- d- Yeni gelişen miyokard canlılığının kaybının veya bölgesel duvar hareket kusurunun görüntüsel kanıtlarının varlığı
- 2- Akut miyokard infarktüsünün patolojik bulgularının varlığı

Miyokard infarktüsü tanısı için kriter 1 veya kriter 2'den herhangi birisinin varlığı yeterlidir.³⁶

ST segment Yükselmeli Miyokard İnfarktüs Tedavisi

ST segment yükselmeli miyokard infarktüsünde optimal tedavi acil olarak iskemik semptomların giderilmesi ve gelişebilecek önemli komplikasyonların önlenmesidir. STYMI tanısından süphelenilen hastalar hastane içinde yakın takibe alınmalıdır. Tanı kesinleşince antiiskemik, antitrombosit, antitrombin, fibrinolitik ajanlar, koroner anjiyoplasti ve cerrahi yöntemler zaman kaybedilmeden uygulanmalıdır. Miyokard infarktüsüne neden olan intrakoroner trombotik oklüzyonun bilinen en iyi tedavisi hızlı bir şekilde koroner akımın tamamen sağlanması ve bunun korunmasıdır. Bu nedenle STYMI' de tedavide esas amaç reperfüzyonun sağlanmasıdır.

Reperfüzyon Tedavisi

Miyokard infarktüsü sonrası kritik olan ilk birkaç saatte uygulanan reperfüzyon tedavisi, iskemik tehlike altındaki miyokardiyumun oksijen ihtiyacını temin etmekte izlenen en iyi yoldur. Fibrinolitik tedavi ile reperfüzyonun başarısı ve kurtarılan miyokardiyal dokunun büyüklüğü tedaviye başlama zamanı ile yakından ilişkilidir.³⁷ Perkutan girişim ile yapılan reperfüzyon tedavisinde ise başarı oranı zamana daha az bağımlıdır.³⁸ Semptomun başlaması ile primer perkutan koroner anjiyoplastinin uygulanması arasındaki geçen zamanın uzaması mortalite artışında önemli bir risk faktörüdür.³⁹ Semptom sonrası perkutan girişim için gecikilen her yarım saatte bir yıllık mortalitede %8 oranında rölatif olarak artmaktadır.⁴⁰

Fibrinolitik Tedavi

Yapılan birçok çalışmada trombolitik tedavinin başarısı gösterilmiştir. Ancak trombolitik tedavi uygulanan hastalarda damar açıklığının idamesi ancak %50-60 hastada mümkün olabilmektedir. Ek olarak, %10-20 hastada reoklüzyon, %1-2 hastada ise hemorajik inme gelişmektedir. Ağrı başlangıcından sonraki ilk 3 saat trombolitik tedavinin en etkili olduğu dönemdir. İlk 3 saatten sonraki dönemde hem etkinliği azalmakta hemde komplikasyon oranı artmaktadır.⁴¹⁻⁴³

Dünya çapında en yaygın kullanılan trombolitik ajan fibrin nonspesifik olan streptokinazdır. Dolaşımdaki plazminojeni aktive ederek sistemik litik etki gösterir. Alerjik reaksiyonlar ve Bezold-Jarish reaksiyonu sıktır. 90. dakikada damar açıklık oranı %50'dir.^{42,44,45} Alteplaz/t-PA, reteplaz/r-PA ve tenekteplaz/TNK-tPA fibrin spesifik ajanlardır. Sistemik litik duruma neden olmamakla birlikte reteplaz fibrinojenin tükenmesine neden olur. Alerjik reaksiyon yapmazlar. 90. dakikada damar açıklık oranları %80'dir. Streptokinaza göre mortalite oranları daha düşüktür. Ancak intrakraniyal kanamada hafif bir artışla neden olurlar.⁴⁵

Primer Perkutanöz Koroner Anjiyoplasti

Koroner anjiyoplasti ile yapılan mekanik reperfüzyonda infarkt ilişkili arter açıklığı açısından başarı oranı fibrinolitik tedaviye oranla oldukça yüksektir. Ayrıca fibrinolitik tedavinin en ciddi komplikasyonu olan intrakraniyal kanama mekanik reperfüzyonda nadiren görülmektedir. Bu tedavi yönteminde karşılaşılan en önemli sorun tedavi süresindeki gecikmedir. Hastanın uygun merkeze taşınması ve bu merkezde kapı-balon süresinin uzaması, tedaviyi geciktirmektedir. PRAGUE-2 çalışmasında semptomların başlangıcını takiben ilk 3 saat içerisinde uygulandığında primer PCI ile streptokinaz uygulanan hastaların mortalite oranlarının benzer olduğu ancak 3 saatten sonra primer PCI ile mortalite oranının daha düşük olduğu gösterilmiştir.⁶⁶ Keeley ve arkadaşları tarafından yayınlanan 23 çalışmanın metaanalizinde primer PCI uygulanan hastaların 30 günlük mortalite oranlarının %30 daha düşük olduğu saptanmıştır.⁴³ Ayrıca girişimsel tedavi ile miyokardiyal reinfarkt, inme ve intrakraniyal kanama da belirgin azalma gösterilmiştir. Uzun dönem takiplerde de bu üstünlük gözlenmiş ancak 30 günden sonra azalarak devam etmiştir.^{67,68}

Balon veya Stent Uygulaması

En büyük çalışma olan CADILLAC'ta primer koroner stent veya primer koroner balon arasında mortalite üzerine belirgin istatistiksel fark saptanmamıştır. Bununla birlikte primer koroner stent uygulanan hastalarda miyokardiyal reinfarkta ve hedef damar revaskülarizasyonunda belirgin azalma gözlenmiştir.⁷¹ Takip süresi 5 yıl olan PAMI çalışmasında ise primer koroner stent lehine mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı olmayan fark saptanmıştır.⁷² İlaç kaplı stentlerin standart girişimsel

pratikte geniş yer bulmasına rağmen primer perkutan girişim açısından randomize klinik çalışmaları henüz tam olarak yeterli değildir.⁷³⁻⁷⁵

Reperfüzyon Patofizyolojisi

Koroner kan akımının restorasyonu ile miyokardiyal hücre ölümünün önlenmesi, temel olarak iskeminin süresi ve şiddetine bağlıdır. Birçok çalışmada koroner akımın erken sağlanması ile sol ventrikül fonksiyonlarının daha iyi korunduğu ve mortalitede önemli azalma gösterilmiştir.⁷⁶ Sol ventrikül fonksiyonunun korunmasında önemli olan diğer bir etken kollateral akımdır. Özellikle reperfüzyon tedavisi geciken hastalarda miyokard hücre ölümünü kısıtlamada önemli bir görev üstlenmektedir. Başarılı reperfüzyon sonrası, kalıcı hücre hasarı olmamasına rağmen miyokardiyal kasılma kusuru gözlenebilir. Bu fenomene '*miyokardiyal stunning*' denir.⁷⁷

Reperfüzyon Hasarı

Reperfüzyon tedavisinde hedef miyokardiyal hücre kurtarılması olmasına rağmen kimi durumlarda işleme bağlı olarak hücrelere zarar verilebilir. Oluşan bu duruma reperfüzyon hasarı/miyokard hasarı denir. Miyokard hasarından sorumlu dört temel mekanizma vardır:

1. Ölümcül/lethal reperfüzyon hasarı: Koroner kan akımının restorasyonu ile canlı olan miyokard hücrelerinin reperfüzyona bağlı ölümünün gerçekleşmesi.
2. Vasküler reperfüzyon hasarı: Mikrovasküler yatakta ilerleyici hasar *no-reflow olusumu* ve koroner vazodilatör rezervin kaybolması.
3. Stunning miyokard: Başarılı reperfüzyon sonrası miyokardın kurtarılmasına rağmen, kurtarılan miyokard hücrelerinde intraselüler metabolizmadaki anormalliklere bağlı kasılma kusurunun devam etmesi.
4. Reperfüzyon aritmisi: Sinüs bradikardisi özellikle inferiyor MI' de başarılı reperfüzyondan sonra görülebilir. Yine başarılı reperfüzyon sonrası ventriküler ekstra atım, hızlanmış idioventriküler ritim ve kısa süreli ventriküler taşikardiler sıklıkla görülebilir.

Reperfüzyon hasarını önlemek için bazı tedavi yöntemleri denenmiştir. Mikroembolileri önlemek ve mikrovasküler bütünlüğü korumak için antitrombosit, antitrombin, antiinflamatuvar tedaviler ve iskemik miyokard hücrelerine metabolik destek tedavileri denenmiştir.

GENÇ YAŞTA MYOKARD İNFARKTÜSÜ GEÇİRENLERİN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Gelişmiş ülkelerde en önemli mortalite sebebi olan kardiyovasküler hastalıklarının başlangıç noktası, aterosklerotik temelli düşündüğümüzde, çocukluk dönemindeki “fatty streaks” dediğimiz yağlı çizgilenmelere kadar uzanır. Takip eden dekatlarda bu sürecin artması, oluşan fibroz plağın ülserasyonu veya rüptürü nedeni ile klinik olayları görebilmekteyiz. Epidemiyolojik çalışmaların verilerine göre en önemli risk faktörlerinde biri de yaş olarak karşımıza çıkar. Genç yaş için sınır olarak birçok çalışmanın da temel olarak aldığı 45 yaştır. Sıklığı tüm enfarktüs vakalarını ele aldığımızda genç enfarktüsler %2–11 oranlarında olduğu görülmektedir.⁸³

Genç gupta aterosklerozun yaygınlığı daha azdır.⁸⁴ Prospektif çalışmalarda 65 yaş altı enfarktüs geçiren hastaların anjiyografisinde normal koroner anatomi %0–4 arası izlenmiştir.⁸⁵ Karşılaştırmak gerekirse 35 yaş altı enfarktüs geçiren vakalarda bu oran %9–17 olarak izlenmiştir.^{86 87} Genç kadın (<45) hasta popülasyonunda ise bu oran biraz daha fazla gibi gözükmeğedir (%7–32)⁸⁷. Bazı yayınlar %50’den az olan lezyonu olan hastalarında dâhil etmiştir. Bu da pür normal koroner anatominin gerçek sıklığını belirlemesi zorlaştırır. Hem normal koroner anatomi hem de hafif tıkanıklıklara sahip olma genç hasta popülasyonunda yaşlılara göre daha fazladır. ⁸⁸ Tutulan koroner arterin yaş ile ilişkisi bulunmasa da genç popülasyondaki hastalarda sırası ile sol inen arter (LAD), sirkumfleks (CX) ve sağ koroner arter tutulumu izlenmiştir.⁸⁹

Genç grupta, aynı yaş sağlıklı grupla kıyaslandığında sigara içimi, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet ve aile öyküsü açısından anlamlı farklar gözlenmiştir.⁹⁰ Sigara içimi genç enfarktüs gruplarında %73–90 gibi hem normal popülasyon hem de yaşlı enfarktüs grubuna göre da fazladır. Sigara erken ateroskleroz gelişen gençlerde en önemli düzeltilebilir risk faktörüdür. Framingham verilerine göre genç bireylerde sigara içenlerde içmeyenlere göre 3 kat daha fazla enfarktüs oranları gözlenmiştir.⁹¹ Bogalusa kalp çalışmasında sigara kullanan çocuk ve genç hastalarda içmeyenlere göre artmış yağlı çizgilemeler gösterilmiş olması aterosklerotik prosese olumsuz etkisinin çok genç yaşlarda başladığının bir göstergesidir. ⁹² Sigara içimi gençlerde sadece yaygın bir risk faktörü olmasının ötesinde uzun dönem mortallitenin de öngörücüsüdür. Hiç içmemişler, bırakmış olanlar ve hala içmeye devam edenlerde sırasıyla uzun dönem mortallitenin arttığı izlenmiştir.⁹³Yapılan bir derlemenin sonucunda sigaranın bırakılması enfarktüs sonrası bırakmayanlara göre %36 risk azalması ile ilişkilidir. ⁹⁴ Genç yaşta enfarktüs

hastaların sigara içmeyenlerinde daha fazla ailede erken koroner arter hastalığı öyküsünün varlığı gözlenmiştir. Genç grupta, erken koroner olaylarla ilgili aile öyküsü daha fazla, diyabet ve hipertansiyon varlığı ise daha az tespit edilmiştir. Diyabet varlığı genç popülasyonda %10 düzeylerindedir ve bayanlarda biraz daha fazla gibi gözükmemektedir.⁹⁵ Bayan hastalarda bazı serilerde kontraseptik kullanımı polülasyona göre fazla bulunmuştur.⁹⁶ Otopsi temelli çalışmalarda genç yaştaki bireylerin (ortalama 34 yaş)

%50'sinden fazlasında intimal ateroskleroz saptanmış. Önceki literatür bilgilerinde sigara içimi, kokain kullanımı, diyabetes mellitus, dislipidemi erken aterosklerozla ilişkilendirilmiş.⁹⁷

Ejeksiyon fraksiyonu önemli bir enfarktüs sonrası mortalite göstergesidir. Genç yaş enfarktüs grubunda bir çalışmada ortalama EF %55 olarak tespit edilmiş ve EF 'deki her 10 birimlik düşüş artmış mortalite göstergesi olarak bulunmuştur.⁹⁸ Bu EF değerleri, normal popülasyondaki enfarktüs sonrası EF değerlerine göre daha yüksek durmaktadır. Medikal tedavideki değişikliklere rağmen düşük EF ciddi problem olma özelliğini korumaktadır. Düşük EF'li genç hastalarda 15 yıllık düzeltilmemiş mortalite değeri %80'leri, diyabetik hastalarda ise % 65 'leri bulmaktadır. Diyabetik hastalardaki bu yüksek uzun dönem mortalite değeri, seçilecek tedavi modalitesi ile de değişmemektedir. Diyabetin genç hastaların hastane içi mortalitelerin beklenenin çok altındadır. Kısa dönem mortalitenin değil de uzun dönem mortalitenin artışı genç hastalarda önemli bir sorundur.⁹⁹

Revaskülarizasyonun bu hastaların üzerindeki etkisi ise bazı çalışmalarca araştırılmış. Kofflard'ın serisine anjiyoplasti yapılan 35 yaş altı hastalarda daha düşük infarkt alanı fakat daha fazla tekrarlayan girişim oranları bulunmuş.¹⁰⁰ Yine 40 yaş altı popülasyonda koroner bypass yapılan grupta 5 yıllık %5,2 gibi düşük mortalite değerleri tespit edilmiş. Fakat bu veriler başka çalışmalara konfirme edilememiştir. 10 ve 15 yıllık takipleri içeren bu çalışmada sırası ile %75 ve %50'lik sağ kalım oranları bildirilmiştir.¹⁰¹ İlaveten genç enfarktüslerin % 20 kadarında aterosklerotik olmayan enfarktüsler gözlenmektedir. Bunların takipteki mortaliteleri aterosklerotik lezyonları olanlara göre daha düşük olmaktadır.^{102 103}

Genç gruptaki kardiyovasküler mortalite GISSI-2 verilerinin temel aldığıımızda % 1,2 gibi, düşük oranda karşımıza çıkar.¹⁰⁴ Farklı olarak uzun dönem takiplerde

mortalitenin %16 hatta %30 'lara kadar çıktığını gösteren veriler mevcuttur.¹⁰⁵ Bir çalışmanın verilerine göre düşük kısa dönem (6 aylık) mortalite (%2,7) ,yüksek uzun dönem(7 yıl) mortalite (%16) saptanmıştır.¹⁰⁶ sigara içimciliği, diyabetes mellitus, Killip sınıf uzun dönem mortalite için önemli öngörücülerdir. Muhtemelen erken yaşta başlamış olan potansiyel malign aterosklerotik tablonun uzun dönem kötü olaylar ile ilişkisi bu artışa sebep olmuş olabilir. Geniş serilerin multivaryant analizlerinde yaş ile mortalite arasında ters bir ilişki gözlenmesi bunu desteklemektedir. ¹⁰⁷ Bu hipotez genç grupta aterosklerotik prosesin daha az olması ile normal koroner arter ve tek damar hastalığının sıklığının daha fazla olması ile destekleniyor gibi gözükmemektedir. Fakat uzun dönem sonuçlarının yaşlı popülasyondan daha iyi olduğunu gösteren veriler de mevcuttur. Uzun dönem mortalitesinin yüksek oluşunu değerlendirirken, bu hastalarda, bu günün medikal ve girişimsel tedavi yaşlaşımlarının (primer perkütan girişim, stent, antiagreganlar, statin, ACE inhibitörünün kullanımı) etkin bir şekilde kullanılmadığını ve bu çalışmadaki hastalarının % 53 'ünde eski enfarktüs öyküsü sadece % 3 'ünde de akut enfarktüs bulunduğunu düşünmek gerekmektedir. Erken dönem mortalite etki tedavi alan hastalarda, komorbiditenin az olması, yaygın aterosklerozun fazla olmaması ve daha iyi enfarktüs sonrası EF değerine sahip olması nedeni ile genç hastalarda daha iyi görünmesini açıklayabilir. 45 yaş altı grupta çalışmalara konu olan diğer bir başlıkta metabolik sendrom sıklığıdır. 45 yaş altı 582 elektif koroner anjiyografi yapılmış hastaların verilerine göre sıklığı %37 'lerde saptanmış. Bayanlarda erkeklere göre 2 kat daha fazla izlenmiş. Ve bayanların %70'inde obezite ve düşük HDL değerleri saptanmış.¹⁰⁸

Başka küçük bir çalışmada da enfarktüsle başvuran kadınlarda % 35'lerde metabolik sendrom sıklığı gözlenmiş.¹⁰⁹ Genç enfarktüs popülasyonunda diyabet sıklığının az olmasının karşın %70 oranında artmış açlık glukoz düzeyleri ve obezitenin (BMI >28,8kg/m2)varlığı metabolik sendromun önemini vurgulamaktadır. 45 yaş altı 223 hastanın dâhil edildiği bu çalışmada % 46 hasta metabolik sendromun 3/5 kriterini içermektedir.¹¹⁰ Metabolik sendromun koroner arter hastalığı ile ilişkisi protrombotik durum ve inflamasyonun artışı ile ilişkilidir. Ve kliniğe yansımayan organ hasarı genç yaşta hatta çocuklu döneminde bile arttan riskten sorumludur.¹¹¹ Metabolik sendromu olanlarda daha erken diyabet gelişiminin olması bu hastalara koroner olaylar acısında diyabetin kendi yükünü de yüklemektedir.¹¹²

Düşük sosyo ekonomik düzey ve eğitim durumun genç enfarktüs grubunda daha fazla bulunması bazı çalışmalarca gösterilmiştir. Bu tablo muhtemelen birincil koruma ile ilgili mesajın yetersiz iletimi ve alınması ile ilgili olmaktadır .¹¹³ Bazı risk faktörleri ile ilişkili olarak spontan koroner arter diseksiyonu genç popülasyonda da izlenmektedir. Peripartum periyot, oral kontraeptif kullanımı, kollojen doku hastalıkları, Ehlers-danlos sendromu, sistemik lupus eritramatozisi yoğun fiziksel egzersiz, sex, kokain kullanımı gibi sebeplere bağlı olarak vaka düzeyinde bildirimler bulunmaktadır. Vakaların çoğunu kadın hastalar (%73),damarlarda da sol inen arter oluşturur.^{114 115} Anti-fosfolipit sendromlarda bildirilse de bu hastalarda spontan diseksiyondan çok tromboz görülmektedir.Optimal tedavisi medikal yaklaşımdan cerrahiye kadar değişmektedir. Fakat trombolitik kullanımın ile diseksiyonun daha da ağırlaşabileceği akılda tutulmalıdır.¹¹⁶

KROMOZOM

Kromozom proteinin etrafına sarılmış halidir.^{117 118 119 120} Kromozomlar genlerin organizasyonunu sağlar. Değişik Kromozomlar hücre çekirdeğinin içinde genler ve diğer DNA parçalarının sıkıştırılıp organizmalarda değişik sayıda kromozomlar vardır.

İnsanlarda 23 çift yani toplam 46 kromozom bulunmaktadır. Bunların ikisi seks kromozomudur. Eşleşme esnasında her ebeveyn kromozom çiftlerinden birini sağlar ve böylelikle her çocuk sahip olduğu kromozomların yarısını annesinden, yarısını da babasından edinmiş olur .^{121 122} Bilim adamları kromozomları boyutları, boyanma paternleri ve birtakım diğer karakteristikleri ile birbirinden ayırırlar.^{123 124} Soya çekimin kromozomla ilgisi 1860'dan beri bilinmektedir.^{124 125} Ayrıca 20. yüzyılın ilk yarısında birçok biyolog, protein ve bunu oluşturan 20 amino asidin bu materyalle ilişkili olduğu görüşüne vardılar.^{126 127 128} Bu problemin çözümü genetik molekülün bileşik işleminin gelişimini bekledi. Bu bilgiler Pnömoniye neden olan bakteriyel bir ajan olan Pnömonokoklara uygulandı. Pnömonokoklu insanda hastalığa neden olan düz büyüyen, mukoid koloniler görünüşte düz değildir ve şimdi düz veya pürüzlü yapıya ince polisakkarit hücre duvarının varlığı veya yokluğunun neden olduğu bilinmektedir. Isı ile öldürülmüş düz bakteri eğer canlı, pürüzlü hücrelerle karıştırılırsa, küçük bir

yüzdesi düz bakteriye transfer olur. Avery, Macleod ve McCarty bu transfer faktörünün doğasının protein değil DNA olduğunu gösterdiler. ¹²⁹

GENOM VE GENLER

Genom organizmadaki tüm DNA'dır. İnsan genomunda 3 milyar baz çifti bulunmaktadır. Genomun içinde tüm organizmaların yaşamı için gereken proteinlerin sentezi hakkında bilgi taşıyan genler bulunmaktadır. ^{130 131} Yaşayan organizmalar çoğunlukla proteinden yapılmıştır. Proteinler hücreler ve dokular için yapı malzemesi teşkil etmekle beraber gerekli kimyasal reaksiyonlar için de özel enzimler oluşturmaktadırlar. Bu proteinler organizmanın karakteristiklerini, fonksiyonunu ve hatta bazen davranışını belirler. Proteinler 20 farklı amino asidin değişik kombinasyonlarından oluşur ve her proteinde birkaç yüz amino asit bulunmaktadır. ¹³² Genlerin asıl görevi bu amino asitlerin sequenslerini belirleyip proteinleri oluşturmaktır.

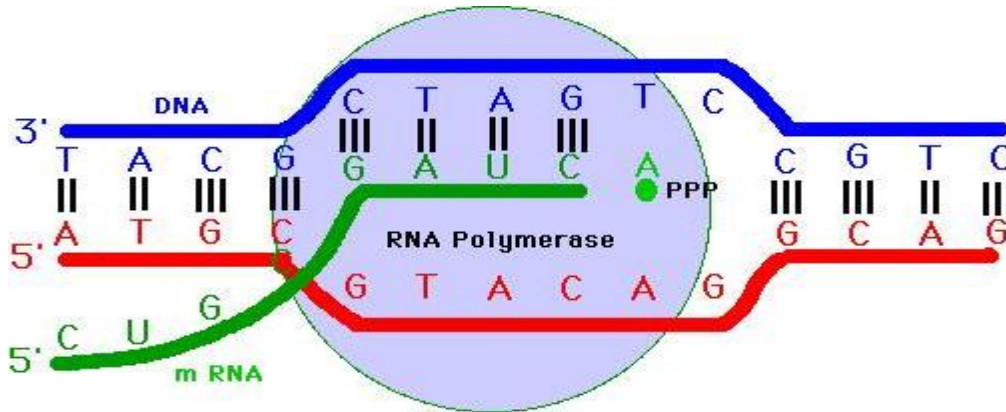
Bütün hücrelerimizde aynı genler olmakla beraber her hücrede her gen aktif değildir. Hücrelerdeki genlerin proteine dönüşmesi dokulara göre farklılıklar gösterir. Örneğin bir karaciğer dokusundaki hücrede de bir kemik hücresinde de tüm genler mevcuttur ama karaciğerdeki hücrelerde yalnızca karaciğerdeki proteinler sentezlenirken kemik dokusunda sentezlenen proteinler farklıdır. ^{132 133} Genler kalıtımın en basit ünitesidir. Gen ebeveynden çocuğa geçen fonksiyonel ve fiziksel karakteristikleri içerir. Çoğu zaman bu genetik malzeme 23 çift kromozom ve bunun içinde bulunan 80.000-100.000 genden oluşur ve insan vücudundaki 100 trilyon hücrenin her birinde bunlar mevcuttur. ¹³⁴ Hepimizde her genin iki kopyası bulunmaktadır. Birisi annemizden birisi de babamızdan aldığımız kopyalardır. Genomun sadece %3'ü genlerden oluşur. Diğer kısmı daha görevini bilmediğimiz ve hiçbir proteini kodlamayan DNA'dır. ¹³⁵ Yaşayan varlıklar birbirlerinden çok farklı görünmekle beraber DNA seviyesinde hayret edilecek kadar benzerler. Tüm yaşayan varlıkların DNA'sının %99'u aynıdır. Özellikleri belirleyen geri kalan %1 DNA 'dan ibarettir. ¹³⁴

Genlerdeki dizin değişikliği aynı genin iki değişik formunun oluşmasına sebep olur ve buna da allel adı verilir. ^{118 119 132} İnsanlar her gen için ya aynı, ya da değişik allel taşıyabilirler. DNA dizimindeki çoğu değişiklikler yani mutasyonlar normal olmakla beraber bazıları hastalığa sebep olabilirler. Bu mutasyonlar ya ebeveynlerden çocuklarına geçer, ya da yaşam esnasında oluşurlar. Yaşam esnasında oluşan

mutasyonlar hücre bölünürken veya toksinler, radyasyon, hormonlar, beslenme gibi çevre stresleri ile oluşurlar. Hastalıkların çoğu yaşam esnasında oluşmuş mutasyonlara bağlıdır. (122,138) Vücudumuzda oluşabilecek DNA bozuklarını bulmak ve düzeltmek için çok iyi ayarlanmış enzim sistemleri bulunmakla beraber yaşlandıkça veya stresler arttıkça bu sistemleri çalışması yavaşlar. Vücutta oluşan bu DNA bozuklukları eğer proteini kodlamayan bölgelerde ise varlıkları bile anlaşılmaz ama eğer proteinlerin yapımını veya fonksiyonlarını bozarsa kalp hastalıkları, polikistik böbrek, Tip 1 diyabet, meme ve over kanseri, frajil-X ve Down sendromları, Orak Hücre anemisi, Kistik fibroz, Hemofili A gibi birçok genetik hastalıklara sebep olabilir. Yaklaşık dört bin hastalığın ebeveynlerden gelen bir gendeki mutasyondan oluştuğu düşünülmektedir 122 133 138

DNA

Hücre çekirdeğinin içinde, yaşayan organizmaları oluşturmak için gereken genetik bilgiyi taşıyan madde DNA'dır.139 140 Deoksiribonükleik asit; baz çifti veya nükleotid olarak adlandırılan tekrarlanan yapı ünitelerinden meydana gelmiş uzun zincirlerdir.



Şekil 3.:DNA dan mRNA oluşumu

(deoksiriboz) ve fosfat gruplarından yapılmış olup basamaklarda adenin (A), timin (T), sitozin (C) ve guanin (G) baz çiftlerinin kombinasyonlarından oluşmuştur . 3.2 milyar baz çiftinin yapılanmasına da DNA sekuensi adı verilir. DNA'nın üçboyutlu yapısı onun çok önemli işlevini yerine getirmesini sağlar (126 142 143)

DNA' NIN YAPISI

DNA nükleotid bazı olarak pürin ve pirimidinleri içerir. Bunlar iki tip pürin, adenin ve guanin ile iki tip pirimidin timin ve sitozin dir. Nükleotid bazıları DNA'nın alt birimi olan nükleotidin bir bölümüdür. Nükleotid; dört nükleotid bazından biri, bir şeker ve bir de fosfat grubunda oluşur. Pürinin 9 no'lu pozisyonundaki veya pirimidinin bir numaralı pozisyonundaki azot atomu, şekerin 1 numaralı pozisyonundaki C atomuna bağlanır. ^{140 141} DNA; deoksiribonükleotid birimlerinin bir polimeridir. Nükleotid zincir bir nükleotid şekerin bir hidroksil grubu ile diğer bir nükleotidin şekerine bağlı fosfat grubunun bağlanması ile oluşur. Birbirlerine fosfat grubu ile bağlanmış şekerler DNA'nın değişmez bölümünü oluşturur. Değişken kısım A, T, C ve G nükleotid bazlarının dizisidir. DNA nükleotid zinciri polardır. Polarite şekerlerin birbirine bağlanma biçiminden kaynaklanır.

Nükleotid bazıları arasında uzaysal ilişkilerin sonucu olarak sitozinin karşısında daima bir guanin ve timinin karşısında daima adenin yer alır. DNA'nın bir zincirindeki komplementerdir. ^{118.140.141.144}

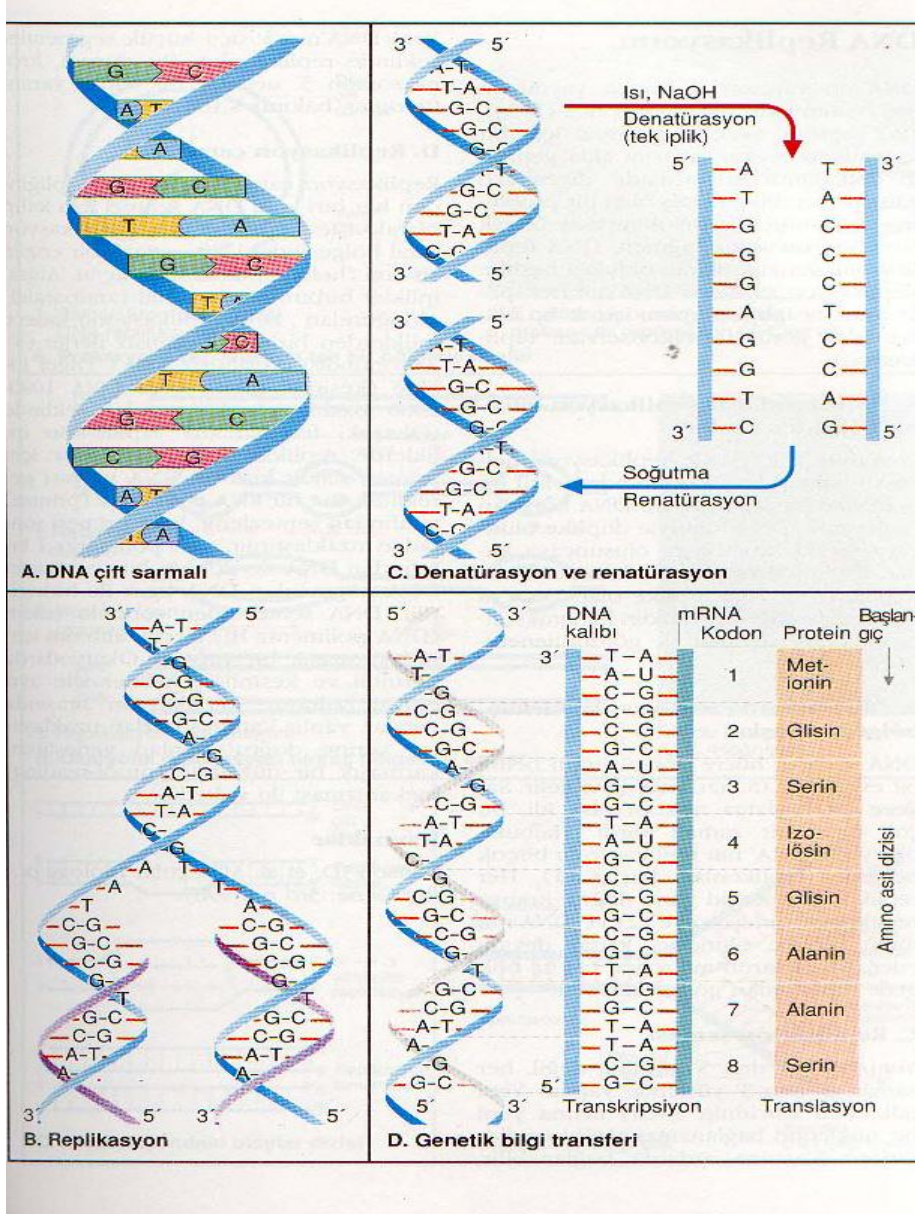
DNA'DAN PROTEİN OLUŞMA BASAMAKLARI

Baz eşlemesi DNA'nın en önemli yapısal özelliğidir. 1953 yılında James Watson ve Frances Crick DNA'nın çift sarmal yapıda olması gerektiğini buldular. ^{141 143} Bu yapı replikasyonu ve genetik bilginin geçişi gibi iki önemli işlevi açıklamaktadır. DNA yapısının aydınlatılması modern genetiğin gelişiminin başlangıcı olarak kabul edilir. Bu sayede, gen yapısı ve işlevi moleküler düzeyde anlaşılabilirdi. Çift sarmalda birbirine zıt yönde uzanan nükleotid zinciri tam olarak komplementer olduklarından, sarmal açıldığında her biri, yeni bir zincirin oluşumu veya replikasyon için kalıp olarak işlev görebilir. DNA replikasyonu semi konservatiftir, yani yeni bir zincir oluşurken, diğer zincir eskisi olarak aynen kalır. ^{119 120 144} Nükleotid baz çiftleri arasındaki kovalent olmayan hidrojen bağları zayıftır. Bununla beraber DNA çok uzun bir molekül olduğundan fizyolojik sıcaklıklarda stabildir. İki komplementer zincir nispeten zayıf kimyasal araçlar aracılığı ile ya da dikkatlice ısıtılarak birbirinden ayrılabilir ve bu işleme denatürasyon adı verilir. ^{119.130}

Ortaya çıkan tek zincirler oldukça dayanıklıdır. Soğutma ile komplementer zincirler, çift zincirli molekülleri oluşturmak üzere tekrar bir araya gelebilirler buna da renatürasyon denir. ^{130.119.135.127} Birbirine komplementer olmayan tek zincirler

birleşemezler. Kökeni bilinen bir tek zincir ile diğer zincirler den hangisinin bağlanacağı saptanabilir ve bu yöntemle hibridizasyon denir.¹⁴⁵ DNA'nın komplementer parçalarının hibridizasyonu genlerin analizinde önemli bir ilkedir. Gen bir polipeptidin oluşumundan sorumlu DNA bölgesi olarak tanımlanabilir. Bir ya da daha gerekebilir. Biyokimyasal olarak karmaşık olmasına rağmen DNA replikasyonu genetik olarak oldukça basittir. ¹⁴⁵

DNA'da saklı olan bilginin bir protein sekuensini belirleyebilmesi için başka bir makromolekülün aracılığını kullanması gereklidir. Bu makro molekül ribonükleik asit (RNA) tir. DNA ve RNA'daki bilgi, polinükleotid zincirindeki pürin ve pirimidin baz sekuensinde bulunmaktadır. Pürin ve pirimidinler amino asit sekuensini kodlarlar ve her üç baz bir amino asit kodlamak ile görevlidir. Hücre bölünürken genetik bilginde bölünmesi üç basamaktan oluşur. .118.119.123.130.



Şekil 4. DNA'nın yapısı

- Replikasyon: Genetik bilgiyi taşıyan çift zincirli DNA kopyalanarak dört zincir oluşturur.
- Transkripsiyon: DNA'daki bilgi RNA'ya aktarılır. Bilgi taşıyan RNA'ya mesajcı RNA (mRNA) adı verilir.
- Translasyon: mRNA'daki bazı sekuensi üç bazlık kodonlar halinde amino asitleri belirler. Bu protein sentezi ribozomlarda oluşur.

DNA HARİTALANMASI VE İNSAN GEN PROJESİ

DNA haritalanması, genlerin kromozom üzerinde olan yerlerinin belirlenmesi ve birbirleri arasında olan mesafenin saptanmasıdır. Sekuenslemek DNA'nın ana kimyasal ünitelerinin hangi sırada olduğunu belirlemektir. Bu ana ünitelerin sırası da var olan çeşitliliği belirler. Yani sadece göz rengi veya saç yapısı gibi şeyleri belirlemekle kalmayıp organizmanın insan, sinek veya fil olmasına sebep olur. ^{121 130} İnsan Gen Projesi (Human Genome Project) 1990 yılında başlayan ve 15 senede bitirilmesi düşünülen 80.000 ile 100.000 insan geninin bulunması ve haritalanması için Amerika Birleşik Devletleri Enerji Bakanlığı ve Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından başlatılmış olan bir araştırma projesidir. Teknolojide beklenenden daha hızlı gelişmeler olması sebebiyle ilk bulgular 2000 senesinde açıklanmıştır ve daha sonra 2001 senesinin Ocak ayında bir dizi açıklamalar daha yapılmıştır. Bu proje özellikle ABD, İngiltere, Avustralya, Brezilya, Kanada, Çin, Danimarka, Fransa, Almanya, İsrail, İtalya, Japonya Güney Kore, Meksika, Hollanda, Rusya ve İsviçre tarafından desteklenmektedir

İnsan Gen Projesinin hedefleri aşağıda belirtildiği gibidir.

- İnsan DNA'sındaki yaklaşık 100.000 geni belirlemek
- İnsan DNA'sını oluşturan yaklaşık 3 milyar kimyasal bazın sekuensini belirlemek
- Oluşan bilgileri data bankalarında biriktirmek.
- Data analizi için gereken bilgileri geliştirmek.
- Projeden oluşabilecek etik, hukuki ve sosyal problem ve soruları yanıtlamak.

İnsan genleri hakkında elde edilecek bilgilerin önemi insanları etkileyen binlerce hastalığı bulacak, tedavi edecek ve hatta hastalanmayı önleyecek yeni metotların bulunmasıdır. Biyoteknoloji firmaları bu projenin ışığı altında bazı hastalıkların oluşmasına sebep olacak bozuk genleri teşhis edebilecek laboratuvar testlerinin yapılması için birbirleri ile adeta yarış halindedirler ve romatizmadan şişmanlığa kadar onlarca hastalık üzerine çalışmaktadırlar. Genetik testler; hastalık taşıyıcıların bulunması, prenatal diagnostik testler, yeni doğan taraması, semptomlar başlamadan önce hastalığın belirlenmesi, semptomlardan sonra gerçek tanının konulması ve adli tıp dalında çok önemlidir. ¹³³

İnsan Gen Projesinin sağlık açısından çok büyük bir önemi olduğu gibi etik, hukuki

ve sosyal konular hakkında birtakım problemler de yaratmıyor değildir. Bundan dolayı bu proje için ayrılan ödeneğin %3 ile %5 arası bir miktar bu sorunları araştırmak ve gidermek için kullanılmaktadır. ^{146 147 148 150} Genetik mühendisliği bazı katılımsal hastalıkların daha bebek doğmadan tedavi edilebilmesi gibi imkânları sunmakla beraber aynı bilgiler gen terapisi ile ebeveynlerin doğacak çocuklarının genlerini değiştirerek teoride muhakeme etme, hatırlama ve problem çözme gibi yeteneklerinin arasında tabii ki sportif faaliyetlerde de başarılı olma isteği ön planda gelmektedir. ¹⁴⁵

¹⁴⁶

POPÜLASYONDA GENLERİN DAĞILIMI

Bir toplum genlerin dağılımı yani farklı gen lokuslarındaki allel frekansları ile karakterize edilebilir. Popülasyon genetiği bir popülasyondaki farklı genotiplerin frekansları ile ilgilenir. ¹³⁶¹³⁸ Belirli bir popülasyonda, belli bir gen lokusunda, bir allelin bulunma sıklığına allel frekansı veya gen frekansı denir. ¹²⁵¹³⁶¹³⁸

Allel frekansı kavramı, direkt olarak bireysel genotiplerin frekansı değil, tamamen popülasyondaki allel frekansını tamamlar. A ve a şeklindeki iki olası allele sahip bir gen lokusu için yegâne olası genotipler AA, Aa veya aa'dır. İki allelin birlikte frekansı (A'nın frekansı p ve a'nın frekansı q) %100 (1,0) olmalıdır. Eğer iki allel aynı derecede sık ise (her biri 0,5) A alleli için $p=0,5$ ve a alleli içinde $q=0,5$ frekansına sahiptirler, yani $p+q=1$ dir. Bir popülasyonda iki allelin sıklık dağılımı basit bir binominal ilişkisi gösterir: $(p+q)^2=1$. buna göre popülasyondaki genotip dağılımı $p^2+2pq+q^2=1$ 'e uyar. p^2 sembol genotip frekansını, $2pq$ Aa heterozigotların frekansını ve q^2 'de homozigot aa fekansını belirler. Tablo 3. bir popülasyondaki allel dağılımı ve frekanslarını göstermektedir. Bir allelin sıklığı bilindiği takdirde genotipinin popülasyondaki sıklığı saptanabilir. ^{125 136 138}

Tablo 2. Popülasyondaki allel dağılımı ve frekansları

Genotip	AA	Aa	Aa
---------	----	----	----

Frekans	p^2	$2pq$	Q^2
---------	-------	-------	-------

HARDY-WEINBERG EŞİTLİĞİ

Bir allel homozigot durumunda veya bazen heterozigot şiddeti nedeniyle ya da ortaya çıkış zamanı nedeniyle bireyin üremesini engelleyen hastalığa yol açarsa bu birey için seçici bir olumsuzluk oluşturur. 1910 yılında İngiliz matematikçisi Hardy ve Alman fizikçisi Weinberg tarafından ortaya konmuş olan prensiplere ve koşullara göre her jenerasyonda genotip frekans dengesi oluşur. Homozigot durumunda şiddetli bir hastalığa neden olan bir allel, popülasyonda genellikle saptanmayan heterozigot durumunda bulunur. Hastalık nedeniyle sadece homozigotlar dikkat çeker. Bir jenerasyonda hastalık sonucu yok olan homozigot allelin yerine yeni mutasyonlar alır. Hastalıkla eliminasyon ve mutasyon sıklığı arasında bir dengeye ulaşır. İlgili allelin frekansındaki değişiklik mutasyon frekansındaki değişmeye eşlik eder ^{135 136 138} Hardy-Weinberg kuralının en önemli tıbbi kullanım alanı popülasyondaki bir hastalığın frekansı biliniyorsa allel frekansının ve heterozigot taşıyıcı frekansını bulabilmektedir.¹³⁶ Hardy-Weinberg eşitlik kuralı sadece belli koşullar altında geçerlidir. Her şeyden önce popülasyon yeterince geniş ve eşlenme gelişimi güzel olması gereklidir. Seçim, mutasyon ve göç olmamalıdır. Bir toplumda nadir görülen veya hiç bulunmayan bir allel göç ile gelebilir ve topluluk büyüdükçe yayılabilir.

FENOTİP VE GENOTİP

Gözlenen bir özelliğe fenotip denir. Bu bir hastalık, bir protein çeşidi ya da gözlem ile belirlenebilen herhangi bir diğer nitelik olabilir. Fenotip büyük ölçüde gözlem yöntemine ve doğruluğuna bağlıdır. Genotip terimi fenotipin temelindeki genetik bilgiyi tanımlar. Genotip ve fenotip tanımları belirli bir gen lokusundaki genetik bilgiye ilişkindir.^{135 136 137} Gen lokusu kromozom üzerinde belirli bir karaktere ait genetik bilginin yer aldığı bölgedir. Bir gen lokusundaki genetik bilginin farklı formları allel olarak adlandırılır. Diploid organizmalarda örneğin tüm hayvanlarda herhangi bir lokusta iki allel bulunması durumunda üç genotip olasılığı vardır. Bir allel için homozigotluk, iki farklı allel için heterozigotluk, diğer allel için homozigotluk. Alleller

heterozigot durumunda görülebilmelerine veya homozigot durumunda gözlenebilmelerine göre ayırt edilirler.

Alleller heterozigot durumunda fark edilebiliyorsa dominant olarak nitelenirler. Eğer sadece homozigot durumunda görülebiliyorsa resesif olarak nitelenirler. Heterozigot durumunda iki allelde görülebiliyorsa bunlara ko-dominant denir. ¹³⁵¹³⁶

POLİMORFİZM

Doğada aynı türde organizmalar genellikle bazı görünüşleri ile farklıdır. Bu farklılıklar genetik olarak belirlenmiştir ve polimorfizm olarak isimlendirilir. Birçok gen lokusunda iki ya da daha fazla allel yer alabilir ve buna genetik polimorfizm adı verilir. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, farklı allellere bağlı olarak genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Eğer bir lokustaki allel frekansı en az 0.01 ise ve bu alleli taşıyan heterozigotların frekansı %2'den büyükse bu gen lokusuna polimorfik denebilir. Proteinleri kodlayan insana gen lokuslarının en az 1/3'ünün polimorfik olduğu saptanmıştır.¹³⁶¹³⁸ Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşikliklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomsal polimorfizm), veya DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizm) şeklinde görülebilir ¹³⁵¹³⁸

FENOTİP POLİMORFİZMİ

Eğer belli bir allelin varlığı ya da yokluğu herhangi bir avantaj ya da dezavantaj sağlamıyorsa, polimorfizm doğal olarak kabul edilir. Bir polimorfizm popülasyon için yarar belirtebilir. Polimorfik bir popülasyonda genetik tek tip popülasyona kıyasla belirleyici şartlarına ve değişikliklere daha iyi hazırlanmış bireylerin bulunma şansı vardır.¹³⁶

BİYOKİMYASAL POLİMORFİZM

Genellikle polimorfizm fenotipten anlaşılmaz. Daha çok laboratuvar yöntemleri ile saptanır. DNA'nın nükleotid baz dizelerindeki bireysel farklılık belirlenebilir. Eğer dizedeki bir değişiklik kodonda da bir değişikliğe neden oluyorsa, ilgili bölgeye farklı bir amino asit katılacaktır. Bu, gen ürünü incelenmesiyle gösterilebilir ¹³⁶

POLİMORFİZMİN JEL ELEKTROFOREZİ İLE TANIMLANMASI

Bir proteinin (gen ürünü) polimorfizmi, varyant formun diğerinden farkının farklı elektrik yüklü bir amino asit olması halinde jel elektroforezi ile gösterilebilir. Bu durumda gen ürününün allelik formları elektriksel bir alanda göç hızlarının farklılığı ile

ayırt edilebilir (elektroforez). Elektriksel yük değişikliğine neden olmayan bir polimorfizm bu şekilde belirlenemez.

DNA AMPLİFİKASYONU (POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU, PCR)

Bir tel saç veya bir damla kan gibi çok az bir malzemeden onların kime ait olduklarını bulabilmek veya normal laboratuvar şartlarında tespit edilemeyecek kadar az miktarda bir virüsün veya bakterinin varlığını kanıtlamak adli tıp ve tüm tıp camiası için çok önemli unsurlardır. Şimdi su, gıda maddeleri, kan, saç ve klinik numunelerde bulunan DNA ne kadar az olursa olsun bu gen veya genlerin kısa bir zamanda birçok kopyası yapılarak varlıkları tespit edilebilir. Moleküler biyolojinin gelişmesiyle ortaya çıkan bu çok güçlü laboratuvar tekniğine Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) adı verilir. ¹³⁸

İlk olarak 1985 de tanımlanan bu metot ile invitro koşullarda belirli bir DNA segmenti tek bir orijinal kopyadan milyonlarca kez çoğaltılabilir ve böylece örneğin bir mutasyon belirlenmesi gibi araştırmalar için yeterli miktar sağlanabilir. Bu teknikle, bakteri gibi canlı bir hücreye gereksinimi olmayan ardışık bir DNA sentez sistemi kullanılarak amplifikasyon yoluyla bir DNA segmentinin birçok kopyası oluşturulabilir. Bu yöntemin Polimeraz Zincir Reaksiyonu diye adlandırılmasının sebebi de bir dizi DNA polimeraz reaksiyonları içermesidir. ¹⁴⁰ Her duplikasyon döngüsü kesin zamanlamalı, her biri diğerine bağlı ve farklı sıcaklıklar gerektiren üç ardışık reaksiyondan oluşur. ¹⁴⁶

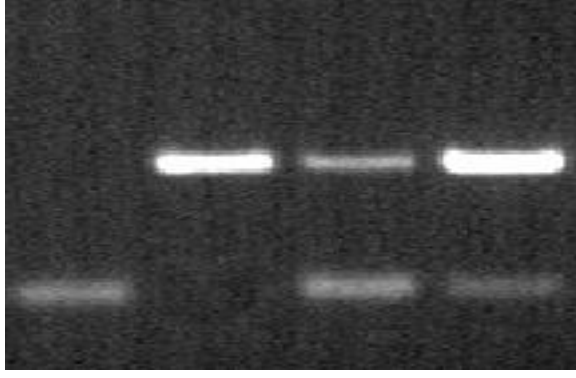
PCR'nin üç temel basamağı aşağıda belirtildiği gibidir.

- Hedef DNA'nın termal denatürasyonu ($\approx 94^{\circ}\text{C}$ ve civarı):

Bu basamakta önce amplifiye edilecek DNA parçası tek zincirlere ayrılır yani denature edilir. Bunlar yeni sentezlenecek DNA için kalıp işlevi görürler.

- 17-35 nüleotidden oluşan özgün sentetik oliginükleotid pirierlerin hedef bölgeye bağlanması:

kolonlar:



SEKİL5: PCR sonucu bulunmuş olan 490-bp den oluşan I alleli ve 190-bp den oluşan D alleli görülmektedir. Kolon 1 Homozigot D (D/D), Kolon 2 homozigot I (I/I), Kolon 3 ve Kolon 4 de heterozigotları (I/D) göstermektedir

Kullanılan primerlerin nükleotid sekuensi çoğaltılması istenilen gen bölgesine komplementerdir. Bu basamakta primerleri oluşturan bazlar esas alınarak bulunan T_m değerine göre bağlanma ısısı belirlenir. Isıtılarak denature edilmiş DNA soğutulurak oligonükleotidler ile hibridize edilir ve bu basmağa primer bağlanması adı verilir.

- Termostabil bir DNA polimeraz tarafından hedef bölgeye bağlanan primerlere uygun nükleotidlerin takılması (sentez $\approx 72^\circ\text{C}$):

Yeni DNA'nın oluşabilmesi yani DNA sentezi için DNA polimeraz ve dört deoksiribonükleotid trifosfat ile inkübe edilir. DNA polimeraz, nükleotidleri polimerlere ekleyerek komplementer bir DNA zincir oluşturur.

Bu üç basamağın bitiminde bir döngü tamamlanır. Reaksiyona giren primer, dNTP, MgCl_2 konsantrasyonu ve DNA miktarı reaksiyonun etkinliğini ve doğruluğunu direkt etkiler. ¹⁴⁵ Polimeraz Zincir Reaksiyonun her devirde önceki devir sonrası oluşmuş tüm DNA'lar kalıp olarak işlev görür. Bu şekilde her devirde DNA iki katına çıkar. Bir sonraki devir yeniden tek zincirler oluşturmak üzere ısıtılarak başlar. Sonra primerleri bağlamak için soğutulur. Bunu yeni DNA'nın sentezi izler. Otomasyon ile otuz devri birkaç saatte tamamlamak ve eksponansiyel sayıda (2, 4, 8, 16, 32, ... gibi) kopya üretmek mümkündür. Normal şartlarda bu tekniğin 20-35 döngü arasında uygulandığını düşünecek olursak bir DNA parçasından milyonlarca kopya elde etmek mümkündür. PCR yöntemi çok az miktarlardaki materyalin analizine olanak vermesi

nedeniyle tıbbi genetik ve moleküler genetikte en önemli işlemlerden biri haline gelmiştir.¹²⁶

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit, damar endotelinden salınan vazoaktif mediyatörlerden birisidir. Vasküler homeostazın sürdürülmesinde önemli rolü vardır. Nitrik oksit eşleşmemiş bir elektron taşıyan yüksüz bir moleküldür. Yüksüz olduğu için membranlardan kolayca geçer. Eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeni ile hızlı reaksiyona girer. Yarı ömrü 20-30 sn dir. Başlangıçta endotelden kaynaklanan gevşetici faktör (endothelium derived relaxing factor, EDRF) olarak adlandırılan ve daha sonra NO olarak tanımlanan bu endojen mediyatör ile ilgili ilk çalışma Furchgott ve Zawadski tarafından 1980 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada asetilkolinin tavşan aortasında vazodilatasyon oluşturması için vasküler endotel hücrelerinin esansiyel olduğu gösterilmiştir. Furchgott ve Zawadski, vasküler endotel uzaklaştırıldığında kan damarının asetilkolinle gevşemediğini; fakat hala gliseril trinitrat'a cevap vermekte olduğunu gözlemlemişlerdir. Düz kasın asetilkolin ile bu endotele bağlı gevşemesine aracılık eden mediyatör başlangıçta EDRF olarak adlandırılmıştır. 1983 yılında Murad ve grubu EDRF'nin cGMP'e bağımlı bir şekilde gevşeme oluşturduğunu göstermiştir. 1986-87 yıllarında Furchgott ve diğer bir araştırmacı Ignarro birbirinden bağımsız olarak EDRF'nin NO olabileceğini öne sürdüler. 1987 yılında Moncado ve grubu, NO'nin L-Arginin aminoasidinden sentezlendiğini ve bu sentezin basamaklarını ortaya koydular. 1992 yılında yılın molekülü seçilen NO, 1998 yılında Furchgott, Murad ve Ignarro'ya Nobel Tıp Ödülünü getirdi ^{151 152 153 154}

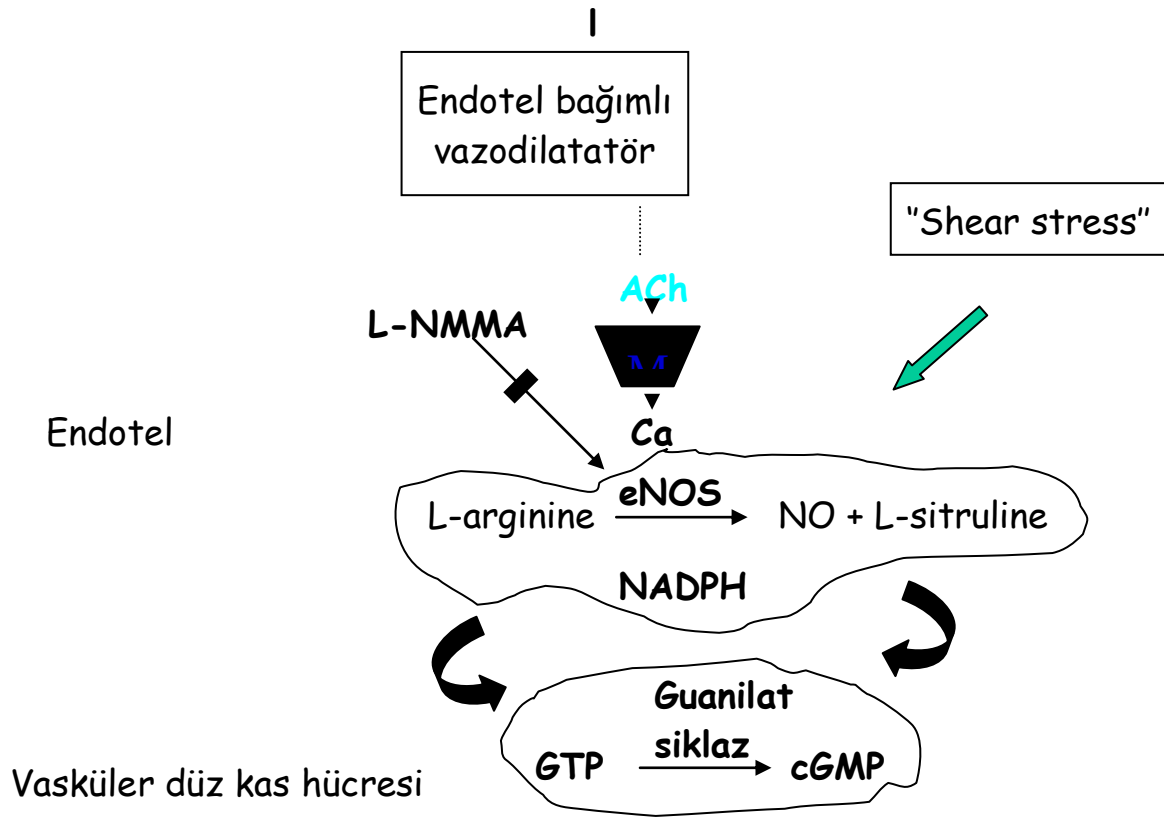
NO'nin biyolojik etkilerinin altında yatan çeşitli fizyolojik-kimyasal mekanizmalar ile ilgili bilgilerin artması, yaşamı tehdit eden hastalıkların tanısında, tedavisi ve önlenmesinde bilimadamlarına ve klinisyenlere şüphesiz büyük avantajlar oluşturacaktır. Şimdiden NO'nin birçok organ ve dokunun fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve korunmasında kritik fizyolojik rol oynayabileceği gözükmektedir. Ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetersizliği, koroner kalp hastalığı, inme, arteriyel trombotik hastalıklar gibi pek çok kardiyovasküler hastalıkta normalde koruyucu özellikte olan damar endotelinin fonksiyonlarının bozulması söz konusudur. Endotel disfonksiyonu NO yetersizliğine yol açar. Nitrik oksit yetersizliği de bir çok hastalığın

fizyopatolojisinde rol oynar. Nitrik Oksit yetersizliği NO'in mutlak yetersizliği (sentez kusuru), biyoaktif NO'in yararlanımının bozulması veya NO inaktivasyonun artışı şeklinde ortaya çıkabilir. Biyokimyasal mekanizma ne olursa olsun, NO yetersizliği normal veya koruyucu fizyolojik olaylarda NO aracılı sinyal transdüksiyonunu kısıtlamaktadır. NO ayrıca santral ve periferik sinir siteminde sinyal iletilisinde, immun hücrelerin sitotoksik etkilerinde rol oynar. Bu fizyopatolojinin ışığında dışarıdan uygulanan NO donörleri ile NO'in yerine konması veya endojen NO'in artırılması çok geniş ve modern tıbbın güncel konularından birisidir.

Endotelden kaynaklı NO'in sentezi nitrik oksit sentaz enziminin endotelial izoformu (eNOS) tarafından, substrat olarak aminoasit L-arginin kullanılarak yapılır. Sentez tamamlandığında, NO ve L-sitrulin oluşur (şekil 1). NO çok kısa yarılanma ömrü olan oldukça labil bir gazdır. İdrarla atılmadan önce oksite hemoglobin tarafından hızla nitrit ve sonra da nitrata okside olur. NO biyosentezi için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotit (FAD), tetrahidrobiopterin (BH4) ve kalmodulin gibi bir çok kofaktör gereklidir. Nitrik oksit sentez edildikten sonra endotelial hücre membranlarından difüzyon yoluyla vasküler düz kas hücrelerine girer. Orada guanilat siklazı aktive eder. Bunun sonucunda guanozin monofosfattan, NO'in hücre içi etkilerine aracılık eden siklik 3,5-monofosfat (cGMP) oluşur. Bir ikincil haberci olan cGMP, nitrik oksitin vasküler tonusun etkilerine aracılık eder.

Endotel kaynaklı NO'in düz kas tonusu ve kan basıncı üzerine önemli etkileri vardır. NO potent bir vazodilatatördür. Endotel kaynaklı vazokonstriktörler ve sempatik sinir sistemi arasında denge oluşturarak, damar tonusunun sürdürülmesini sağlar. Asetil kolin ve diğer endotele bağılı vazodilatatörler ile salıverilir. Buna ek olarak NO platelet agregasyonunun, lökosit migrasyonu ve endotele nötrofil adezyonunun potent bir inhibitörüdür. Vasküler düz kas proliferasyonunu ve migrasyonunu azaltır. Hatta NO belirli adezyon moleküllerinin aktivasyon ve ekspresyonunu inhibe eder. Süperoksit anyonunu oluşumunu etkilemek suretiyle antioksidan etki oluşturur.

Şekil 6. Endotelden nitrik oksit sentezi ve damar düz kasına etkisi.



(NO: Nitrik oksit, eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz, NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, M: Muskarinik Reseptör , GTP: Guanozin trifosfat, cGMP: siklik guanozin monofosfat, Ca: Kalsiyum, Ach: Asetil Kolin, LNMA: Arginin anoloğu NOS inhibitörü)

NO'in hem ve diğer demir merkezli proteinler ve tiyoller gibi başka moleküler hedefleri de vardır. Bu ilave reaksiyonlar bazı anahtar enzimlerin ve iyon kanallarının fonksiyonlarını değiştirebilir. NO ayrıca kompleks I ve II, sitokrom c oksidaz ve akonidaz dahil olmak üzere solunum zincirinin enzimleriyle etkileşir. Bu etkilerle doku mitokondriyal solunumunu etkiler. Ribonükleotid redüktaz enzimini inhibe ederek DNA sentezini bozabilir. Bu özelliği ile sitotoksik ve sitostatik etkiler oluşturabilir. NO'in süperoksit anyonu ile etkileşmesi sonucu NO'in oluşturduğu fizyolojik cevaplar

azalabilir. Güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşumunun sonucu olarak mitokondri fonksiyonunda geri dönüşümsüz inhibitör etkiler oluşur. Peroksinitrit değişik proteinlerin tirozin ve sistein kalıntılarıyla reaksiyona girip, nitrozo bileşikleri oluşturmak yoluyla toksik etki yapar. Bu tür modifikasyonlar protein fonksiyonunu bozarak hücresel aktiviteyi etkiler. 3-nitrotirozin ölçümü peroksinitrit oluşumunun bir göstergesi olarak kullanılır¹⁵⁵

Nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin tanımlanmış 3 izoformu vardır: NOS I (nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS)) ve NOS III (endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS)). Bu iki enzimin aktiviteleri, hücre içi kalsiyum-kalmodulin ile düzenlenir. Kalsiyum seviyesi arttığında aktive olurlar. İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz yani NOS II (iNOS) ise hücrenin sitokinler, bakteri kaynaklı lipopolisakkaritler tarafından uyarılması sonucu sentez edilir. Her 3 izoform da vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynarlar. eNOS, iNOS ve nNOS'u sentezleyen genler sırası ile kromozom 7, 17 ve 12'de yerleşimlidir. iNOS genellikle vasküler hücrelerde eksprese edilmez. Enfeksiyon ve inflamasyon gibi durumlarda eksprese edilir ve iNOS geni, inflamatuvar mediyatörler ve bakteriyel ürünler tarafından indüklenir ^{154 156}

Dinlenme halindeki vasküler tonusu sürdürmek için vasküler endotelden sürekli bazal NO salınır. Bazı kimyasal ve fiziksel stimuluslar ise eNOS'u aktive ederek artmış NO oluşumuna yol açarlar. Bazal nitrik oksit aracılı dilatasyon serebral, pulmoner, renal ve koroner damarlar dahil her damar yatağında görülür. Bu şekilde sürekli nitrik oksit oluşumu periferik vazodilatasyonun sürdürülmesinde önemli rol oynar. Fakat bazal nitrik oksit oluşumunun bir çok vasküler tonüsün sürdürülmesinde önemli rolü yoktur. Venöz sistemde NOS inhibitörleri insan ve hayvanlarda bir çok damar yatağında bazal tonusun artışına yol açmazlar ¹⁵⁷¹⁵⁸

Nitrik oksit salıverilmesini indüklemek suretiyle endotele bağlı vazodilatasyon yapan kimyasal maddeler arasında asetilkolin, bradikinin, serotonin ve P maddesi vardır. “Shear stress” (damar çeperine etki eden makaslama kuvveti) NO salıverilmesini indüklemek suretiyle endotele bağlı vazodilatasyon yapan önemli bir fiziksel uyarandır. “Shear stress” akan kanın visköz sürüklenmesi ile oluşan hemodinamik bir olaydır. “Shear stress”le indüklenen NO salınımı kompleks bir

olaydır. İyon kanal aktivasyonu ve bunu takip eden eNOS proteini fosforilasyonu ve artmış eNOS geni mRNA ve protein ekspresyonunu içerir.

eNOS Gen Polimorfizmleri

insanlarda eNOS geninin 3 değişik polimorfizm varyasyonu bulunmuştur. intron 18'de; Ala27Cys ve intron 23'de; Glu10Thr, tek nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında intron 4, 12 ve 23'de değişken tekrarları vardır. Bunların sonucunda normal fonksiyonel bir enzim oluşsa da polimorfizmler transkripsiyon ve işlev hızlarında değişime sebep olabilmektedir. intron 13'de polimorfizmi olan bireylerde artmış koroner arter hastalığı riski olduğu, intron 4'de polimorfizmi olan bireylerde ise artmış diyabetik nefropati riski olduğu saptanmıştır ¹⁵⁹

160

Promotor bölgede 3 tek nükleotid değişimi saptanmıştır.; Thr786Cys, Ala922Gly ve Thr1468Ala. Bu polimorfizmlerin, transkripsiyonu ve dolayısıyla enzim seviyelerini değiştirebildiği gösterilmiştir. Thr786Cys polimorfizmi miyokard enfarktüsü ve diyabet ile ilişkili bulunmuştur^{161 162} . Bulunan son polimorfizm ise ekson 7'nin açık okuma bölümünde, Glu298Asp değişimi olarak saptanmıştır. Bu polimorfizmin sonucunda proteinin primer yapısında ve fonksiyonunda değişim olur. Bazı çalışmalarda, bu polimorfizmin hipertansiyon, koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir ¹⁶³

164

MATERYAL ve METOD

Çalışma Grubu

Ocak 2010-Ağustos 2010 tarihleri arasında hastanemiz acil servise başvuran 35 yaş ve altı 47 erkek 20 kadın toplam 67 akut ST elevasyonlu miyokard infartüsü geçiren hasta çalışmaya dahil edilmiştir.Bu 67 hastaya primer perkütan girişim uygulanmış olup 12 kişide akut total oklüzyon tespit edilememiştir.Çalışmamız herhangi bir damarında akut total oklüzyon tespit edilen ST elevasyonlu miyokard infartüsü geçiren 55 hasta üzerinden yürütülmüştür.

Kontrol grubu olarak koroner arter hastalığı şüphesi ile koroner anjiyografisi yapılmış normal koroner arterler tespit edilmiş 51 sağlıklı birey alınmıştır

Çalışma protokolü hastalara ayrıntılı olarak anlatılarak rızaları alınmış ve çalışmamız etik kurul onayı almıştır.

Biyokimyasal Gereçler

A.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agaroz

Akrilamid

Amonyum persülfat

Amonyum asetat

Asetik asit(glasiyal)

Bisakrilamid

Borik asit

Bromfenaol mavisi

Etil alkol

Etilen daimin tetra asit(EDTA)

Etidyum bromid

Formaldehit

Formamid

Gümüş nitrat

Hidroklorik asit

Hidrojen peroksit

Ksilen siyanol

Proteinaz K

Sodyum dedosil sülfat
Sodyum klorid
Tetrametiletilendiamin(TEMED)
Tris baz

B.Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

a.DNA İzolasyonu için Kullanılan Çözeltiler

Amonyum asetat

NaAc 9.5 (1000ml)

770 g NaAc

Distile su ile 1000ml'ye tamamlanıp sterilizasyon için 0.2 mikronluk filtreden geçirildi ve oda ısısında saklandı.

EDTA

0.5 M (1000ml)

186.1 g EDTA

Distile su ile 1000ml'ye tamalandı ve otoklavlandı.Oda ısısında saklandı.

%70'lik Etil Alkol

Etil Alkol (1000 ml,%70)

70 ml Etil alkol

Steril distile su ile 100ml'ye tamamlandı.

Proteinaz K

0.02 g Proteinaz K

1 ml steril su ile çözüldü ve -20⁰ C 'demuhafaza edildi.

Sodyum dodesil sülfat-SDS %1 (50 ml,pH 7.2)

5 g SDS

Steril distile su ile 50 ml 'ye tamamladı.pH HCL ile 7.2'ye ayarlandı.Oda ısısında muhafaza edildi.

TrisEDTA-TE (1000ml ,pH 8.0)

10 ml 1 M Tris-HCL(pH 8.0)

20 ml 0.5 M EDTA

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

Tris-HCL M (1000 ml,pH8.0)

121.1 g Tris-HCL

Distile su ile 1000ml'ye tamamlandı.pH HCL ile 8.0'a ayarlandı.Otoklavlanarak oda ısısında muhfaza edildi.

Eritrosit Parçalayıcı Çözelti-RBLB (1000 ml,pH 7.4)

8.74 g NH_4CL

1 g KHCO_3

200 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0)

Steril distile su ile 1000 ml 'ye tamamlandı pH 7.4'e NaOH ile ayarlandı.

Lökosit Parçalayıcı Çözelti-WBL

10 ml 4 M NaCl

20 ml 0.5 M EDTA

Steril distile su ile 400 ml² ye tamamlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

b.Elektroforez için Kullanılan Çözeltiler

Yükleme Tamponu

6X agaroz jel yükleme tamponu

%25 Bromfenol mavisi

%30 Gliserol

50 X TAE (Tris-Asetik asit-EDTA)

Tris baz: 242 g

Glasiyal asetik asit: 57.1g

EDTA(0.5M) :100 ml

C.Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı ve Derin Dondurucu (+4⁰ C ve -20⁰ UĞUR,-80⁰C Memmert)

CCD-kamera-bilgisayar-donanımı (Mitsubishi-Machintosh)

Çalkalamalı su banyosu (Memmert)

Çalkalayıcı(shaker) (Memmert)

Çeker Ocak (Kermanlar)

Distile su cihazı (Milipore)

Dikey elektroforez aleti (Owl Seperation System)

Dikey jel soğutucu (Polyscience)

Elektroforez aleti (Owl)

Etüv (Heraus)

Güç kaynağı (Ec Appatus Corporation)

Hassas terazi (Shimadzu)

Hibridizasyon fırını (Techne)

Homojenizatör (Heidolph)

Horizantal beyaz ışık kaynağı (Fotodyne)

Isı bloğu (Vive scientific)

Masaüstü mini santrifüj (Eppendorf)

Otomatik pipetler (Gilson)

PZR cihazı (Techne-Perkin Elmer-Eppendorf)

PH metre (Corning)

Soğutmalı santrifüj (Heraus)

Spektrofotometre (Labomed)

UV-transluminatör (Fotodyne)

UV-crosslink (Stratagene)

Distile su ile 1 lt 'ye tamamlandı ve otoklav ile steril edildi.

Laboratuvar Analizleri

Hasta grup hastanemiz acil servis ünitesine başvurmuş olup, kan örnekleri hastaneye başvuru esnasında ayrıntılı onamları alınarak yapılmıştır. Kontrol grubu koroner arter hastalığı şüphesi olan ve koroner angiografi uygulanan hastalardan elektif şartlarda alınmıştır. Genotip tayini, glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL ve LDL-kolesterol, rutin hematolojik, karaciğer, böbrek enzimleri, hscrp için venöz kan alındı. Tüm parametreler aynı gün tetkik edildi, eNOS 4a/b polimorfizm analizi için ise kan örneği -70 °C'de saklandı. Glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL ve LDL-kolesterol düzeyleri gibi tüm biyokimyasal tetkikler Biyokimya Laboratuvarında oksidaz-bazlı teknik ile Roche/Hitachi Modular Analitik Sistem ile ölçüldü.

Genetik Analiz

eNOS intron 4a/b polimorfizmi, intron 4 üzerindeki 27 bp VNTR bölgesini dolduran oligonükleotid primerler (sense: 5'-AGGCCCTATGGTAGTGCCTTT-3'; antisense: 5'-TCTCTTAGTGCTGTGGTCAC-3') kullanılarak PCR ile saptandı. PCR reaksiyonları için toplam 50 µl' lik hacim kullanıldı: bu sıvı içinde 100 ng DNA, her primerden 10 pmol, 0.2 mM dNTP, 1 U Taq DNA polimeraz 5 Ml PCR tampon (500 mmol/L KCL, 100 mmol 3-hidroksi-metil-aminometan klorit ve 0.8 % Nonidet P40) mevcut idi. Termosiklus sırasında 1 dakikalık 94 C° de ilk denatürasyon, bir dakikalık 58 C° de sertleştirme, bir dakikalık 72 C° de tekrar uygulandı. PCR ürünleri 90 V'da bir saat süresince %3 agar jel kullanılarak analiz edildi, etidium bromid boyaması uygulandı. Büyük alel olan eNOS 4b, 5 ardışık 27 baz çifti tekrar içerirken; küçük alel olan eNOS 4a, 4 tekrar içermekteydi. PCR ürünlerinin büyüklüğü eNOS 4a için 393 bp iken, eNOS 4b için 420 bp idi.

Periferik Kandan DNA İzolasyonu

1- 10 ml kan 50 ml'lik falkona konularak üzerine 1:3 oranında eritrosit lizis tamponu eklendi. +4 °C'de 10 dakika bekletilip, 1500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.

2- Örneğin üst fazı alındı ve altta kalan pelet kısmı vortekslendi. Üzerine 1:3 oranında eritrosit lizis tamponu eklenerek 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

- 3- Örneğin üst fazı alındı ve altta kalan pelet kısmı vortekslendi. Üzerine 9.4 ml lökosit lizis solüsyonu, 500 µl SDS (%10'luk) ve 50 µl proteinaz K eklenerek 56 °C'de gece boyu bekletildi.
- 4- İnkübasyon sonrası üzerine 3.7 ml amonyum asetat (9.5 M) eklendi ve iyice karıştırıldı.
- 5- Örnekler 4500 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek üst fazı başka tüpe aktarıldı.
- 6- Üzerine etanol eklenerek DNA'nın toplanması sağlandı.
- 7- Pipet yardımı ile DNA avlanarak 1.5 ml'lik tüpe konuldu ve üzerine %70'lik etanol ilave edildi. 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- 8- Üst faz pipet yardımı ile alındı ve tüpler 56°C'de ısıtıcı bloklara konularak kalan alkolün uçması sağlandı.
- 9- DNA'lar TE (Tris-EDTA) tamponu ilave edildi ve +4°C'de saklandı.

DNA konsantrasyonu ve saflığının ölçümü

Spektrofotometrenin küvetleri temizlendikten sonra küvetlerden birine 100 µl distile su konuldu ve bu küvet kontrol olarak kullanıldı ve spektrofotometrenin 260 ve 280 nm'lerde sıfırlanması için kullanıldı. İkinci küvette ölçülecek DNA 1:100 suyla seyreltilerek ölçüm yapıldı. Spektrofotometre dalga boyu ayarı 260 nm ye getirildi. Önce kontrol örneğini içeren küvet ile sıfır'a ayarlandı. DNA'yı içeren küvet aynı şekilde yerleştirildi ve ışığı soğurma (OD) değeri okundu. Aynı işlemler 280 nm dalga boyu için yapıldı. OD 260/280 hesaplanarak temizlik derecesi saptandı. Değerler ideal oran olan 1.8 civarında bulundu. DNA yoğunluğunun hesaplanması için ise aşağıdaki formül kullanıldı

Konsantrasyon= Seyreltme katsayısı (1/100) X 50(sabit) X OD260 = ng/l RNA



Resim 1.

1 nolu örnek bb : 5 tekrar (homozigot) b/b

2 nolu örnek ab: 4,5 tekrar (heterozigot) a/b

3 nolu örnek aa: 4 tekrar (homozigot) a/a

İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizleri için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0 programı kullanıldı. Parametrik veriler ortalama($\pm$) Standard deviasyon olarak, non parametrik veriler ise % olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki sayısal verilerin karşılaştırılması için mann-whitney u testi ile yapılmıştır. Kategorik değerlerin gruplar arası karşılaştırmaları için Ki kare testi uygulanmıştır. Gruplar arası korelasyon analizinde değişkenler için Spearman rho's and pearson testleri kullanıldı. P değerinin <0.001 olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan popülasyonun ortama yaşı 32.9±3.1 idi. Çalışmaya alınan popülasyonun %26.7(28) bayan idi. Çalışmaya alınan popülasyonun bazal ve klinik karakteristik özellikleri tablo1-2 de özetlenmiştir.

Tablo1:

ÖZELLİKLER	NORMAL	HASTA	P DEĞERİ
YAŞ(yıl)	33±3.2	32±2.8	AD
LDL(mg/dl)	118±34	140±38	0.002
HDL(mg/dl)	48.7±8.5	47±8.6	AD
TG(mg/dl)	122.8±37	209±82	<0.001
KREATİNİN(mg/dl)	0.98±0.12	1±0.11	AD
BUN(mg/dl)	16.2±3.3	18±4.8	AD
WBC(10^6 /dL)	10.8±3.2	10.5±2.3	AD
HGB(mg/dl)	14.3±5.5	13.8±1.2	AD
PLT(10^6 /dL)	261±82	259±85	AD
TOTAL KOLESTEROL(mg/dl)	190±38	230±158	0.05
HsCRP(mg/dl)	2.4±0.9	6.4±3.7	<0.001

Tablo1:Yapılan analizde miyokard infarktüsü geçiren genç hastalar ile kontrol grubu arasında ldl, tg ve total kolesterol düzeyi açısından belirgin fark mevcut olup , ml grubunda daha fazla idi.(sırasıyla p:0.002,p<0.001,p:0.05) Gruplar arasında hdl, düzeyi açısından fark saptanmadı(AD). MI geçiren grupta hsCRP düzeyi belirgin olarak daha fazla idi.

Tablo-2	normal	Hasta	P	OR %95	OR alt-üst
CİNS%(bayan)	28	26	AD	1,1	0,4-2,7
HT%	12	6	AD	0,4	0,1-1,7
DM%	2	5	AD	2,8	0,3-28
AİLE ÖYKÜSÜ%	34	65	0,001	3,6	1,6-8,2
SİGARA%	36	49	AD	1,7	0,7-3,7

Tablo2 : MI geçiren grup ile kontrol grubu arasında kategorik değişkenler için yapılan gruplar arasında cinsiyet, ht, dm varlığı ve sigara içiciliği açısından fark saptanmazken, hasta grupta aile hikayesinin varlığı anlamlı olarak daha sık idi.Univariate analizde gruplar arasında farklı bulunan ldl,tg, total kolesterol, hscrp,AA NO fenotipi ve aile hikayesi ile yapılan multivariate analizde tg düzey , hscrp düzeyi , aile hikayesi varlığı, AA NO grubunun varlığı bağımsız değişken olarak saptandı.(sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$, $p:0,004$, $p:0,002$)

Tablo-3	HASTA	KONTROL	P DEĞERİ
eNOS geni: aa	14 (%25)	1 (%2)	$P \leq 0.001$
eNOS geni: ba	18 (%32)	11 (%20)	$P \leq 0.001$
eNOS geni: bb	23(%53)	38(%78)	$P \leq 0.001$
aa gen varlığı (aa,ba)	32(%57)	22(%22)	$P \leq 0.001$

Tablo3:Hasta ve kontrol gruplarında eNOS 4a/b gen dağılımı.Genç yaşta miyokard infarktüsü geçiren hasta grupta a geni varlığı(aa/ba) anlamlı derecede fazla idi.

Tablo-4	eNOS GRUBU	LDL	AİLE HİKAYESİ(+)	TRİGLİSERİT	HSCRIP
MI MEVCUDİYETİ	r:0.4 P<0.001	r:0.3 P:0.002	r:0.31 P:0.001	r:0.56 P<0.001	r:0.59 P:0.001

Tablo4: Yapılan korelasyon analizinde mi mevcudiyeti ile aile hikayesi(r:0.31,p:0.001), ldl(r:0.3,p:0.002) ve NO grubu (r:0,4,p<0.001) arasında orta düzeyde ilişki saptandı.Ayrıca mi mevcudiyet ile tg düzeyi (r:0.56,p<0.001) ve hsCRP arasında (r:0.59,p<0.001) yüksek düzeyde ilişki saptandı.Ayrıca NO grubu ile hsCRP(r:0,26,p: 0.007) arasında orta düzeyde ilişki saptandı.

Tablo-5	Hscrp	P değeri
AA	6.6+3.3	*0.08 **0.006
AB	4.7+2.8	*0.08 ***0.2
BB	3.9+3.4	**0.006 ***0.2

*AA ile AB arası,**AA İLE BB arası,*** AB İLE BB arası p değeri

Tablo5: eNOS grupları arasında yapılan analizde, hs CRP düzeyi AA ile BB grubu arasında farklı iken, AB ile BB arasında anlamlı fark saptanmadı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Son dört dekatta tanı ve tedavide kaydedilen önemli ilerlemelere rağmen STYMI gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde halen ciddi bir halk sağlığı problemi olarak devam etmektedir. Göğüs ağrısı nedeniyle acil servise başvuran hastaların % 15 ile 25'i AKS tanısı ile taburcu edilmektedir.¹⁵⁷AKS olarak değerlendirilen hastaların, 1/3 oranında STYMI olduğu saptanmıştır.Yılda bir milyon Amerikalı akut miyokard infarktüsüne/AMI maruz kalmaktadır. Avrupa genelinde ise yıllık AKS görülme sıklığı1/80-1/170 arasında değişmektedir. Ülkemizde her yıl yaklaşık 65.000 kişi koroner arter hastalığına bağlı ani ölüm nedeniyle kaybedilmektedir. Tüm enfarktüs vakalarını ele aldığımızda genç enfarktüsler %2–11 oranlarında olduğu görülmektedir.⁸³ Genç yaşta miyokard infarktüsü geçiren birey sayısı ise giderek artmaktadır.⁸³Hipertansiyon, diyabet, dislipidemi ,yaş, sigara, cinsiyet ve aile öyküsünün varlığı aterosklerozun klasik risk faktörleri olarak anılmaktadır.^(1,2,3) Bizim çalışmamızda MI geçiren grup ile kontrol grubu arasında kategorik değişkenler için yapılan gruplar arasında klasik risk faktörlerinden cinsiyet, ht, dm varlığı ve sigara içiciliği açısından fark saptanmazken, hasta grupta aile hikayesinin varlığı anlamlı olarak daha sık idi.(p 0.001,OR%95 3.6) .Bir çok çalışmada dislipidemisinin koroner kalp hastalığı (KKH) için major bir risk faktörü olarak belirleyici gücü ortaya koyulmuş ve KKH olanlarda serum ldl ve trigliserit düzeyini düşürmenin ve hdl düzeyinin yükseltilmesi, koroner kalp hastalığı morbidite ve mortalitesini önemli ölçüde düşürdüğünü saptanmıştır.^(1,2,3,4,5). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında ldl ,total kolesterol ve trigliserid düzeyinde anlamlı fark bulunmustur.(p ≤0001 ,p ≤0,001,p ≤0.001) Hdl düzeyleri arasında ise anlamlı fark bulunamamıştır.

Ailede veya 1.derece akrabalarından erkek olanlarda 55 yaşın, kadın olanlarda 65 yaşın altında koroner arter hastalığının bulunması majör risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Ailesinde erken aterosklerotik kalp hastalığı öyküsü olanlarda erken ateroskleroz riski 12 kat fazladır. Aile öyküsünün mevcudiyeti özellikle genç hasta popülasyonunda önem arz etmektedir. Physician's Health study de annede, babada,her ikisinde veya kardeşlerde koroner olayların gerçekleşmesi, kişi açısından gelişebilecek olaylar için risk oluşturur.(odds oranı sırası ile 1.7 ,1.4 ,1.85 , 1.45)¹²¹ Bizim çalışmamızda genç yaşta miyokard infarktüsü geçiren hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aile öyküsü varlığının hasta grup lehine anlamlı olduğu

gözlendi.($p \leq 0,001$).Yapılan korelasyon analizinde mi mevcudiyeti ile aile hikayesi($r:0.31$, $p \leq 0,001$) arasında orta düzeyde bir ilişki saptandı.

Bunların ötesinde genç yaşta enfarktüs geçiren hastalarda diğer klasik risk faktörlerinin daha az sıklıkta bulunması ve önemli bir kısmında aile öyküsünün bulunması genç yaşta koroner arter hastalığı bulunan grupta araştırmaların genetik faktörler üzerinde yoğunlaşmasına sebep olmuştur. Genetik etmenlerin de saptanamayacak kadar geniş olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Bu anlamda birçok gen polimorfizminin koroner arter hastalığı ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla çalışmalar yapılmıştır ve halen yapılmaktadır.eNOS geni ve polimorfizmi son zamanlarda popüleritesi olan ve koroner arter hastalığı ile ilişkisi araştırılan genlerden biridir.

Endotelyal nitrik oksit sentetaz enziminin kronik inhibisyonunun ateroskleroza hızlandırdığı ve kan basıncında yükselmeye neden olduğu hayvan deneyleriyle ortaya konmuştur.Vazospastik anginalı hastaların koroner arterlerinde NO aktivitesinin düşük olduğu gösterilmiştir.Bu bulgular azalmış NO salınımının ateroskleroz gelişimi üzerindeki etkisini desteklemektedir.Son yıllarda eNOS enzimini kodlayan gende çeşitli mutasyonlar saptanmış,bu mutasyonların bozulmuş NO salınımına ,sonuç olarak da koroner arter hastalığı(KAH) ve hipertansiyona neden olabileceği bildirilmiştir.Endotelyal nitrik oksit sentetaz geninde belirlenen mutasyonlardan biri 5' flanking bölgesinde,nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar.Bu polimorfik genin koroner arter spazmı,KAH ve yaygınlığı,miyokard infarktüsü ve hipertansiyon ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur.¹⁶³

Son yıllarda eNOS enzimini kodlayan gende çeşitli mutasyonlar saptanmış,bu mutasyonların NO salınımının bozulmasına,sonuç olarak da KAH riskinde artışa ve hipertansiyona neden olabileceği bildirilmiştir.¹⁶⁴

Endotelyal nitrik oksit sentetaz genindeki varyantlardan biri Glu298Asp polimorfizmidir ve glutamat ile aspartatın exon 7 'de yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar. Glu298Asp polimorfizminin koroner arter spazmı, aterosklerotik KAH,miyokard infarktüsü,koroner ateroskleroz yaygınlığı ve hipertansiyon ile olan ilişkisi çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir.Berdeli ve ark. Türk toplumunda Glu298Asp

polimorfizminin prematür KAH için bir risk faktörü olabileceğini ortaya koymuşlardır. Afrasyap ve ark. ise Türk toplumunda nitrik oksit seviyeleri ve Glu298Asp polimorfizmi ile KAH arasında ilişki bulamamışlardır .¹⁶⁵

Endotelyal nitrik oksit sentetaz geninde belirlenen bir diğer polimorfizm ise 5'flanking bölgesinde nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi(T-786C) sonucu ortaya çıkar. Bu konuda yapılan çalışmaların çoğu genellikle Glu298Asp polimorfizmi ile yapılmıştır. Ancak kısıtlı sayıda 4a/b gen polimorfizmi ile yapılmış çalışmalar vardır. Cine ve ark. eNOS genindeki diğer bir mutasyon olan 4a/b polimorfizminin özellikle ikincil risk faktörü olmayan miyokard infarktüsü hastalarda daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir. (^{166,167,168}) Glu298Asp gibi bu mutasyonun da koroner arter spazmı ,KAH ve yaygınlığı miyokard infarktüsü ve hipertansiyonla ilişkisi ortaya konmuştur (^{169,170,171}) Casas ve ark 26 çalışma üzerinde yaptıkları metaanalizde (23028) eNOS geninde Glu298Asp(odds oranı 1.31,güven aralığı 1.13-1.51) ve 4 a/b (odds oranı 1.34,güven aralığı 1.03-1.75) mutasyonu görülen bireylerde orta derecede artmış KAH riski olduğunu, ancak T-786 c mutasyonu ile KAH arasında önemli bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. (odds oranı 1.06,güven aralığı 0.89-1.25)¹⁷¹

Fatini ve ark. eNOS 4a/b genotipinin akut koroner sendrom gelişimi açısından bağımsız bir risk faktörü olduğunu tespit etmiştir.¹⁰⁸ İntron 4 a/b polimorfizminin etkisinin ciddi kardiyovasküler olaylarla ilişkisi olduğunu söylerken(Tsukadave ve ark.), diğer birçok çalışmada böyle olmadığı söylenmiştir. (^{109 111}). Ancova çalışmasında ise, a genini taşıyan(aa+ba) hastalarla, b homozigot genotipinde olanlarla karşılaştırılmış ve sonuç olarak aterosklerotik hastalık ve koroner arter stenozu açısından her iki grup arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Asakimori ve ark. nın yaptığı bir çalışmada da eNOS 4a/b gen polimorfizmi ile karotis arter hastalığı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.¹¹⁵

Bizim yaptığımız çalışmada, genç yaşta mı geçiren hastaların 14(%25)'ünde aa, 18(%32)'inde ba, 23 (%53)'ünde bb geni bulunmaktaydı. Toplam 32(%55) hasta da 'a' geni varlığı mevcuttu . Genç yaşta miyokard infarktüsü geçiren hasta grupta 'a' geni varlığı (aa,ba) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ayrıca genç yaşta miyokard infarktüsü mevcudiyeti ile eNOs aa geni arasında (r:0.4, p≤ 0,001) orta düzeyde bir ilişki saptanmıştır.

Çalışmamızda diğer bir dikkati çeken özellik , akut koroner sendrom ve miyokard infarktüsü sırasında yükselen ve bir akut faz reaktanı olan C-reaktif proteinin, eNOS 4 “a” geni bulunan hasta grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olması idi ($p \leq 0,001$) .Miyokard infarktüsü mevcudiyet ile hsCRP arasında ($r:0.59, p<0.001$) yüksek düzeyde ilişki saptandı.Ayrıca eNOS grubu ile hsCRP($r:0,26, p: 0.007$) arasında orta düzeyde ilişki saptandı.eNOS grupları arasında yapılan analizde,

hs-CRP düzeyi AA ile BB grubu arasında anlamlı fark saptanmış olup ($p \leq 0.006$), AB ile BB arasında anlamlı fark saptanmadı. ($p \leq 0,2$).Bu ilişki yapılmış kısıtlı sayıdaki çalışmalarda incelenmemiş olup literatürde bu ilişkiyle ilgili bilgiler henüz bulunmamaktadır ve vaka sayısı daha fazla olan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇ

Genç yaşta miyokard infarktüsü geçiren hastalarda klasik risk faktörlerinden özellikle aile hikayesinin öneminin bilinmesi genetik nedenlerin araştırılmasına sebep olmuştur.Sonuç olarak eNOS “ba” ve “aa” genotipine sahip olmak koroner arter hastalığının patofizyolojik karakteristiklerinden bağımsız risk faktörü olabilir.Daha büyük çalışmalar ile bağımsız risk faktörü olduğu onaylanırsa klinisyenler hastalarını genotiplerine ayırarak uygun tedaviyi uygulama imkanı bulacaklardır. .Ayrıca eNOS “ba” ve “aa” genotipine sahip bireylerin hs-crp düzeyleri arasında yüksek düzeyde bir ilişki olması araştırılması gereken dikkat çekici bir bulgudur.

Kaynaklar

1. Executive Summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) 2001 Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. JAMA 285:2486-2497
2. Maher VNG, Brown BG, Marcovina SM, Hillger LA, Zhao X-Q, Albers JJ 1993 Effects of lowering elevated LDL cholesterol on the cardiovascular risk of lipoprotein(a). JAMA 247:1771-1775
3. Knopp RH 1999 Drug treatment of lipid disorders. N Eng J Med 341: 498-511.
4. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions on the vascular endothelium. N Eng J Med. 1990;323:27-36.
5. Mann GE, Yudivelic DL, Sobrevia L. Regulation of aminoacid and glucose transporters in endothelial and smooth muscle cells. Physiol Rev. 2003; 83: 183-252
6. 3. Bogle RG, Macallister RJ, Whitley GSJ, Vallance P. Induction of NG-monomethyl-L-arginin uptake: a mechanism for differential inhibition of NO synthases? Am J Physiol Cell Phyciol. 1995; 269: 750-756
7. Fujimoto T. Calsium pump of plasma membrane localized in caveola. J. Cell Biol. 1993; 120: 1147-57
8. Micheiels C. Endothelial cell functions. J Cell Physiol. 2003; 196(3): 430-443
9. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acethylcholine. Nature. 1980;288:273-276.
10. Furchgott RF, The Discovery of Endotheliumderived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. J Am Med Assn. 1996;276:1186-1188.
11. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc. Natl Acad Sci USA 1987;84:9265-9
12. Moncada S, Higgs EA. The L-arginin-nitric oxide pathway. N England J Med. 1993;329:2002-12
13. Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholestolemic rabbits. Arterioscler Thromb 1994;14:753-9
14. Xu W, Charles IG, Moncada S, et al. Mapping of the genes encoding human

inducible and endothelial nitric oxid synthase (NOS2 and NOS3) to the pericentric region of chromosome 17 and chromosome 7, respectively, Genomics 1994;21:419-22

15. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium derived nitric oxide on peripheral arterial tone in man. Lancet 1989;II: 997-1000.
16. Vallance P, Collier J, Moncada S. Nitric oxide synthesised from L-arginin mediates endothelium-dependant dilatation in human veins in vivo. Cardiovasc Res 1989; 23:1053-7
17. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Nave JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable sunbstans that inhibits platelet aggregation. Nature. 1976;263:663-665
18. Gavras H, Gavras I. Endothelial function in cardiovascular disease: The role of bradykinin. Science Press.1997
19. Kharbanda RK, Deanfield JE. Functions of the healty endothelium. Coron Artery Dis. 2001;12(6):485-91
20. Schneider M; Hilgers KF, Arnfried U, et al. Plasma endothelin is increased in early essential hypertension. Am J Hypertension 2000;13;579-585.
21. Scheider MP, Hilgers KF, Klingbeil AU, John S, Veelken R, Schneider RE. Plasma endothelin is increased in early essential hypertension. Am J Hypertension 2000;13:579-585.
22. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature. 1988,332:411-415.
23. Inoue A, Yanagisawa M., Kimura S, et al. The human endothelin family: three structually and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. Proc Natl Acad Sci USA 989;86:2863-2867.
24. Seo B, Omear BS, Siebenmann R, Von Segersen L, Luscher TF. Both ET-A ve ET-B receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessel. Circulation 1994;89:1203-1208 .
25. Schiffrin EL. Role of Endothelin-1 in hypertension and vascular disease. Am J Hypertension 2001;14:83-89.
26. Katsung BG. (Ed.). Basic and clinical pharmacology, 8.Edition, USA, Lange Medikal Books/McGraw-Hill, 2001;326-332

27. Mulvihill NT, Foley JB, Crean P, Walsh M. Prediction of cardiovascular risk using soluble cell adhesion molecules. *Eur Heart J*. 2002; 23: 1569-1574
28. Murohara T, Delyani JA, Albelda SM, Lefer AM. Blockade of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 protects against myocardial ischemia and reperfusion injury in cats. *J Immunol* 1996;156:3550-3557
29. Newman PJ. Perspective series: Cell adhesion in vascular biology. The biology of PECAM-1. *J Clin Invest*.1997;99:3-8
30. Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clin Chem* 1999;45:7-17
31. Marun N, Offerman MK, Swerlik R, Kunch C, Rosen CA, Ahmad M, Alexandir RW, Medford RM. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1993;92:1866-74
32. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide.
33. Simon DI, Stambler JS, Loh E, Loscalzo J, Francis CA, Creager MA. Effect of nitric oxide synthase inhibition on bleeding time in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26:339-42
34. Moro MA, Russell RJ, Celletti S, Lizasoain I, Su Y, Darley-Usmar VM, Radomski MW, Moncada S. cGMP mediates the vascular and platelet actions of nitric oxide: confirmation using an inhibitor of the soluble guanylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:1480-5
35. Rao GH, Krisnamurti S, Raj L, White JG. Influence of nitric oxide on agonist-mediated calcium mobilization in platelets. *Biochem Med Metab Biol* 1990;43:271-5
36. Michelson AD, Benoit SE, Furman MI, Brechtwoldt WL, Rohrer MJ, Barmad MR, Loscalzo J. Effects of nitric oxide on platelet surface glycoproteins. *Am J Physiol* 1996;270:1640-8
37. Mendelson ME, O'Neill S, George D, Loscalzo J. Inhibition of fibrinogen binding to human platelets by S-nitroso-N-acetylcysteine. *J Biol Chem* 1990;265:19028-34
38. Pigazzi A, Heydrick S, Folli F, Benoit S, Michelson A, Loscalzo J. Nitric oxide

- inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem* 1999;274:14368-75
39. Zhang J, Shattil SJ, Cunniff MC, Rittenhouse SE. Phosphoinositide 3-kinase gamma and p85/phosphoinositide 3-kinase in platelets. Relative activation by thrombin receptor or beta-phorbol myristate and roles in promoting the ligand-binding function of alphaIIb beta3 integrin. *J Biol Chem* 1996;271:6265-72
 40. Bowen R, Halsam RJ. Effects of nitrovasodilators on platelet cyclic nucleotide levels in rabbit blood.; role of cyclic AMP in synergistic inhibition of platelet function by SIN-1 and prostaglandin E1. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17: 24-33
 41. Fischer TH, White GC 2nd. Partial purification and characterization of thrombolambdan, a 22 000 dalton cAMP-dependent protein kinase substrate in platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;149:700-6
 42. Geiger J, Nolte C, Walter U. Regulation of calcium mobilization and in human platelets by endothelium-derived factors. *Am J Physiol* 1994;267:236-44
 43. Kharbanda RK, Deanfield JE. Function of the healthy endothelium. *Coron Artery Dis.* 2001;12:485-91
 44. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998;91:3527-3561
 45. Müller MM, Griesmacher A. Markers of endothelial dysfunction. *Clin. Chem Lab Med* 2000;38:77-85
 46. Esmon CT, Fukudome K, Mather T, Bode W. Inflammation, sepsis and coagulation. *Hematologia* 1999;84:254-259
 47. Bacharach E, Itin A, Keshet E: In vivo patterns of expression of urokinase and its inhibitor PAI-1 suggest a concerted role in regulating physiologic angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:10686
 48. Yamamoto K, Loskutoff DJ: Fibrin deposition in tissues from endotoxin-treated mice correlates with decreases in the expression of urokinase-type but not tissue type plasminogen activator. *J Clin Invest* 1996;97:2440
 49. Astedt B, Hagerstrand I, Lécander I: Cellular localization in placenta of placental type plasminogen activator inhibitor. *Thromb Haemost* 1986;56:63
 50. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1999;237:1-30

51. Shalaby F, Rossant J, Yamagucci TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML, Schuh AC. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature* 1995;376:62-66
52. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-15
53. Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, et al. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991;338:1450-6
54. Ludmer P, Selwyn A, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986;315:1046-51
55. Maguire SM, Nugent AG, McGurk C, et al. Abnormal vascular responses in human chronic cardiac failure is both endothelium dependent and endothelium independent. *Heart* 1998;80:141-5
56. Calver A, Collier J, Moncada S, et al. Effect of local intraarterial NG-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 1992;10:1025-31
57. Chan NN, Vallance P, Colhoun HM. Nitric oxide and vascular responses in type 1. *Diabetologia* 2000;43:137-47
58. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, et al. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471-6
59. Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, et al. Identification of 2 human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deaminases. *Biochem J* 1999;343:209-14
60. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046–51.
61. Cox DA, Vita JA, Treasure CB, et al. Atherosclerosis impairs flow-mediated dilation of coronary arteries in humans. *Circulation* 1989; 80: 458–65.

62. Lerman A, Holmes DR, Bell MR, Garratt KN, Nishimura RA, Burnett JC. Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans. *Circulation* 1995; 92: 2426–31.
63. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228–34.
64. Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 554–66.
65. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001; 37: 1236–41.
66. Grey E, Bratteli C, Glasser SP, et al. Reduced small artery but not large artery elasticity is an independent risk marker for cardiovascular events. *Am J Hypertens* 2003; 16: 265–9.
67. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer DS, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. A Report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 257–265.
68. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995; 91: 1314–9.
69. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, et al. Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients $\geq$ 40 years of age with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1996; 78: 1210–4.
70. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235–41.
71. Eskurza I, Seals DR, DeSouza CA, Tanaka H. Pharmacological vs. flow-mediated assessments of peripheral vascular endothelial vasodilatory function in humans. *Am J Cardiol* 2001; 88: 1067–9.

72. Cooke JP, Rossitch F Jr, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 1991; 88:1663-1671.
73. Olesen SP, Clapham DE, Davies PF. Haemodynamic shear stress activates a K⁺ current in endothelial cells. *Nature* 1988; 331: 168-170.
74. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of the endothelium in the vasodilator response to flow in vivo. *Hypertension* 1985; 8: 37-44.
75. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, et al. Nitric oxide is responsible for flow dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995; 91: 1314-1319.
76. Sun D, Huang A, Smith CJ, et al. Enhanced release of prostoglandins contributes to flow-induced arteriolar dilatation in eNOS knockout mice. *Circ Res* 1999; 85: 288-293.
77. Corson MA, James NL, Latta SSE, Nerem RM, Berk BC, Harrison DG. Phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase in response to fluid shear stress. *Circ. Res.* 1996; 79: 984-991.
78. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999; 399: 601-605.
79. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, et al. Modulation of endothelium dependent flow mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995; 92: 3431-3435.
80. Alderton WK, Cooper CE., Knowles G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;357:593-615
81. Albrect EWJA, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, Van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. *J Pathol* 2003;199:8-17
82. Li H, Wallareth T, Forstermann U. Physiological mechanisms regulating the expression of endothelial-type NO synthases. *Nitric Oxide* 2002;7:132-47
83. Choudhury L, Marsh J. Myocardial infarction in young patients. *Am J Med* 1999;107:254-61
84. Gibson RS, Watson DD, Craddock GB, et al. Prediction of cardiac events after uncomplicated myocardial infarction: a prospective study

85. comparing predischage exercise thallium-201 scintigraphy and coronary angiography. *Circulation* 1983;68:321-36
86. Burkart F, Salzmann C Angiographic findings in postinfarction patients under the age of 35. In ref. 2:56-60.
87. Motet P, Gutzwiller F, Junod B. Coronary artery disease in young adults under 35 years old: risk factors. In ref. 2:17-22.
88. Engel H J, Engel E, Lichtlen PR. Acute myocardial infarction in young women: evidence for spontaneous lysis of a coronary thrombus. In ref. 2:122-8.
89. Sheldon WC, Razavi M, Lira YJ. Coronary arteriographic findings in younger survivors of acute myocardial infarction including those with normal coronary arteries. In ref. 2:47-55.
90. Davia JE, Hallal FJ, Cheitlin MD, Gregoratos G, McCarty R, Foote W. Coronary artery disease in young patients: arteriographic and clinical review of 40 cases aged 35 and under. *Am Heart J* 1974;87:689-96
91. Nussel E, Buehholz L, Scheidt R. Myocardial infarction in young men in the Heidelberg register area. In ref. 2:13-16.
92. Amowitz LL, Ridker PM, Rifai N, Loughrey CM, Komaroff AL. High prevalence of metabolic syndrome among young women with nonfatal myocardial infarction. *J Womens Health* 2004;13:165–175.
93. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP III, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 1998; 338:1650–1656.
94. Cole j, Miller J , Laurence S. Long-Term Follow-Up of Coronary Artery Disease Presenting in Young Adults *Journal of the American College of Cardiology* 2003 Vol. 41, No. 4
95. Critchley J, Capewell S. Mortality risk reduction associated with smoking cessation in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003;290:8697
96. Zimmerman FH, Cameron A, Fisher LD, Ng G. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis. (Coronary Artery Surgery Registry.) *J Am Coll Cardiol* 1995;26:654–61.

97. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, et al. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis111
98. Auerbach MA, Schoder H, Hoh C, et al. Prevalence of myocardial viability as detected by positron emission tomography in patients with ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 1999;99:2921–6.
99. Kofflard MJ, de Jaegere PP, van Domburg R, et al. Immediate and long term clinical outcome of coronary angioplasty in patients aged 35 years or less. *Br Heart J* 1995;73:82–6.
100. Cohen DJ, Basamania C, Graeber GM, Deshong JL, Burge JR. Coronary artery bypass grafting in young patients under 36 years of age. *Chest* 1986;89:811–6.
101. Cheitlin MD, McAllister LA, de Castro CM. Myocardial infarction without atherosclerosis. *JAMA* 1975;231:951–9.
102. Fournier JA, Sanchez-Gonzales A, Quero J, et al. Normal angiogram after myocardial infarction in young patients: a prospective clinical angiographic and long-term follow-up study. *Int J Cardiol* 1997;60:281–7.
103. Moccetti T, Malacrida R, Pasotti E, et al. Epidemiologic variables and outcome of 1972 young patients with acute myocardial infarction. Data from the GISSI-2 database. The GISSI investigators. *Arch Intern Med* 1997;157:865–9.
104. Cole JH, Miller JI, Sperling LS. Long-term follow-up of coronary artery disease presenting in young adults. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:521–8.
105. Waters DD, Halphen C, Theroux P, Paul-Robert D, Mizgala HF. Coronary artery disease in young women: clinical and angiographic features and correlation with risk factors. *Am J Cardiol* 1978;42:41-7.
106. Pardaens J, Lesaffre E, Willems JL, DeGeest H. Multivariate survival analysis for the assessment of prognostic factors and risk categories after recovery from acute myocardial infarction. *Am J Epidemiol* 1985;122:805-19.
107. Turhan H, Yasar AS, Basar N, Bicer A, Erbay AR, Yetkinm E. High prevalence of metabolic syndrome among young women with premature coronary heart disease. *Coron Artery Dis* 2005;16:37– 40.112
108. Kannel W, McGee D, Castelli W. Latest perspectives on cigarette smoking and cardiovascular disease: the Framingham Study. *J Card Rehabil* 1984;4:267–277.

109. Eugene H. Chung, MD, Patrick J. Prevalence of Metabolic Syndrome in Patients <45 Years of Age With Acute Myocardial Infarction Having Percutaneous Coronary Intervention *Am J Cardiol* 2007
110. Palmieri V, Celentano A, Roman JM, de Simone G, Lewis MR, Best L, et al. Fibrinogen and preclinical echocardiographic target organ damage. The Strong Heart Study.
111. Palmieri V, Bella JN, Arnett DK, Liu JE, Oberman A, Schuck MY, et al. Effect of type 2 diabetes mellitus on left ventricular geometry and systolic function in hypertensivesubjects: Hypertension Genetic Epidemiology Network HyperGEN) Study. *Circulation*2001;103:102e7
112. Mosca L, Ferris A, Fabunmi R, Robertson RM. Tracking women's awareness of heart disease: an American Heart Association national study. *Circulation* 2004;109:573e9.Hypertension 2001;38:1068e74.
113. Koul AK, Hollander G, Moskovits N, Frankel R, Herrera L, Shani J. Coronary artery dissection during pregnancy and the postpartum period: two case reports and review of the literature. *Catheter Cardiovasc Interv* 2001;52:88–94.
114. Schifferdecker B, Pacifico L, Ramsaran EK, Folland ED, Spodick DH, Weiner B. Spontaneous coronary artery dissection associated with sexual intercourse. *Am J Cardiol* 2004;93:1323
115. Buys EM, Suttorp MJ, Morshuis WJ, Plokker HW. Extension of a spontaneous coronary artery dissection due to thrombolytic therapy. *Catheter Cardiovasc Diagn* 1994;33(2): 157–60 in Youth Study. *JAMA* 1999;281:727–35.
116. Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, Mahley RW, Krauss RM, Vega GL, Grundy SM. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6919–23.
117. Abbas AK., Lichtman AH., Poper JS.: Cellular and Molecular Immunology. 2nd ed., WB Suunders Philadelphia, 1994.
118. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Robrts K., Watson J.: Molecular Biology of the Cell. Third Edition. Garland Puplishing Inc., New York, 1994.
119. Darnell J., Lodish H., Baltimore D.: Molecular cell biology. 2nd ed. Scientific American Books, WH Freeman. New York, 1990.
120. Gardener EJ., Simmons MJ., Snustad DP.: Principles of genetics. 8th ed. Jonh Wiley, New York, 1991.

121. Brown TA.: Genetics: a molecular approach. 2nd ed. Chapman&Hall London,1992.
122. Connor F., Smith-Ferguson, M.: Essential Medical Genetics. Blackwell Science, 1997.
123. Fristrom JW., Clegg MT.: Principles of genetics. 2nd ed. WH Freeman, San Francisco, 1998.
124. Harris H. The principles of human biochemical genetic. 3rd. ed. Elsevier/NorthHolland, Amsterdam, 1980.
125. Mange AP., MAnge PJ.: Genetics: human Aspects. Sunderland, Sinauer Associates, Massachusetts, 1990.
126. Ayala FJ., Kieger JA.: Modern Genetics. 2nd ed.: Benjamin/Cummings, Menlo Park, California, 1994.
127. Lodish H., Baltimore D., Berk A., Zipursky S.L., Matsudaria P., Darnell J.: Molecular Cell Biology, 3rd edition. Scientific American Books, New York. 1995.
128. Vogel F., Motulsky AG.: Human genetics. 3rd ed. Springer-Verlag, Berlin, 1996.
129. Watson JD., Hopkins NH., Roberts JW., Steitz JA., Weiner AM.: Molecular biology of the gene. 4th ed., Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park, CA,1987.
130. Collins FS., Sequencing the human genoma. Ed: Hops Prato 1997. 47
131. Strachan T.: The human Genome. Oxford, 1992.
132. Bouchard C., Lesage R., Lortie G., Simoneau J.A., Hamel P., Boulay M.R., Perusse L., Theriault G., and Leblanc C.: Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. Med. Sci. Sports. Exerc., 18:639-646, 1986.
133. Camerino G., Goodfellow PN.: Genetics of disease. Current Opin. Genet. Develop. 4:357-497, 1994.
134. Klug WS., Cummings: Concepts of Genetics, 2nd ed., Merrill, Columbus, Ohio, 1986.
135. Levin B.: GENes VII. Oxford University Press, New York, 2000.
136. Passarge M. Passarge E.: Color Atlas of Genetics. TMP, New YORK, 1995.
137. Freifelder D.: Essentials of Molecular Biology. Jones&bartlett, Boston, 1985.
138. Cavalli-Sforza LL., Bodmer WF.: The genetics of human populations. WH Freeman, San Francisco, 1971.

139. Watson JD., Tooze J., Kurtz DT.: Recombinant DNA, a short course. Scientific American Books, WH Freeman, New York, 1993.
140. Watson JD.: The double helix. Athenum, New York, 1968.
141. Watson JD., Crick FHC.: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171: 737-738, 1953.
142. Voet D., Voet J.D.: Biochemistry, 2nd edition. John Wiley, New York, 1995.
143. Watson JD., Crick FHC.: Genetic implications of the structure of DNA. *Nature* 171:964-967, 1953.
144. Cooper G.M.: The Cell: A molecular Approach., ASM press, Washington, D.C. 1997.
145. Nelson DL.: Applications of polymerase chain reaction methods in genome mapping. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 1:62-68, 1991.
146. Knoppers BM., Chadwick R.: The Human Genome Project: under an international ethical microscope. *Science* 1994.
147. "New Goals for the U.S. Human Genome Project: 1998-2003", *Science*, 282: 682-689, 1998.
148. Olson MV.: The human genome Project. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 4338-4344, 1993.
149. Beauchamp TL., Childress JF.: Principles of Biomedical Ethics. Oxford University Press, New York, 1994.
150. Gelehrter T.D., Collins F.S., Ginsburg D.: Principles of Medical Genetics.
151. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:273-276.
152. Furchgott RF, The Discovery of Endothelium-derived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. *J Am Med Assn*. 1996;276:1186-1188.
153. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1987;84:265-9
154. Moncada S, Higgs EA. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993;329:2002-12
155. Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1994;14:753-9

156. Xu W, Charles IG, Moncada S, et al. Mapping of the genes encoding human inducible and endothelial nitric oxide synthase (NOS2 and NOS3) to the pericentric region of chromosome 17 and chromosome 7, respectively, *Genomics* 1994;21:419-22
157. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium derived nitric oxide on peripheral arterial tone in man. *Lancet* 1989;II: 997-1000.
158. Vallance P, Collier J, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginin mediates endothelium-dependant dilatation in human veins in vivo. *Cardiovasc Res* 1989; 23:1053-7
159. Stangl K, Cascorbo I, Laule M: High CA repeat numbers in intron 13 of endothelial nitric oxide synthase gene and increased risk of coronary artery disease. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 133-140
160. Zanchi A, Moczulski DK, Hana LS, Wantman L: Risk of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Kidney Int.* 2000; 57: 405-413
161. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M: T(-786) C mutation in the 5' flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary artery stenosis. *Am J Cardiol.* 2002; 86: 628-634
162. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N: Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 1998; 32: 3-8
163. Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates atherosclerosis and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1994;14:753-9
164. Shimazaki Y, Yasue H, Yoshimura M, Nakayama M, Kugiyama K, Ogawa H, et al. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1506-10
165. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG, Botto N, Manfredi S, Masetti S, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clin Chem* 2003;49:389-95.

166. Ochiai M,Yamaguchi T,Taguchi J,Ohno M,Yoshimura H,Kashida M, et al.Angioplasty of stenosis adjacent to aneurysmal coronary artery disease.Jpn Heart J 1990;31:749-57
167. Moncada S,Higgs A.The L-arginine-nitric oxide pathway.N ENgl J Med 1993;329:2002-12
168. Vallance P,Collier J,Moncada S.Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man.Lancet 1989;2:997-1000
169. Quyyumi AA,Dakak N,Andrews NP,Husian S,Arora S,Gilligan DM,et al.Nitric oxide activity in the human coronary circulation.Impact of risk factors for coronary atherosclerosis.JClinInvest 1995;95:1747-55
- 170.Huang PI,Huang Z,Mashimo H,Bloch KD,Moskowitz MA,Bevan JA,et al.Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase.Nature 1995;377:239-42