

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
KARDİYOLOJİ ENSTİTÜSÜ



ATEROSKLEROTİK KORONER ARTER EKTAZİ HASTALARINDA TGFBETA
GENİNDE YER ALAN FONKSİYONEL VARYASYONLARIN KLİNİK FENOTİPLE
İLŞKİLERİNİN İNCELENMESİ
KARDİYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

DR. ÖZGÜR SELİM SER

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ZERRİN YİĞİT

İSTANBUL 2018

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü'nde eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlanma imkanı bulduğum tüm hocalarıma şükranlarımı sunarım.

Gerek eğitimim süresince ve gerekse tezimin gerçekleştirilmesinde desteğini esirgemeyen, her zaman yapıcı katkılarda bulunan çok değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Zerrin Yiğit'e teşekkürü borç bilirim.

Asistanlık eğitimim süresince desteklerini hiç esirgemeyen, bir yöneticiden ziyade bir aile büyüğü gibi yaklaşım sergileyen İ.Ü. Kardiyoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Sait Mesut Doğan ve İ.Ü. Kardiyoloji Enstitüsü Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat Kazım Ersanlı'ya teşekkürü borç bilirim.

Asistanlığımın ilk gününden itibaren ihtiyaç duyduğum tüm zamanlarda yanımda olan ve mükemmel bir hoca olmanın yanında hepimize bir aileymişiz gibi davranan sayın Doç. Dr. Ahmet Yıldız, Doç. Dr. Okay Abacı ve Doç. Dr. Cüneyt Kocaş'a tüm kalbimle teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin oluşturulmasında ve örneklerin çalışılıp değerlendirilmesinde çok büyük katkıları olan İÜ DETAE öğretim üyeleri Prof. Dr. Oğuz Öztürk, Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan'a ve laboratuvar çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığımın büyük bölümünde beraber çalıştığımız, ilk günden itibaren ellerinden gelen desteği hiç esirgemeyen, asistanlık boyunca kendilerine dediğimiz abi ve abla sözlerini sonuna kadar hakeden sayın Uz. Dr. Veysel Oktay, Uz. Dr. Betül Balaban Koçaş, Uz. Dr. Şükrü Arslan ve Uz. Dr. Gökhan Çetinkal'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreci beraber tamamladığımız Dr. Onur Kılıçarslan, Dr. Yalçın Dalgıç ve Dr. Servet Batıt başta olmak üzere beraber çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma saygı ve sevgilerimi sunarım.

Öğrencilik ve asistanlık döneminin bana kattığı en büyük değer olan, meslektaşım, yol arkadaşım sevgili eşim Dr. Merve Hazal Ser'e teşekkürü borç bilirim.

Beni yetiştiren ve bugünlere gelmemde çok büyük katkıları olan canım annem, babam ve kız kardeşime şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	1
SUMMARY.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	9
2.1.Koroner Arter Ektazisi.....	9
2.1.1. Koroner Arter Ektazilerinin Sınıflandırılması	10
2.1.2. Koroner Arter Ektazi Etiyolojisi.....	11
2.1.3 Koroner Arter Ektazi Patofizyolojisi ve Histopatolojik Bulgular.....	14
2.1.4. Koroner Arter Ektazisin Koroner Anjiyografik Özellikleri.....	20
2.1.5. Koroner Arter Ektazili Hastalarda Semptomlar, Süreç ve Tedavi.....	22
2.2. Transforming Growth Factor Beta (TGF β).....	25
2.2.1.Kardiyovasküler Patolojide TGF β 'nın Rolü.	28
2.2.2. TGF β 'nın Vasküler Fibrozdaki Rolü	31
2.2.3. TGF β Receptörleri ve Sinyal İletim Yolakları	31
2.3. Sistatin C.....	35
2.3.1.Sistatinlerin Fizyolojik Fonksiyonları.....	37
... 2.3.2. Sistatin C ve Kardiyovasküler Hastalıklar	38
3. MATERYAL-METOT.....	42
3.1. Kullanılan Materyal.....	43
3.1.1.Kullanılan Kimyasallar	43
3.1.2. Kullanılan Kitler	44
3.1.3. Kullanılan Cihazlar	44

3.2. Kullanılan Metot.....	44
3.2.1.DNA İzolasyonu	44
3.2.2TGF β1 Geninde Çalışılan SNP'lerin Özellikleri	45
3.2.3 Eliza Metodları	49
3.2.3.1. Human TGFβ1 Eliza Platinum Protokolü (Invitrogen, BMS249/4)	49
3.2.3.2. Sistatin C (CST3) Eliza Platinum Protokolü (Thermo Scientific,cat# EHCST3).....	57
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler.....	58
4. BULGULAR.....	60
5. TARTIŞMA.....	76
6. SONUÇ.....	86
7.KAYNAKLAR.....	87

TABLÖLAR

TABLÖ 2.1. KAE'nin sınıflandırılması.....	11
TABLÖ 2.2. KAE'nin etiyolojik sınıflaması.....	13
TABLÖ 2.3. KAE gelişimi ve etyopatogenetik faktörler.....	19
TABLÖ 2.4. TGF-β fizyopatolojisi.....	26
TABLÖ 2.5. Sistatinlerin sınıflandırılması.....	36
TABLÖ 3.1. Mikrokuyu striplerindeki blankların, standartların ve numunelerin düzenlenişi.....	54
TABLÖ 4.1. Koroner arter ektazili ve normal koroner artere sahip hastaların klinik, demografik ve biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.....	61
TABLÖ 4.2. Koroner arter ektazili ve normal koroner artere sahip hastaların genetik polimorfizmlerinin karşılaştırılması.....	63
TABLÖ 4.3. TGF β1 rs1800469 genotip ve allellerinin koroner arter ektazili hasta grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.....	65
TABLÖ 4.4. TGF β1 rs1800470 genotip ve allellerinin koroner arter ektazili hasta grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.....	68
TABLÖ 4.5. TGF β1 rs1800469 genotip ve allellerinin normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.....	70
TABLÖ 4.6. TGF β1 rs1800470 genotip ve allellerinin normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.....	73
TABLÖ 4.7. Koroner arter ektazili hasta grubunda ilişkili risk faktörlerinin lojistik regresyon analizinde değerlendirilmesi.....	75

ŞEKİLLER

ŞEKİL 2.1. Sağ koroner arter ektazisi.....	9
ŞEKİL 2.2. TGF- β 'nın hücre düzeyinde etki mekanizması.....	28
ŞEKİL 3.1. Allellerin Populasyonlardaki dağılımı.....	46
ŞEKİL 3.2. rs1800469 Allel grafiği.....	47
ŞEKİL 3.3. rs1800469 GG Homozigot bir örneğin amplifikasyon eğrisi.....	47
ŞEKİL 3.4. Allellerin Populasyonlardaki dağılımı.....	48
ŞEKİL 3.5. rs1800470 Allel grafiği.....	49
ŞEKİL 3.6. rs1800470 AG Heterozigot bir örneğin amplifikasyon eğrisi.....	49



KISALTMALAR

KAE	: Koroner Arter Ektazisi
TGF β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KAG	: Koroneranjiyografi
NO	: Nitrik Oksit
EDRF	: Endotel Bağımlı Gevşetici Faktör
Ach	: Asetilkolin
ECM	: Ekstraselüler Matriks
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
BMP	: Kemik Morfogenetik Proteinİ
LAP	: Latansa Bağlı Peptid
ICAM	: Hücre İçi Adezyon Molekülü
VCAM	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Tsp-1	: Trombospondin-1
iNOS	: NO Sentaz
MBG	: Myokardiyal Blush Grade
MI	: Miyokart Enfarktüsü
PAN	: Poliarteritis Nodoza
Ang II	: Anjiyotensin II
AT 1	: Anjiyotensin II tip 1 Reseptör
AP-1	: Aktivatör Protein-1
α -SMA	: α -Düz Kas Aktin
TIMP	: Metalloproteinazların Doku Önleyicisi
TRI	: TGF β Reseptör Tip I
TRII	: TGF β reseptör tip II
ALK	: Aktivin Kinaz
CTGF	: Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı

ÖZET

Aterosklerotik Koroner Arter Ektazi Hastalarında TGF β Geninde Yer Alan Fonksiyonel Varyasyonlarının Klinik Fenotiple İlişkilerinin İncelenmesi

Koroner arter ektazisi (KAE) tanısı koroner anjiyografik olarak konulan , koroner arter segmentinin komşu koroner arter segmentine kıyasla 1,5 kat veya daha fazla genişleme göstermesidir. Koroner arterlerin birinde veya tamamında gözlenebileceği gibi, lokalize veya difüz olarak da gözlenebilir. Sıklığı %1,2-4,9 arasında değişkenlik göstermektedir. Ateroskleroz zemininde gelişen koroner arter ektazileri , koroner arter ektazilerinin % 50 sini oluşturur. Vasküler intimada meydana gelen aterosklerotik değişiklikler vasküler medyada kas elastik bileşiminin bozulmasına sebep olmaktadır. Bu değişiklikler arteriyel yeniden modellenmeye (arteriyel remodelling) sebep olmakta ve süreç koroner arter ektazisi ile sonuçlanmaktadır. TGF β inflamatuvar süreçlerde rol oynayan bir sitokindir. TGF β gen varyasyonlarının ve plazma düzeylerinin tek tek veya bir arada rol oynadığı çeşitli hastalık grupları gösterilmiştir. TGF β nın ateroskleroza önleyici antiinflamtuvar özellikleri mevcuttur. Bu özelliğinden dolayı koruyucu sitokin olarak bilinmektedir. Sistatin C, ekstrasellüler matriks yıkıcı enzimler olan sistein proteinazların inhibitörüdür. Ekstrasellüler matriksin yıkılmasını önlediği için koroner arter ektazisinde önlediği inanılmaktadır.

Çalışmamızda TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 gen polimorfizmleri ile serum TGF β 1 ve serum sistatin c düzeylerinin koroner arter ektazili hastalarda incelenmesi ve hastalığın gelişiminde bireysel ve kombine etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu çalışma TGF β gen varyasyonlarının koroner arter ektazili hastalarda incelendiği ilk çalışmadır. Çalışma

gruplarımız; 56 hastadan oluşan koroner arter ektazi grubu ve 44 hastadan oluşan normal koroner artere sahip kontrol grubundan oluşmaktadır. TGF β 1 genotipleri polimeraz zincir reaksiyonu , restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılarak belirlenirken; serum TGF β ve serum sistatin C düzeyleri Elisa yöntemi ile belirlenmiştir. Koroner arter ektazili grup ile kontrol grubu arasında TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları açısından fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Koroner arter ektazili hastalarda kontrol grubuna kıyasla serum TGF β düzeyi anlamlı düşük saptanmıştır ($p=0,012$). Koroner arter ektazili grup ile kontrol grubu arasında serum sistatin C düzeyleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Erkek cinsiyet ($p=0,002$), hipertansiyon ($p=0,042$) ve hiperlipidemi ($p=0,003$) varlığının koroner arter ektazili hastalarda kontrol grubuna kıyasla daha sık olduğu saptandı. Koroner arter ektazili grup kendi içinde incelendiğinde TGF β 1 rs1800470 gen varyasyonlarında normal homozigot AA genotip taşıyan bireylerde, G allel (GG+AG genotip) taşıyan bireylere kıyasla düşük serum TGF β düzeyi saptandı ($p=0,012$). Yapılan regresyon analizinde serum TGF β düzeyi, erkek cinsiyet ve hiperlipidemi varlığı koroner arter ektazisi gelişimi riskini artırdığı doğrulanmıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda koroner arter ektazili grup ile kontrol grubu arasında TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 gen varyasyonlarında genotip ve allel dağılımı açısından fark olmadığı gözlemlendi. Koroner arter ektazili grupta serum TGF β düzeyi kontrol grubuna kıyasla düşük bulundu. Koroner arter ektazili grup ile kontrol grubu arasında serum sistatin C düzeyi açısından fark gözlenmedi. Koroner arter ektazili grupta kontrol grubuna kıyasla erkek cinsiyet oranı, hipertansiyon ve hiperlipidemi varlığı daha yüksek bulundu.

SUMMMARY

Investigation of Clinical Phenotypic Associations of Functional Variations in TGF β Genes in Atherosclerotic Coronary Artery Ectasia Patients

Coronary artery ectasia is diagnosed angiographically and characterized by the enlargement of a coronary artery segment to 1.5 times or more compared to the adjacent coronary artery segment. It can be seen in one or more coronary arteries, as well as localized or diffuse in the same coronary artery. The frequency varies from 1.2 to 4.9%. Fifty-percent of all coronary ectasias have atherosclerotic background. Atherosclerotic changes that occur in the tunica intima deteriorate elastic composition of tunica media. These changes lead to arterial remodeling and the process results in coronary artery ectasia. TGF β is a cytokine that plays an important role in inflammatory processes. It has been shown that TGF β gene variants and plasma levels have an association with various disease groups. TGF β has anti-inflammatory properties that has shown to prevent atherosclerosis. Because of this property, it is known as a protective cytokine. Cystatin C is an inhibitor of cysteine proteinases which are extracellular matrix destructive enzymes. It is believed to prevent coronary artery ectasia as it prevents the destruction of the extracellular matrix.

In our study, we aimed to investigate distribution of TGF β 1 rs1800469 and rs1800470 gene polymorphisms, serum TGF β 1 and serum cystatin c levels in patients with coronary artery ectasia.- To best of our knowledge this is the first study that investigate the role of TGF β gene variants in coronary ectasia. Fifty-six patients with coronary ectasia patients were included in our study whereas 44 patients with normal coronary arteries constitute the control group.

TGF β 1 genotypes were determined using polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism, and agarose gel electrophoresis techniques; serum TGF β and serum cystatin C levels determined by Elisa method. There was no difference in the genotype and allele distributions of TGF β 1 rs1800469 and rs1800470 polymorphisms between the coronary artery ectasia group and the control group ($p>0,05$). Serum TGF β level was significantly lower in patients with coronary artery ectasia compared to the control group ($p=0,012$). There was no significant difference in serum cystatin C levels between the coronary artery ectasia group and the control group ($p>0,05$). The presence of male gender ($p = 0.002$), hypertension ($p = 0.042$) and hyperlipidemia ($p = 0.003$) was found to be more frequent in coronary artery ectasia patients compared to the control group. When the coronary artery ectasia group examined in itself, low serum TGF β levels found in individuals carrying the normal homozygous AA genotype in the TGF β 1 rs1800470 gene variants compared to individuals carrying the G allele (GG + AG genotype) ($p=0,012$). Regression analysis confirmed that serum TGF β levels, male sex, and hyperlipidemia increased the risk of developing coronary artery ectasia.

In conclusion, there was no difference in genotype and allelic distribution of TGF β 1 rs1800469 and rs1800470 gene variants between the coronary artery ectasia group and the control group in our study. In the coronary artery ectasia group, serum TGF β level was found to be lower than the control group. Serum cystatin C levels were similar between the groups. Hypertension, hyperlipemia and male sex were more frequent in coronary ectasia group as expected.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner arter ektazisi (KAE) tanısı koronerangiyoğrafik olarak konulan, koroner arter damar çapının komşu koroner arter çapından 1,5 kat veya daha fazla genişlemesi olarak tanımlanan durumdur. Bir ya da birden çok koroner arterde gözlenebileceği gibi, aynı koroner arterde lokalize veya difüz olarak da gözlenebilir (2,3,5,13). Koroner arter ektazilerini; lümen çapına, ektazinin morfolojisine ve ektazinin içerdiği damar komponentine göre ayıran çeşitli sınıflamalar mevcuttur. En yaygın kullanılan sınıflama ise Markis ve arkadaşlarının oluşturduğu sınıflamadır (12,13,54).

Koroner arter ektazisinin (KAE) farklı etiyolojik sebepleri mevcuttur. Bu etiyolojik sebeplerden en yaygın görülen üç tanesi; doğuştan (konjenital), ateroskleroz zemininde gelişenler ve inflamatuvar hastalık kaynaklı (izole) olanlardır (5,15,16). Ateroskleroz zemininde gelişen koroner arter ektazileri, ektazi etiyolojisinin %50'sini oluşturur (5,15,16). Bir diğer etiyolojik grup olan izole koroner ektazi grubu, romatolojik ve inflamatuvar hastalıklar kaynaklıdır(Kawasaki hastalığı, Takayasu arteriti, poliartirit nodosa vd.). Diğer nadir etiyolojik sebepler ise travma, genetik bağ dokusu hastalıkları(Marfan, Ehler-Danlos) ve ilaç ilişkili(amfetamin, kokain) ektazilerdir (5,15,16).

Koroner arter ektazilerinde (KAE) altta yatan etiyolojik sebebe bağlı olarak patofizyolojik bulgular değişkenlik gösterir. Ateroskleroz KAE etiyolojisinin %50'sini oluşturur. Vasküler intimada meydana gelen aterosklerotik değişiklikler, vasküler mediya tabakasında kas/elastik bileşen dengesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Bu değişiklikler arteriyel yeniden modellenmeye (arteriyel remodeling) sebep olmakta ve süreç KAE ile sonuçlanmaktadır (13,25,26,54). Arteriyel yeniden modellenme sürecinde metalloproteinazların (MMPs) aşırı üretimi ve ekstraselüler matriks elamanlarının yıkımı söz konusudur (13,33,34,35,54). KAE ile ilgili ortaya konulan patofizyolojik ve klinik verilere rağmen altta yatan mekanizma tam olarak açıklanamamaktadır. Genetik yatkınlık ve çevresel

etkilerin koroner arter ektazisi oluşumuna etkisi göz ardı edilmemelidir (5,13,31,32). Sistein proteinazları (katepsin K,L, S vd.) ve serin proteinazlar (plazminojen aktivatörler, plasmin, triptaz vd.) gibi ekstraselüler matriks yıkıcı enzimlerin koroner arter ektazisi patogenezi etiyolojisinde rolü olabileceği düşünülmüştür (13,40-44,54).

TGF β 'nın içinde yer aldığı TGF β süper ailesi; aktivin, inhibin, büyüme farklılaşma faktörleri, kemik morfogenetik proteinlerini (BMPs) de içeren büyük bir ailedir. Bunlar hücre bölünmesi, farklılaşması, organizasyonu,göçü,yapışması, ekstraselüler matriks üretimi, doku hemostazı ve embriyogenezi teşvik eden çok işlevli düzenleyicilerdir (110-113). TGF β yolağında sorun oluşması kanser, otoimmün, fibrotik ve kardiyovasküler hastalıkları da kapsayan birçok hastalığa sebep olur.TGF β hücresel etkileri olumlu ya da olumsuz yönde düzenleyebilir.TGF β 'nın ateroskleroza önleyici antiinflamatuvar etkileri olduğu gibi; hipertansiyon ve kardiyak hasarda gözlenen fibroz patogenezi teşvik edecek profibrotik etkileri de mevcuttur (110-113).

TGF β 'nın; TGF β 1, TGF β 2 ve TGF β 3 olarak tanımlanmış 3 farklı izotipi mevcuttur. TGF β 1 kardiyovasküler sistem üzerine en etkili ve en önemli izotiptir. TGF β 1 tez çalışmamızda incelediğimiz izotiptir (110-114).

TGF β ; hipertansiyon, restenoz, ateroskleroz, kalp hipertrofisi ve kalp yetmezliği gibi birçok hastalığın patogenezinde yer alır.TGF β kardiyovasküler hücreler üzerine pleiotropik etkilere sahiptir.TGF β ; aterosklerozda damar duvar yapısının korunması, inflamasyonun azaltılması ve ekstraselüler matriks içeriğinin korunmasını sağladığı için koruyucu sitokin olarak adlandırılır.TGF β 'nın hücreler üzerindeki etkisinin kaybı ateroskleroz sürecini hızlandırır (110,124). TGF β kollajen üretimini artırarak plak stabilizasyonuna katkı sağlar (110,124).

Sistatin C; sistatin süper ailesinin bir üyesi olup, sistein proteinaz inhibitörüdür. Sistatin C nonglikolize, düşük molekül ağırlıklı ve sitoplazmik bir proteindir. Sistatin C'nin hücrelerin birçoğunda üretim hızı sabittir. Sistatin C'nin molekül ağırlığının düşük, üretim hızının sabit olması glomerüler filtrasyon hızının hesaplanmasında kullanılmasına sebep olmuştur (157,159,160,173). Sistatin C'ye adrenal medulla, pankreas adacıkları, tiroid bezi, beyin kortikal nöronları, endotel ve vasküler hücrelerin ekstraselüler matrikslerindeki yoğun olarak rastlanmıştır. Sistatin C, sistein proteinazlardan papain, ficin, katepsin B,H, L'yi inhibe ederek ekstraselüler matriksin yıkımını önler (157-160). Kompleman sistemini aktive ederek immün sisteme katkı sağlar.

Dolaşımda Sistatin C düzeyinin azalması koroner arter ektazisi ve abdominal aort anevrizmasına sebep olurken (176,180,181,196), Sistatin C'nin dolaşımdaki düzeyinin artması inme, kalp yetmezliği, akut koroner sendrom, periferik arter hastalığının patogenezinde katkı sağlamaktadır (185,186,196)

Yukarıda detaylı olarak açıkladığımız gibi yaptığımız literatür incelemesinde Türk popülasyonunda gerçekleştirilen KAE ile ilişkili çalışmalarda TGF β geninde yer alan varyasyonların ve bu varyasyonların plazma TGF β düzeylerine olan etkisinin araştırılmadığı gözlenmiştir. Diğer popülasyon çalışmalarında da anevrizmalar haricinde TGF β 1 gen varyasyonlarının KAE hastalarında yeterince irdelenmediği tespit edilmiştir. Planlanan bu çalışma ile toplumumuzda aterosklerotik KAE hastalarında TGF β gen varyasyonlarının TGF β düzeyleri ve KAE gelişim riski ile olası ilişkilerinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

Sonuç olarak; KAE aterosklerotik lezyonlar zemininde gelişen, ekstraselüler matriksolitik enzimlerinin aktive olması sonucu ilerleyici kollajen ve elastin yıkımı ile seyreden inflamatuvar bir süreçtir. TGF β ise inflamatuvar süreçlerde rol oynayan bir sitokin olup, literatürde TGF β gen varyasyonlarının ve plazma düzeylerinin çeşitli hastalık

gruplarında tek tek veya bir arada rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca farklı hastalık gruplarında araştırılan TGF β gen varyasyonlarının, TGF β plazma düzeylerinde ekili olduğu ortaya konmuştur. KAE hastalarında ise henüz kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda aterosklerotik KAE tanısı koyulmuş hastalarda ve sağlıklı kontrollerde PZR yöntemi ile TGF β 1 geni +869T>C (rs1800470) ve -509C/T (rs1800469) varyasyonlarını ve Multiplex Elisa yöntemi ile TGF β 1 ve Sistatin C serum düzeylerini ölçerek, TGF β 1 geninde belirlenen fonksiyonel varyasyonların KAE gelişimi üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçladık. KAE hastalarında belirttiğimiz TGF β 1 gen varyasyonları ile TGF β ve Sistatin C düzeylerini birlikte inceleyen bir çalışma henüz yapılmamıştır. Bu nedenle planladığımız çalışma özgündür.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Koroner Arter Ektazisi

Koroner arter ektazisi (KAE) ilk olarak Morgagni tarafından 1791 yılında tanımlanmıştır. Munke ve ark. 1958 yılında ilk olarak KAE'nin koroner angiyoğrafik görüntülemesini gerçekleştirmiştir. Genişlemiş koroner arterler için kullanılan ektazi terimi literatürde ilk kez Bjork tarafından 1966 yılında kullanılmıştır.(1,13)

Koroner arter ektazisi(KAE) tanısı angiyoğrafik olarak konulan ve bir ya da birden çok koroner arter çapının, lokalize yada diffüz olarak komşu normal koroner arter çapından 1,5 kattan daha fazla genişlemesidir.(2,3,5,13) KAE doğuştan veya kazanılmış bir koroner arter anomalisidir.(2,3,5) KAE'sine genellikle koroner arter hastalığı eşlik eder. Şekil 1 KAE'nin koroner angiyoğrafik görüntüsüne bir örnektir(4,5,77).



ŞEKİL 2.1.Sağ koroner arter ektazisi(4,5,77)

Koroner arter ektazisi(KAE) sıklığının Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri kaynaklı çalışmalarda %1,4 ile %5,3 arasında olduğu tespit edilmiştir.KAE'nin tek bir tanımının bulunmaması seriler arası bu farklılığın sebebi olarak görülebilir(5,6,7,13,54).Koroner arter ektazi ile ilgili çalışmaların en büyüğü olan CASS çalışmasında 20087 hastanın 978'inde (%4,9) KAE saptanmıştır(9).Hindistan'daki bir araştırmada, aterosklerotik koroner arter hastalığı oluşumunda farklı yaştaki hastalarda %10-12'lik bir insidans bildirilmiştir. Bu bölgesel farklılıklar, belirli bir genetik ve hatta çevresel yatkınlığı yansıtabilir(5,6,7,8,13,54).

2.1.1 Koroner Arter Ektazilerinin sınıflandırılması

Koroner arter ektazisi (KAE) sınıflamasında çeşitli grupta yöntemleri kullanılmaktadır(9,10,13).Ektazinin koroner arterdeki yaygınlığını ön plana alan bir sınıflamada, ektaziler diffüz ve fokal diye sınıflandırılabilir.Ektazi koroner arterin tamamında yer alıyorsa diffüz,belirli bir segment ile sınırlı ise fokal olarak isimlendirilir(9,10,13).Diğer bir ektazi sınıflaması da ektazileri şekilsel özelliklerine göre sakküler ve fusiform diye nitelendiren sınıflamadır.Ektazinin transvers çapı longitudinal çapından uzunsa sakküler, longitudinal çap transverse çaptan uzun ise fusiform diye isimlendirilir(9,10,11,13,54).Lümen çapına göre yapılan bir sınıflamada ise 5 mm'nin altı küçük ektazi, 5-8 mm arası orta ektazi, 8 mm'den büyük olanlar ise dev ektazi olarak tanımlanır.Markis ve arkadaşları ise KAE'yi dört farklı gruba ayırmış olup, tip 1; iki yada üç damarda diffüz ektazi, tip 2; bir damarda diffüz ve başka damarda lokalize ektazi, tip 3; sadece bir damarda diffüz ektazi, tip 4; lokalize yada segmental ektazi olarak tanımlanmıştır(12,13,54).Bir başka tanımlama gerçek ve yalancı anevrizma şeklinde olup gerçek koroner anevrizma intima, medya ve adventisyaı içerirken; yalancı anevrizma adventisya veya perivasküler doku hasarı ve damar bütünlüğünün kaybı ile karakterizedir(10). Bir ektazinin koroner arterin hangi katlarını ne derecede tuttuğunu ancak

ileri bir invaziv yöntem olan intravasküler ultrason (IVUS) ile tanımlamak mümkündür. Tablo 1’de KAE sınıflaması ayrıntılı şekilde yer almaktadır(13,54).

TABLO 2.1. Koroner ektazilerin sınıflandırılması (13,54)

LÜMEN ÇAPINA GÖRE	• Küçük; Ektazi çapı 5 mm’den küçük • Orta; Ektazi çapı 5-8 mm arasında • Dev; Ektazi çapı 8 mm’den büyük
MORFOLOJİSİNE(ŞEKİL) GÖRE	• Sakküler; Transvers çap longitudinal çaptan uzundur • Fusiform; Longitudinal çap transvers çaptan uzundur
İÇERDİĞİ DAMAR DUVAR YAPISINA GÖRE	• Gerçek; Ektazi tüm damar duvarı katmanlarını bulundurur • Yalancı; Damar duvar katmanlarından hepsini bulundurmaz
TOPOGRAFIK SINIFLAMA (Markis ve ark)	• Tip1; İki veya üç damarda diffüz ektazi • Tip2; Bir damarda diffüz, başka damarda lokalize ektazi • Tip3; Sadece bir damarda diffüz ektazi • Tip4; Lokalize yada segmental ektazi

2.1.2 Koroner Arter Ektazisi Etiyolojisi

Koroner arter ektazisi doğuştan veya kazanılmış olabilir.KAE ile ilişkili çok farklı etiyolojik kaynaklar bildirilmiştir.Basit bir gruplandırma ile bu etiyolojik kaynaklar üç farklı grupta toplanabilir(5,13,14,54).İlk grup doğuştan (konjenital) koroner ektazi grubudur.Bu grupta bulunan hastalar koroner ektazilerin yaklaşık %30’unu oluştururlar.Diğer bir etiyolojik sebep ise ateroskleroz zemininde gelişen koroner ektazi grubudur.Ateroskleroz zemininde

gelişen koroner ektaziler koroner ektazi etiyolojisinin yaklaşık %50'sini oluşturur(5,15,16).Bir diğer grup da izole koroner ektazilerdir.Bu grupta bulunan KAE'li hastalarda ektazi konjenital sebeplere bağlı olmadığı gibi ateroskleroz zemininde de gelişmemiştir.İzole KAE'li hastaların yapılan koroner angiyografilerinde anlamlı darlık yapan koroner arter hastalığına rastlanmamıştır(5,15,16).İzole KAE altında sınıflandırılabilen inflamatuvar KAE, vakaların yaklaşık%15'inde bulunur. Çoğunlukla küçük, orta ve büyük damar vaskülitleri ile sonuçlanan çok çeşitli iltihaplanma süreçlerinden kaynaklanmaktadır(5,16,17). Bu enflamatuvar süreçlerin çoğunluğu otoimmün ve bağ dokusu bozukluklarına ve farklı enfeksiyöz hastalıklara bağlıdır (Kawasaki hastalığı, Takayasu arteriti, farklı antinötrofil sitoplazmik antikörlere bağlı vaskülit, sistemik lupus eritematoz, skleroderma, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, Churg-Strauss sendromu, Wegener granülomatozu, poliarterit nodoza, Behçet hastalığı, mikotik anevrizma, sifilitik aortit, bakteriyel ve mikobakteriyel enfeksiyonlar ve insan immün yetmezlik virüsü ile enfeksiyonu) (5,13,17,18). Genellikle tek bir koroner arterde bulunan doğuştan ve travma sonrası anevrizmaların aksine (örneğin revaskülarizasyon işlemlerinden sonra) aterosklerotik ve inflamatuvar anevrizmalar genellikle birden çok bölgeyi içerir ve bir koroner arter ile sınırlı değildir.KAE etiyolojisinin incelendiği birçok araştırmada KAE ile bazı klinik durumların birlikteliği dikkati çekmiştir. Abdominal aort anevrizması nedeniyle opere olan hastalarda %26,8 oranında KAE saptanmıştır (5,19). Ailevi hiperlipidemili asemptomatik 197 hasta, aynı yaş ve cinsiyetteki koroner arter hastalığı (KAH) düşünülerek tanısal amaçlı koronerangiografi (KAG) yapılan benzer sayıda hasta ile karşılaştırılmış ve ektazi prevalansının ailevi hiperlipidemili hasta grubunda daha yüksek olduğu saptanmıştır (5,13,20).KAE gelişiminde bildirilen bir diğer faktör nitrik oksit (NO)endotel bağımlı gevşetici faktör (EDRF:Endothelium-derived relaxing factor) aracılığı ile kronik aşırı stimülasyonu sonucu koroner dilatasyona neden olabilmesidir. Diğer bir olasılık ise şöyledir:

bu hastalarda genellikle KAH vardır ve ateroskleroz varlığında endotelden uygunsuz NO salınımı olmaktadır. Aterosklerotik damarların asetilkolinle (Ach)stimülasyonu ile paradoksik vazokonstriksiyon görülebilir. Bu NO'ya bağlı vazodilatasyon ile endotelin bağımlı vazokonstriksiyon arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır. NO'nun Ach ile stimülasyonu sonucu biyoyararlılığı azalmakta, endotelin dominant hale gelmekte ve vazokonstriksiyon oluşmaktadır(5,21,22,23).KAE'nin etiyolojik sınıflaması Tablo 2'de ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

TABLO 2.2.KAE'nin etiyolojik sınıflaması (5)

KORONER EKTAZİ ETİYOLOJİSİ	SIKLIĞI (%)
DOĞUŞTAN (KONJENİTAL)	30
ATEROSKLEROZ	50
İZOLE (KAZANILMIŞ AMA KORONER ARTER HASTALIĞI İLİŞKİSİZ) (İNFLAMATUAR)	15
TRAVMATİK(GÖĞÜS TRAVMASI SONRASI VEYA KORONERANGİYOGRAFİ SONRASI)	3
GENETİK BAĞ DOKUSU HASTALIĞI(MARFAN VE EHLERS-DANLOS)	
İLAÇ İLİŞKİLİ (KOKAİN, AMFETAMİN)	
İDİYOPATİK	

2.1.3.Koroner Arter Ektazisi Patofizyolojisi ve Histopatolojik bulgular

Bütün koroner ektaziler koroner anjiyografik görünüm olarak benzer olsalar bile altta yatan etiyolojik nedene bağlı olarak farklı histolojik özellik gösterebilirler. Aterosklerotik KAE, vasküler intimada olağan aterosklerotik değişikliklerle beraber gözlenir, vasküler medyumun kas/elastik bileşen dengesinin bozulması ile karakterizedir. İnflamatuar KAE’de ise damarın medya tabakasında inflamatuvar birikmeye bağlı hücre ve doku yıkımı gözlenirken, intima tabakasında bir hasar veya birikme gözlenmez(5,13,24). Klinik tablo ve histopatolojik bulgular göz önüne alınarak, koroner ektazinin, lokal plak büyümesine yanıt olarak arteriyel yeniden modellenmenin (arteriyel remodeling) özel bir biçimi olduğu öne sürülmüştür. Arteriyel yeniden modellenme total arteriyel kesit alanında, özellikle dış elastik membranda meydana gelen hemodinamik ve biyokimyasal faktörlerdeki değişikliğe yanıt olarak oluşur. Birbirinden farklı üç arteriyel yeniden modellenme mekanizması tanımlanmıştır(13,25,26,54).

A-) Dış elastik membran ve lümen alanının birlikte daraldığı ve büzüştüğü konstriktif(büzücü) yeniden modellenme

B-) Total dış elastik membran alanının arttığı, ancak lümen alanının korunduğu kompensatuvar (telafi edici) genleşmeli yeniden yapılanma

C-) Elastik membran ve lümen boyutunun beraber arttığı aşırı genişlemeli yeniden modelleme

Koroner Arter Ektazisi ile ilgili morfolojik ve klinik verilere rağmen, bu fenomenin altında yatan patogenetik mekanizmalar halen iyi anlaşılmamıştır. Konjenital ve posttravmatik anevrizmalar genellikle kalp boşlukları veya kalbin venöz sistemi ile fistül iletişimden kaynaklanmaktadır (5,13,14,27,54). KAE'nin ateroskleroz ile genellikle bir arada görülmesi ve patogeneizlerindeki benzerlik birçok kaynakta KAE'nin aterosklerozun şekilsel bir formu olarak görülmesine sebebiyet vermiştir(4,5,13,14). Erkek olmak, yüksek tansiyon hastası

olmak, hiperlipidemi, inme öyküsü ve sigara içimi gibi farklı ateroskleroz risk faktörlerinin KAE için risk faktörleri olduğu bildirilmiştir(4,5,13,14,28,54).Ateroskleroz ve diabetes mellitus (DM) arasında bilinen güçlü bir ilişki olmasına rağmen, KAE ve DM arasında bu durumun tam tersi bir ilişki olduğu bildirilmiştir(5,13,29,54). DM'nin arter duvarında negatif yeniden modellemeyi teşvik ettiği bilinmektedir ve aterosklerotik süreç boyunca telafi edici arteriyel genişlemeyi bozmaktadır(13,30,54). Bu durum bu çelişkiyi açıklar, ama KAE'nin altında yatan patogenetik mekanizmaların daha karmaşık olduğunu bize gösterir. Ayrıca, ateroskleroz dışında KAE'ye sebep olan diğer etiyolojik sebepleri unutmamak gerekir.Genetik yatkınlık ve çevresel faktörler KAE patogenezinde rol oynayabilir (5,13,31,32).

Koroner ektazi abartılı ekspansil(genişlemeli) arteriyel yeniden şekillenmenin sonucu olarak ortaya çıkar.Damarın mediya tabakasında bulunan ekstraselüler matriks(ECM) elemanlarının enzimatik yıkılması söz konusudur(13,33,34,54). Yapılan hayvan deneylerinde matriks metalloproteinazların(MMP) aşırı ekspresyonu genişlemiş arteriyel yeniden şekillenme ile ilişkilendirilmiştir(13,35).MMP baskılanmasının ise bu süreci yavaşlattığı gözlenmiştir. İnsanlarda MMP üretiminde artış abdominal aort anevrizmalarına neden olurken (13,36-38) post-mortem çalışmalar genişlemiş koroner arterlerde MMP'lerin rolünü desteklemektedir (13,39,54). MMP-3 geninin artmış ekspresyonu, koroner anevrizmaların bağımsız bir öngördürücüsüolarak bildirilmiştir (40). Sistein proteinazlar (örneğin katepsin K, L ve S) ve serin proteinazlar (nötrofil elastaz, plazminojen aktivatörler, plazmin, kımız ve triptaz) gibi proteolitik enzimlerin diğer sınıfları koroner ektazinin patogenezinde önemli rol oynayabilir (13,40,41,42,43,44,54). Matriks yıkıcı enzimler, iç elastik tabakanın şiddetli bozulmasına neden olabilir ve inflamatuvar hücrelerin intima içerisinden mediya tabakasına uzanması, matriks proteazların üretilmesi, kollajen ve elastin liflerinin bozulması, arteriyel duvar bütünlüğünün zayıflatılması süreçleri ektazik duvar oluşumu ile sonlanır(43,44,54).

Plazma lipoprotein düzeyleri ile koroner arter anevrizmaları arasında ilişki kurulmasının sebebi, ailesel hiperkolesterolemi vakalarından yapılan geri bildirimlerden kaynaklanmaktadır (13,45,46,54). Yapılan bir araştırmada, heterozigot ailesel hiperkolesterolemili hastalarsağlıklı kontrol gruplarındaki bireylerle karşılaştırıldığında, koroner ektazinin heterozigot ailesel hiperkolesterolemili hastalarda daha sık olduğu ve azalmış yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C) seviyeleri ile ilişkili olduğu bulundu (47,54). Heterozigot ailesel hiperkolesterolemisi olan bir hastada serum düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) düzeylerinin azaltılması koroner ektazinin anjiyografik gerilemesine yol açmıştır (13,48,54). LDL-C moleküler düzeyde elastin, kollajen ve proteoglikanları bağlar (13,49,54) ve oksidatif modifikasyona maruz kalarak matris bileşenlerine olan ilgisini artırır. Okside LDL-C daha sonra makrofajlar tarafından düz kas hücrelerine sızar, böylece köpük hücre oluşumu elde edilir. Köpük hücreler, matriks bozucu enzimleri geliştirerek ekstraselüler matriksin aktif parçalanmasını artırır (50,54). Ayrıca, oksitlenmiş LDL-C, MMP'leri üretilmesini artırır.

İnflamasyon, koroner arterler ve sistemik arterlerde ektazi oluşumunda anahtar konuma sahiptir. Yapışma (adezyon) molekülleri, kandaki monositlerin vasküler endotele yapışmasına ve ekstraselüler alana geçmesine aracılık ederek ateroskleroz patogenezinde yer alır (13,51,54). İzole ektazisi olan hastalarda E-selektin, hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) plazma düzeyleri; sadece obstrüktif koroner arter hastalığı veya normal koroner arterlere sahip olan hastalarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu yapışma moleküllerinin seviyeleri ile vasküler ektazili segmentlerin uzunluğu arasında anlamlı bir pozitif korelasyon bulunmuştur (13,52,54). Ektazi ve obstrüktif koroner arter hastalığının kombinasyonu olan vakalarda ICAM-1 ve VCAM-1'in daha yüksek seviyeleri de kaydedilmiştir (13,53,54).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), güçlü anjiyojenik özelliklere sahiptir ve iltihaplanma süreçlerinde önemli bir role sahiptir. Diffüz koroner ektazisi olan hastalarda belirgin şekilde daha yüksek VEGF düzeyleri saptanmıştır(13,54,55). Bu, anevrizmal arteryel segmentlerde tanımlanan neovaskülarizasyonla beraber gözleendiği gibi, aynı zamanda aterosklerozun patogenezinde de gözlenen bir durumdur (54,55). Dahası, VEGF MMP'lerin oluşumunu tetikler ve böylece vasküler duvarda yapısal değişiklikleri sürdüren ve ilerleten bir kısır döngü oluşturur (54,56).

Lökotrienler aterosklerotik lezyonlarda bol miktarda eksprese edilir ve daha yüksek aterosklerotik yük ve koroner arter hastalığı bulguları ile bağlantılıdır (13,54,57). Deneysel modellerde, 5-lipoksijenaz geninin artmış ekspresyonu aortik anevrizma oluşumu ile ilişkilendirilmiştir(54,58). 5-lipoksijenaz aşırı ekspresyonu, vasküler duvar içindeki makrofajlar tarafından MMP'lerin serbest bırakılması sağlayan gen bölgesi ile birlikte lokalize edilmiştir (13,54,59).

Koroner arterlerde anevrizma gelişiminde bulaşıcı ajanların katkısı konusunda ateroskleroz patogenezinde rol oynayan bir ajan olan Chlamydia pneumoniae rolüne özel önem verilmiştir. C. pneumoniae'ya karşı antikor düzeyleri izole koroner ektazisi olan hastalarda ateroskleroz için belirlenmiş risk faktörlerinden bağımsız olarak normal kontrollere göre daha yüksektir (13,54,60). Koroner ektazide C. pneumoniae'nın etkisi olasılıkla MMP'lerin ekspresyonunu düzenleyen ısı-şok proteini 60'ın üretilmesiyle sağlanır (13,54,61,62).

Anjiyotensin II endotel disfonksiyonu, inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonu, oksidatif stresin oluşumu, hücre proliferasyonu, fibrozis ve tromboz ile aterosklerozu desteklediği için vasküler duvar homeostazının önemli bir belirleyicisidir (13,54,63). Anjiyotensin II'nin artmış plazma ve doku düzeylerine yol açan belirli bir genetik polimorfizm koroner ektazi ile ilişkilendirilmiştir (13,54,64). Artmış anjiyotensin II seviyeleri, ektaziye bir

bağ oluşturan matriks bozucu enzimlerin aktivitesini uyaran interlökin-6'yı indükleyerek medyanın bozunmasını kolaylaştırabilir (13,54,65).

Vazodilatör, anti-inflamatuar, anti-apoptotik ve anti-tromboz etkileri ile tanınan NO'nun, ektaziye zemin hazırlayan metabolitleri ürettiği bilinmektedir. Bu tür bir ilişki için dolaylı kanıt, daha önce herbisit spreyine maruz kalmış kişilerde ektazinin sıklığının arttığı bir rapordan gelmiştir. Herbisit spreyleri, asetilkolini artırır ve bu da NO üretimini uyarır (13,54,66).Yapılan bir hayvan deneyindeNO sentaz (iNOS) ekspresyonununve NO son ürünlerinin plazma seviyelerinin artmasının abdominal aort anevrizması oluşumunu indüklediği bildirilmiştir.Yine aynı çalışmada iNOS'un sınırlandırılması abdominal aort anevrizmasının genişlemesini yavaşlatmıştır (13,54,67). Bir başka çalışmada, iNOS upregülasyonunun, MMP sentezlenmesini artırdığı gözlemlendi (13,54,68). Bu, anevrizma oluşumu ile makul bir moleküler bağlantı sağladı.

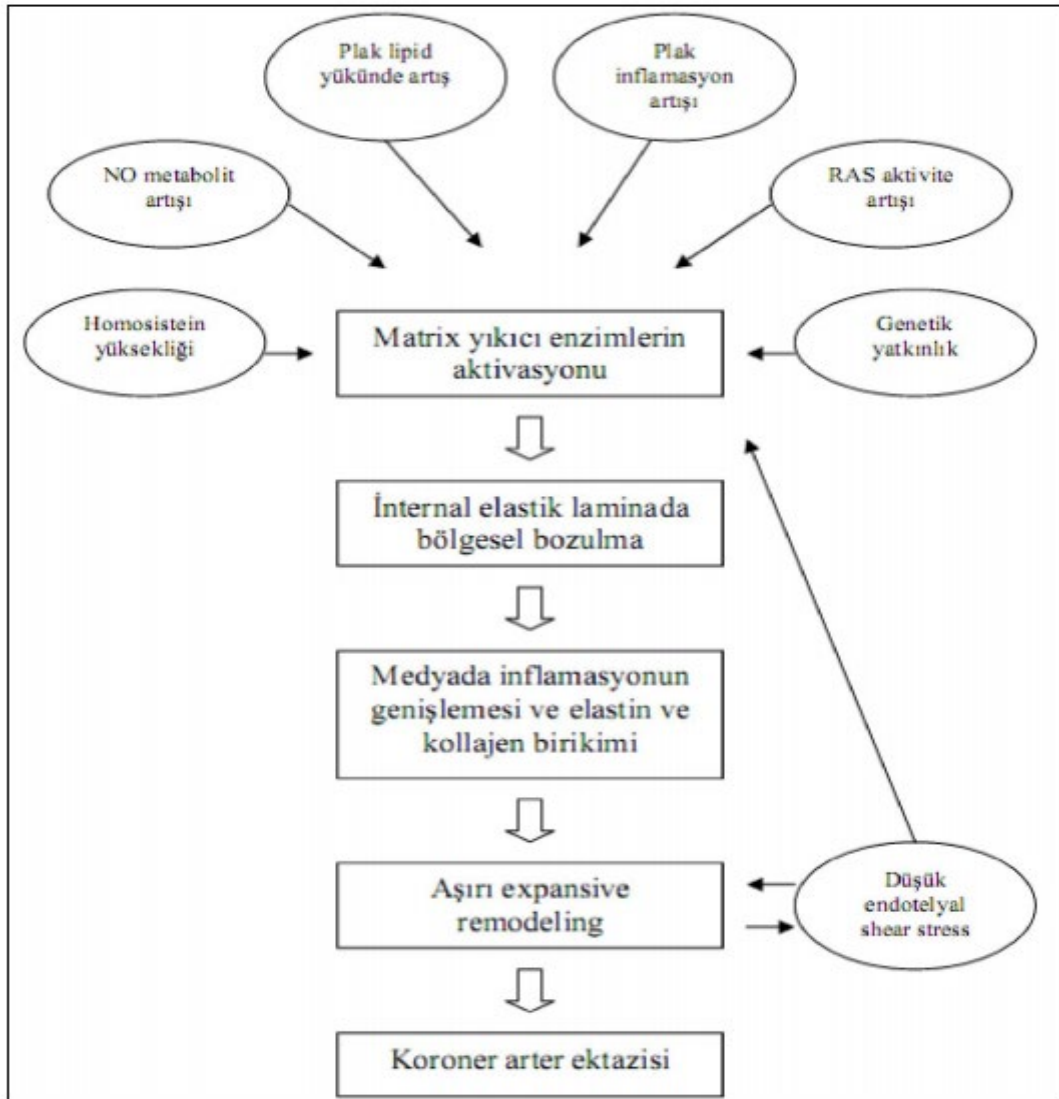
Genetiğin koroner ektazinin gelişimine olan etkisine ilişkin bazı dolaylı kanıtlar, anjiyotensin dönüştürücü enzim genotipi ve ailesel hiperkolesterolemi gibi kalıtsal hastalıklar ile ilişkilendirilmesinden gelmektedir (13,45,46,54). Genetik varyasyonlar, bazı coğrafi bölgelerde ektazinin frekansındaki farklılıkları da açıklayabilir (54). İlgi çekici bir şekilde, Afrikalı Amerikan ırkı, Kawasaki hastalığı olan çocuklarda koroner anevrizmaların oluşumuna karşı koruyucu bir faktör olarak bulundu (54,69). Bununla birlikte, ektaziye yol açacak kesin genetik kusur henüz gösterilmemiştir.

İnsülin hem ateroskleroz hem de koroner ektazi patogenezinde yer almaktadır. Koroner ektaziyle ilişkisi konusunda, bir çalışmada, heterozigot ailesel hiperkolesterolemisi olan hastalarda açlık plazma insülin seviyeleri ile koroner ektazi arasında bir ilişki olduğu ortaya çıkmıştır (13,54,70). Hiperinsülinemi, arteriyel medyadan vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyarak ve ekstraselüler matriks üretimini

bozarak, koroner ateroskleroz zemininde yeniden şekillendirme sürecini daha da kötüleştirebilir (13,54,71).

Lokal(yerel) koroner akım ortamı koroner ektaziye yol açabilir. Aterosklerotik lezyonlar, endotelial kayma gerilimi(endothelial shear stres) düşük olan arteriyel bölgelerde gelişir ve ilerler (13,54,72). Yakın tarihli histopatoloji çalışmaları, düşük endotel kayma geriliminin bulunduğu bölgelerde yoğun lipid birikimi, inflamasyon, internal elastik tabakada bozulma ve aşırı geniş kaplamalı yeniden şekillenme ile yüksek riskli aterosklerotik plakların geliştiğini ortaya koymuştur (54,73,74). Lokal olarak genişleyen bir koroner bölgedeki vasküler ortamda düşük endotel kayma gerilimi devam eder, ektazi oluşumunu teşvik eder ve nihayetinde bir aterosklerotik lezyonun yüksek riskli bir plağa dönüşmesini sağlar. KAE gelişimi ve etyopatogenetik faktörler Tablo 3 de ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

TABLO 2.3. KAE gelişimi ve etyopatogenetik faktörler (13,54)



2.1.4.Koroner Arter Ektazisin koroner anjiyografik özellikleri

Koroner arter ektazisi(KAE), Koroner Arter Hastalığı(KAH) ile yüksek oranda birliktelik göstermektedir. KAE'li hastaların yaklaşık %50'sinde eşlik eden KAH mevcuttur (3,13,54,76,77). KAE'yaKAHeşlik eden hastalarda ektazi en çok sağ koroner arterde gözlenir.İkinci sıklıkta sol ön inen arterde gözlenirken, bunu sirkumfleks arter takip eder (3,13,54,76,77). Sağ koroner arter, izole KAE olan hasta grubunda %45 ila%75 arasında değişen sıklıklarla yine en çok etkilenen koroner arterdir(3,75,76,77).Bununla birlikte, KAH'lılarda sol ön inen arter en sık daralmaya sebep olan lezyonun bulunduğu damardır,onu sağ koroner ve sol sirkumfleks arter izlemektedir (13,78). Ayrıca Demopoulos'un raporunda sağ koroner arterde daralmaya sebep olan bir lezyon bulunması, sol ön inen ve sol sirkumfleks arter ile karşılaştırıldığında en azdır (13,76).KAH'lıların % 34'ünde daralmaya sebep olan lezyonun bulunduğu koroner arter ile ektazinin bulunduğu koroner arter aynı koroner arterdir. Hastaların %65'inde ise daralmaya sebep olan lezyonun bulunduğu koroner arter ile ektazinin bulunduğu koroner arter birbirinden farklıdır.Giannoglou ve ark. KAE'si olan hastaların KAE'si olmayan hastalara kıyasla daha yüksek KAH oranları sergilediğini bulmuşlardı, bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (13,78). Bununla birlikte, 9 yıllık çalışma periyodu boyunca KAH sıklığı anlamlı oranda artarken KAE sıklığının aynı kaldığı gözlenmiştir(13,78).

Koroner arter ektazilerinin anjiyografik olarak değerlendirmesi ektazinin boyutu, lokalizasyonu gibi anatomik özellikleri yanında koroner akım ve mikrosirkülasyon hakkında önemli bilgiler elde etmemizi sağlar (13,54,79). KAE saptanan olgularda koroner anjiyografide bozulmuş kan akımının göstergesi olarak üç akım paterni izlenmektedir (12,13,23,54).

1. Radyopak maddenin dolması ve boşalmasında gecikme (slow flow).
2. Segmental ileri-geri akım fenomeni “Backflow” (milking phenomenon).
3. Dilate koroner segmentte radyopak maddenin lokal birikimi (staz).

Bu üç akım paterni, genişlemiş koroner arter lümeninde akımın laminar özellikten, türbülant akıma dönüşmesinin sekonder bulgularıdır (13,54,80). Akyürek ve ark. izole diffüz KAE’si olan 17 hastada yaptıkları bir çalışmada; bu hastaların tamamında efor testinde iskemi oluştuğunu ve bu hastaların 16’sında ise anjiyografik olarak yavaş akım, ileri-geri akım ve staz varlığını saptamıştır (13,23,54,81). Papadakis ve ark. 173 ektazik hastayı değerlendirmiş, izole KAE’li hastalar stenotik KAH ile karşılaştırıldığında koroner akım hızı düşük bulunmuştur (13,23,54,82). Ektazik segmentlerde kan akımının türbülant özellik kazanması, aksiyal akımın kaybına bağlı gelişen eritrosit agregasyonları ve ektazik bölgede oluşan trombojenite artışı ile bunun sonucunda oluşan trombüslerin distale embolizasyonu, KAE ile mikrovasküler perfüzyon bozukluğu arasındaki ilişkinin önemli nedenleridir (13,54,83,85).

Koroner arter ektazik hastaların ektazik arterlerinin, ektazik olmayan arterleri veya kontrol grubuyla karşılaştırıldığı çalışmalarda, TIMI kare sayısı ve MBG (Myokardiyal blüsh grade) değerleri, mikrovasküler perfüzyon bozukluğunu öngörececek düzeyde düşük bulunmuştur (13,23,84,85). Güleç ve ark. 94 KAE’li hastanın 45’inde (%46) bozulmuş epikardiyal akımı göstermiştir. Ek olarak MBG metodu ile değerlendirilen mikrovasküler perfüzyon sadece anormal TIMI akımı olanlarda değil normal TIMI 3 epikardiyal akımı olan ektazik hastaların %45’inde de bozulmuş olarak tespit edilmiştir (13,23,85). Bir başka çalışmada ise, izole KAE’li olgularda hiperemik stimulusa yanıtın kontrol grubuna göre oldukça azalmış olduğu ve bunun sonucunda koroner akım rezervinin düşmüş olduğu kantitatif olarak gösterilmiştir (13,23,81). Sonuç olarak KAE’li hastalarda normalden düşük koroner akım rezervi ve mikrovasküler akım dinamiklerindeki değişiklikler, stenotik KAH olmadan da miyokardiyal iskemiye yol açabilmektedir (13,23,81).

2.1.5.Koroner Arter Ektazili hastalarda semptomlar, süreç ve tedavi

Koroner arter ektazili hastalarda yönetim seçenekleri tıbbi, perkütan ve cerrahi yaklaşımları içerir. Net bir klavuz önerisi mevcut değildir ve yayınlanan önerilerin çoğu, kontrollü araştırmalara değil, yazarların kişisel deneyimlerine dayanmaktadır. KAE ile ilişkili tromboz riski nedeniyle, birçok yazar antiplatelet ve / veya antikoagülasyon tedavileri önermektedir. Ama kesin kanıt olmadığı için bu tedavilerde tartışmalıdır (4,5, 76, 86, 87, 88). KAE ile ilişkili olabilen çeşitli etyolojileri akılda tutarak, her bir vakaya vaka bazlı yaklaşmak ve prognoza bağlı olarak yönetimin uyarlamasını yapmak gerekmektedir. Aterosklerotik KAE, izole KAE ve travmaya bağlı KAE'nin tıbbi tedavileri ve hasta yaklaşımları birbirinden farklıdır.

Aterosklerotik KAE'li hastalar ile, ektazisi olmayan aterosklerotik koroner artere sahip hastalar benzer morbidite ve mortalite oranlarına sahip olduğundan ve risk faktörlerinin çoğu ortak olduğundan, her iki hasta grubunda risk faktörlerinin agresif kontrolü şiddetle önerilmektedir (5,76). Genellikle, aterosklerotik koroner artere sahip hastalar, KAE'li olsun olmasın, rutin olarak anti-platelet tedavialmaktadır. Tromboz veya miyokard enfarktüsü(MI) yaşayan aterosklerotik KAH'ı olan hastalar için, kontraendikasyon yoksa, sekonder korunma amacıyla ömür boyu sistemik antiplatelet tedavi düşünülmelidir. Kuşkusuz, kanama riskinin dikkatle değerlendirilmesi gereklidir; çünkü bu hastalar genellikle ileri yaşlardadır ve halihazırda tekli veya ikili antiplatelet tedaviye sahiptirler (5,14,87). Birincil korunma için sistemik antikoagülasyon tedavinin geçerliliği kanıtlanmış değildir. Bununla birlikte, yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkili olduğu saptanan ciddi koroner arter genişlemesi olan (≥ 2 kat veya ≥ 8 mm) yüksek riskli hastalar için endike olabilir (5,88,89,95). Aterosklerotik KAH'ı olan hastalarda hipertansiyon, dislipidemi veya sigara içimi gibi risk faktörleri de bulunuyorsa bu hastalar KAE gelişimi için daha yüksek risk altındadır. (4,5,14,28,76). Bu

nedenle, bu tür risk faktörlerinin agresif kontrolü bu hasta grubunda büyük önem teşkil etmektedir.

İzole ve spesifik olarak inflamatuvar KAE, artmış MI insidansı ile ilişkilidir. Altta yatan etiyolojinin mümkünse tedavisine ve bunun kötüleşebileceği ya da şiddetlenebileceği koşullardan kaçınmaya vurgu yapılmalıdır. Antiplatelet ve antikoagülan tedavileri düşünmek mantıklı olabilir; ancak herhangi bir kılavuz olmadığından klinik yargı kullanılmalıdır. Her vakayı ayrı ayrı ele almak faydalı olacaktır. Değerlendirme; altta yatan etiyolojinin şiddetini, vaskülit bulgularını, iskemik semptomların varlığını, egzersiz toleransını, tromboz öyküsünü veya riskini, MI veya KAE komplikasyon insidansını, aile öyküsünü ve kanama riskini içermelidir. Altta yatan etiyolojilerin çeşitliliği nedeniyle uzman görüşü aramak önerilir. Örneğin, immünsupresif tedavi, Behçet hastalığı zemininde KAE'de olumlu sonuçlar verir (5,96). Bir başka örnek, siklofosfamidin ileri evre poliarteritis nodozada (PAN) remisyona neden olduğu ve tüm anevrizmaların tamamen gerilediği gözlenmiştir (5,90). Vasküler medyanın kas/elastik bileşen dengesinin tahribatının geri döndürülemez olduğu varsayıldığı için bu çok ilginç bir bulgudur. Tekli antiplatelet tedavi, izole KAE'de kardiyovasküler olayların birincil korunması için verilebilir (5,86, 87, 91, 92). Ömür boyu sistemik antikoagülasyon terapinin eklenmesi, primer korunma için değil; sekonder için düşünülebilir (5,14,86,87,93). Bu hastalar genellikle daha genç hastalar olup bu tür tedavilere tolerans gösterebilirler ancak kanama riskini hala taşıdıkları unutulmamalıdır. İzole KAE'de miyokard iskemisinin gelişiminin kalp hızına bağlı olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, β -bloker tedavisi negatif kronotropik etki ve miyokardiyal oksijen tüketiminin azalması nedeniyle düşünülebilir (5,86).

Bazı özel tıbbi tedaviler, edinsel her tür KAE'de faydalı olabilir. Statinlerin anti-inflamatuvar etkilerinin, pro-inflamatuvar durumu iyileştirdiği ve hatta genel olarak KAE'de görülen bazı inflamatuvar biyobelirteçlerin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (5,97,98).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiyotensin II reseptör blokörleri KAE'de anti-inflamatuar etki göstermiştir (5,98, 99). Bu bulguların herhangi birinin klinik öneminin henüz teyit edilmemiş olmasına rağmen; özellikle de dislipidemi, hipertansiyon ya da diabetes mellitus gibi başka bir endikasyona sahip olduklarında, bu KAE çeşitleri için bu ilaç gruplarını değerlendirmek mantıklıdır. Bu ilaçlar aterosklerotik KAH'lılarda bilinen faydalarından ötürü aterosklerotik KAE'li hastalar için de kuvvetle düşünülmelidir. Sistemik hipertansiyonun kontrolü, intramural basıncı düşürerek koroner genişlemenin yavaşlamasına yardımcı olabilir (5,13,76,94). Bu konjenital KAE'de bile faydalı olabilir.

Sınırlı veriler nitrogliserinin, dil altı olsa bile, stenoza olmaksızın ektazi ortamında zararlı olabileceğini ve enfarktüsli hastalığa ilerlemeyi hızlandırabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konu tartışmalıdır (5,86,100). Nitrogliserin, ciddi darlığı olan koroner arter hastalarında bilinen etkili bir antianjinal ajandır. Bununla birlikte, darlık olmayan genişlemiş koroner segmentlerde, antianjinal mekanizmalarla (örn., Endotel disfonksiyonu ve trombosit agregasyonu), yavaş koroner kan akış hızı ve durağanlığa sebep olabilir. Böyle bir güçlü vazodilatatör kullanmanın, bu genişlemiş arterlerde daha yavaş kan akışına neden olabileceği ve iskemiye kötüleştireceği yönünde bir endişe vardır. Bu nedenle, kullanımında dikkatli olunmalıdır ve iskemi kötüleşirse kesilmelidir. Anjinası olan hastalarda nitratlarla göğüs ağrısının şiddetlenmesi KAE'yi düşündürmelidir.

Dihidropiridin kalsiyum kanal blokerinin eklenmesi (koroner bir vazodilatatör) KAE'nin sık görülen komplikasyonlarından biri olan vasospazmı önlemeye yardımcı olabilir (5,87,101). Klinik olarak fayda kesin değildir. Nitrogliserinin aksine, bu ilaç grubuyla komplikasyon bildirisi bulunmamaktadır.

Anevrizmanın fiziksel özelliklerine (örn. boyut, yer, tıkanıklık derecesi, anevrizmadan dallanma) bağlı olarak rezeksiyon, ligasyon ve bypass greftleme gibi farklı cerrahi yaklaşımlar başarıyla denenmiştir (5,102,103,104). Ne yazık ki, ideal cerrahi yaklaşım

belirsizdir. Genel olarak koroner arter bypass greftleme, medikal tedaviyle karşılaştırıldığında sağkalım oranının iyileşmesiyle ilişkilendirilebilir (5,105). Bununla birlikte dikkat çekici olarak bypass greftleme, ektazi içermeyen KAH'lı bireyler ile aterosklerotik KAE'li bireyler karşılaştırıldığında kötü advers olaylarla ilişkili olmasa da, iki grup arasında sağkalımda fayda sağlamadığı gösterildi(4,5,105).

Perkütan yaklaşım söz konusu olduğunda veriler daha sınırlıdır. Genişlemiş bölümlerdeki tromboz yükünün koroner anjiyografide nasıl ele alınması gerektiği konusunda bir belirsizlik vardır. Akut Mİ esnasında, dilate koroner segmentler, dilate olmayan koroner damarlara kıyaslandığında çok daha büyük bir tromboz yükü için ortam sağlar (5,76). Böyle büyük bir tromboz yükü, genellikle, KAE'li hastalarda akut MI'nun tedavisini zorlaştırır ve perkütan koroner müdahaleler sonucu oluşan yan etkileri artırır (5,106,107). Stent implantasyonu veya trombozu aspire etme girişimleri distal tromboembolizasyon riski taşır. Seçici olgularda örneğin stent uygulanmayan hasta grubunda;balon anjiyoplasti veya bir translüminal ekstraksiyon kateteri ile atarektomi yapılması ile iyi sonuç elde edildiğine ilişkin bazı raporlar olmasına rağmen, genişlemiş bir koroner arterin akut tıkanıklığı büyük tromboz yükü nedeniyle daha düşük başarı oranları ile birlikte (5,28,95, 106, 108, 109).

2.2.Transforming Growth Factor Beta (TGF β)(Dönüştürücü

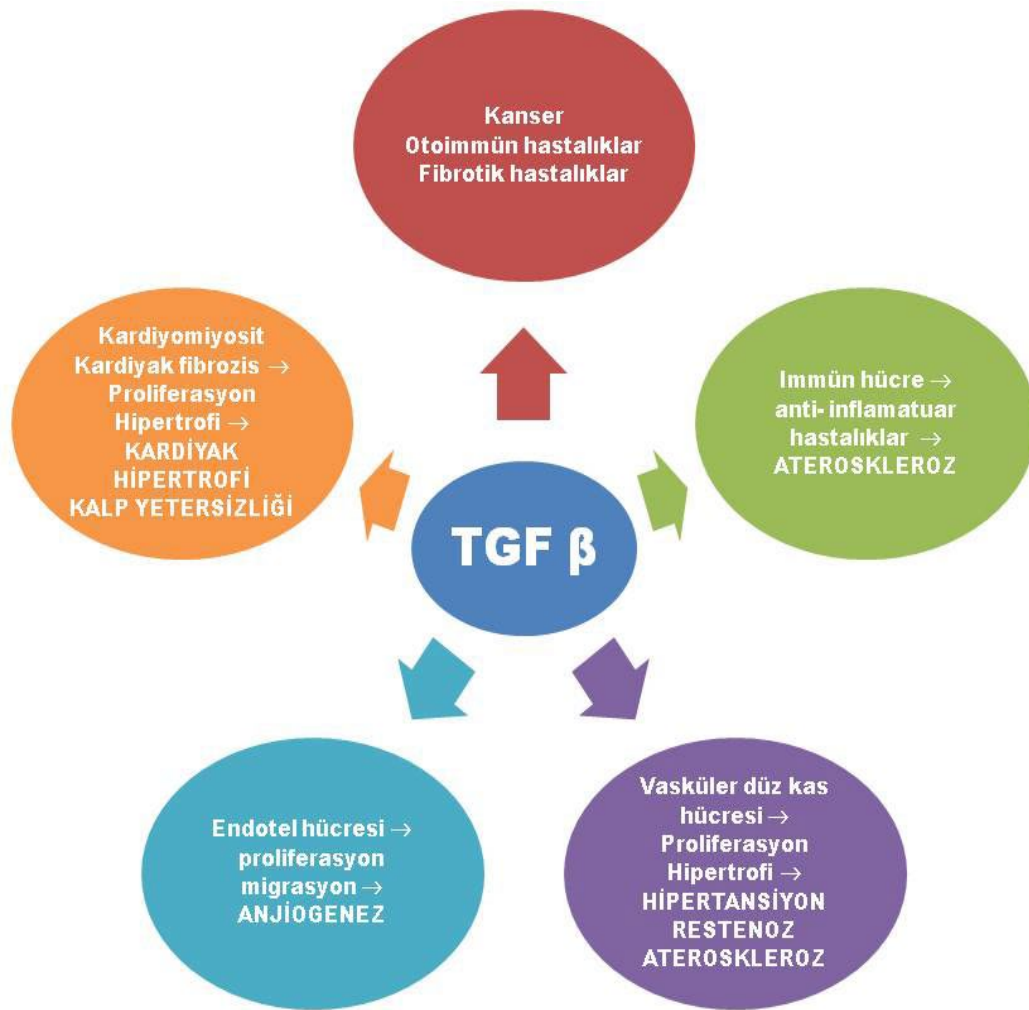
Büyüme Faktörü Beta)

Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF β) süper ailesi, TGF β , aktivinler, inhibitörler, büyüme farklılaşma faktörleri ve kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler) de dahil olmak üzere 40'tan fazla üyeden oluşur. Bu ailenin tüm üyeleri ortak dizi elemanları ve yapısal motifleri paylaşıyorlar. Bunlar hücre bölünmesi, farklılaşma, göç, yapışma, organizasyon ve ölümünü, ekstraselüler matriks (ECM) üretimini, doku homeostazını ve embriyogeneziyi teşvik eden çok işlevli düzenleyicileridir (110,111,112,113). Bu proteinler arasında TGF β doku homeostazında çok önemli bir role sahiptir.TGF β yolağında problem meydana gelmesi;

kanser, otoimmün, fibrotik ve kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere birçok hastalığa sebep olur.

TGF β , hücresel tepkileri pozitif ya da negatif yönde düzenleyebilir. Örneğin, TGF- β 'nın anti-inflamatuar özellikleri, ateroskleroza önlemede faydalıyken; profibrotik etkileri, hipertansiyon ve kardiyak hasarda gözlenen fibroz mekanizmasına katkıda bulunur(110-113).

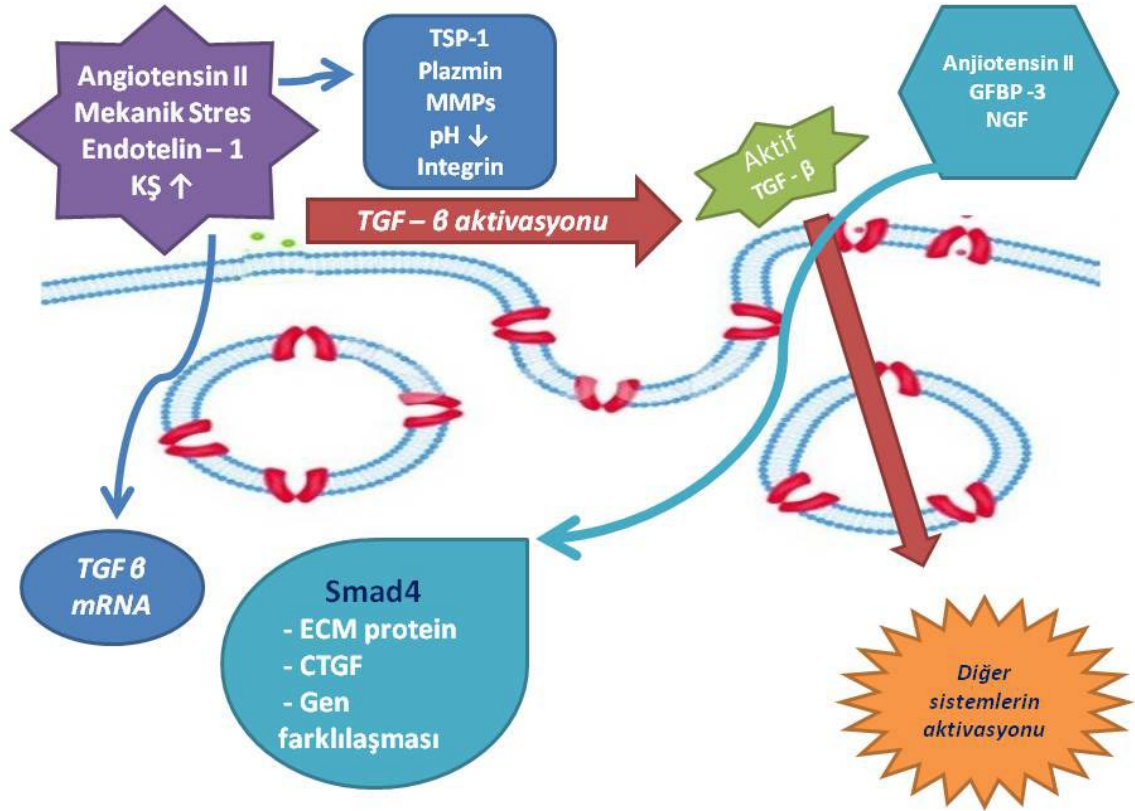
TABLO 2.4. TGF β fizyopatolojisi(110,111,112,113)



TGF β 1, TGF β 2 ve TGF β 3 olmak üzere üç farklı TGF- β izoformu tanımlanmıştır. TGF β 1 kardiyovasküler sistem için en önemli izoformdur. Endotel hücrelerinde vasküler düz kas hücrelerinde, miyofibroblastlarda, makrofajlarda ve diğer hematopoetik hücrelerde

bulunur (110,114). TGF β sentezi, farklı farklı yerlerde gerçekleşen kompleks bir süreçtir (110,114). TGF β , ana bölge ve latansa bağlı peptid(latency associated peptide) (LAP) içeren latent TGF β olarak adlandırılan inaktif bir protein olarak sentezlenir. Bu protein latent TGF β bağlama proteinleri (LTBP) ile etkileşir ve ECM'ye demirlenir. TGF β proteolitik bölünme ile aktive edilir.Trombospondin-1 (Tsp-1), plasmin, asidik mikro ortamlar, matriks metalloproteinazlar (MMP2 ve 9) ve β 6 integrin bu proteolitik bölünme sürecine katkı sağlar(110,114,115,116). Kardiyovasküler hasarla ilgili birçok faktör TGF β sentezini ve aktivasyonunu düzenler. Vasküler düz kas hücrelerinde bulunananjiyotensin II (AngII), TGF β mRNA ekspresyonunu uyarır ve biyolojik açıdan aktif forma dönüşümünü teşvik eder(110,117). AngII, transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel bağımlı mekanizmalarla TGF β ekspresyonunu artırır. İn vitro çalışmalar, AngII'nin, PKC'ye ve p38'e MAPK'ya bağımlı yollar aracılığıyla, nükleer proteinlere bağlanarak TGF β 1 promotörünün aktivatör protein-1'in (AP-1) bağlanma yerini aktive ettiği ve transkripsiyonel aktiviteyi stimüle ettiğini göstermiştir (110,118). Vasküler düz kas hücrelerinde MMP-2, aktif TGF β 1'i güçlendirir. Yaşlanma ile beraber aort duvarı içindeki aktif TGF β , TGF β reseptörleri ve TGF β reseptörleri aracılı sinyalizasyon artış gösterir (110,119). Mezengial hücrelerde oksidize olmuş düşük yoğunluklu lipoprotein TGF β 'yı artırır,artan TGF β Smad aracılı plasminojen aktivatör inhibitörü-1'i (PAI-1)aktif eder ve transkripsiyonunun aktivasyonunu başlatır (110,120). Bu ajanlardan bazıları ilave mekanizmalarla TGF β 1 proteininin konsantrasyonunu artırabilir. AngII ve endotelin-1; Tsp-1'i uyarır ve bu da aktif olmayan TGF β 1'in inaktif gizli kompleksten ayrılmasına ve aktive olmasına neden olur (110,115).

ŞEKİL2.2. TGFβ'nın hücre düzeyinde etki mekanizması (110,114-120).



2.2.1.Kardiyovasküler patolojide Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta'nın (Transforming Growth Factor Beta) (TGF β) rolü

TGFβ hipertansiyon, restenoz, ateroskleroz, kalp hipertrofisi ve kalp yetmezliği gibi birçok kardiyovasküler hastalığın patogeneğinde yer alır. TGFβ, kardiyovasküler hücreler üzerinde pleiotropik etkilere sahiptir. Bu büyüme faktörü hücre çoğalması, apoptoz, farklılaşma ve göç ile ilgili sistemleri olumlu veya olumsuz şekilde düzenler. Vasküler düz kas hücrelerinde TGFβ hücre büyümesi üzerinde çift etkiye sahiptir. Düşük konsantrasyonlarda (<0.1 ng / ml) TGF-β büyümeyi desteklerken, yüksek konsantrasyonlarda ise PDGF-A ve PDGF-B reseptör seviyelerini modüle ederek büyümeyi inhibe eder (110,121). Gibbons ve meslektaşları (110,116), normotansif sıçanlarda TGFβ bloke edildiğinde AngII'nin vasküler düz kas hücrelerinde DNA sentezi ve hücre bölünmesini uyardığını gözlemlediler. PDGF-A

baskın olarak eksprese edildiğinde ise AngII'nin hiperplaziyi uyardığını, TGF β 'nın aktif hale geldiğini ve AngII'nin de etkisiyle hücrenin hipertrofiye gittiğini gözlemlediler. Vasküler düz kas hücrelerindeki farklılaşma ve hücre büyümesinin düzenlenmesi için vasküler hasarla ilişkili proliferasyonun önlenmesi kritik önem taşır. Normal şartlar altında, arter duvarındaki vasküler düz kas hücreleri, kontraktıl özelliğe sahiptir. Bununla birlikte vasküler düz kas hücreleri, ateroskleroz ve restenoz gibi vasküler hastalıklarda proliferatif bir fenotipe dönüşebilme özelliğini korur. Arteryel duvarda artmış TGF β , neointima oluşumu ile seyreden kronik renal allograft reddi ile ilişkilendirilmiştir(110,122). TGF β yolağını inhibe etmeyi hedefleyen deneysel modellerde neointima oluşumu ve anjiyoplasti ile ilişkili konstriktif remodeling engellenmiştir(110,123).

TGF β 'nın diğer önemli özellikleri, anti-inflamatuar ve profibrotik özellikleridir. Aterosklerozda normal damar duvar yapısının korunmasında önemli bir rol oynadığı ve inflamasyon ile ECM tutulumu arasındaki dengeyi kontrol ettiği için TGF β "koruyucu sitokin" olarak düşünülmüştür(110,124). TGF β reseptör profillerinde meydana gelen değişikliklerle ilişkili olan ve yerel düzeyde TGF β ile düzenlenen bu koruyucu etkinin kaybı, ateroskleroz gelişimine katkıda bulunur. Graiger ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar bu hipotezi desteklemektedir (110,124). Normal damarda tip II reseptör en fazla bulunan reseptördür. Bu reseptör aracılığıyla TGF β kontraktıl protein ekspresyonunu artırır, ancak ECM üretimi artmaz. Hastalıklı damarda tip I reseptör miktarı yukarı doğru düzenlenir ve daha sonra TGF β , ECM üretimini uyarır ve erken yağ çizgisi lezyonu oluşumunu teşvik edebilir (110,124). Deneysel modellerde TGF β 1 sinyal eksikliği, aterosklerotik lezyonların ve kararsız plakların gelişimini teşvik eder. TGF β endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, makrofajlar ve T hücreleri de dahil olmak üzere aterosklerotik lezyon oluşumunda önemli rol alan bütün hücreler üzerinde bağışıklık düzenleyici etkileri nedeniyle koruyucu anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. Bu özellikleriyle ateroskleroz oluşumuna karşı koruyucudur.

Ayrıca TGF β vasküler düz kas hücrelerini kollajen üretmeye teşvik ederek plak stabilizasyonuna katkıda bulunur. Aynı zamanda kollajen üreten kardiyak fibroblastların güçlü bir uyarıcısı olan TGF β 1'in kardiyak fibrozda aracı olduğu düşünülmektedir(110,126,127). TGF β , dilate ve hipertrofik kardiyomiyopatiler, enfarktüs sonrası miyokard yeniden modellenmesi, kapak hastalıkları ve aritmi de dahil olmak üzere çok sayıda kalp hastalığının patogeneğinde yer alır(110,126,127).

Hipertansiyon; vasküler düz kas hücrelerinin hipertrofisi, kollajen ve fibronektin birikimi ve elastik liflerin yok edilmesi gibi arterlerde yapısal değişikliklere neden olur. Ekstraselüler matriksin aşırı üretimi, mekanik stres ile ilişkili hemodinamik değişiklikler ile birlikte TGF β gibi büyüme faktörlerine bağlanmıştır. Son yıllardaki kanıtlar Emilin1'in (aktif TGF β oluşum inhibitörü) fareler üzerinde yapılmış deneylerde artmış kan basıncına, artmış periferik damar direncine ve daha düşük lümen çapına sebep olduğunu göstermektedir. Bu durum hipertansiyonda TGF β için potansiyel bir rolü işaret etmektedir (110,128).

TGF β ve aortik anevrizma arasında yapılan çeşitli çalışmalarda bir ilişki tespit edilmiştir ancak bu ilişki yine de tartışmalıdır. Endovasküler gen terapisi ile TGF β 1 aşırı ekspresyonunun, inflamasyon ve proteoliz nedeniyle etkilenmiş olan abdominal aortik anevrizmaları stabilize ettiği gösterilmiştir(110,129). TGF β reseptörlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar, otozomal dominant aort anevrizma sendromu olan Loeys-Dietz sendromlu hastalarda, agresif ve yaygın vasküler hastalığa yatkınlık yaratır (110,130). Fibrillin-1 geninde mutasyonların neden olduğu bir bozukluk olan Marfan sendromu, aortik anevrizma ve diseksiyon ile seyreden bir hastalıktır. Marfan sendromunun fare modelinde aortik anevrizma artmış TGF β sinyali ile ilişkilendirildi ve TGF β -nötrleştirici antikorlar veya anjiyotensin II tip 1 reseptör (AT1) bloke edicisi olan losartan gibi TGF β antagonistleri tarafından önlenildiği gösterildi (110,131).

2.2.2.Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta'nın (Transforming Growth Factor Beta) (TGF β) vasküler fibrozdaki rolü

TGF β 'nin en önemli ekstraselüler matriks düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir (110,115). Vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve fibroblastlarda TGF- β 1 düşük konsantrasyonlarda bile fibronektin, kolajenler ve PAI-1 gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezini artırır (110,115,132). TGF β , α -düz kas aktin (α -SMA) ve kollajen tip I ekspresyonunun arttırılması için gerekli fibronektinin ED-A formunun ekspresyonunu indükler (110,115). PAI-1, serpin sınıfı bir proteaz inhibitörüdür. Tromboz, inflamasyon, migrasyon ve ekstraselüler matriksi düzenleyerek doku yenilenmesine katkıda bulunur. TGF β , kollajenaz üretimini azaltır ve metalloproteinazların doku önleyicisinin (TIMP) ekspresyonunu uyararak, ekstraselüler matriks bozulmasının önüne geçer ve aşırı matriks birikimine neden olur (110,115,132).TGF β aracılı vasküler fibrozda rol alan mekanizmalar karışıktır. Smad proteinlerinin aktivasyonu, protein kinazlar, mediyatörler üretilmesi ve yolaklar arasındaki çapraz reaksiyon yer almaktadır. TGF β mekanik stres, AngII, yüksek glukoz ve ileri glikozlanma ürünleri gibi kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili çeşitlidurumlar tarafından tetiklenen vasküler fibrozun aracısı olarak da görev yapar (110,133,134,135). Şu anda fibrotik hastalıklar için etkili bir tedavi yoktur. ECM birikimi ile ilgili moleküler mekanizmaların ortaya konulması, bu patolojik süreci daha iyi anlamak ve tedavi stratejileri geliştirmek için katkıda bulunabilir (110,133,134,135).

2.2.3. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (Transforming Growth Factor Beta) (TGF β) reseptörleri ve sinyal iletim yolakları

İki ana TGF β reseptörü vardır: TGF β reseptör tip I (TRI) ve tip II TGF β reseptörü tip II (TRII). Her ikisi de serin-treonin kinaz aktivitesine sahip transmembran reseptörlerdir. TGF β ilk önce TRII'ye bağlanır; bu reseptörde meydana gelen değişiklik,TRI'in fosforilasyonu ve dimerizasyona sebep olur. Daha sonra aktive olan bu kompleks hücreye

TGF β sinyal iletimini sağlar(110,111,112,113,136).TRI, aktivin kinaz(activin like kinase) (ALK) olarak da bilinir. Memelilerde yedi ALK tanımlanmıştır (110,136). ALK'lar; kanserogenez, hemorajik telenjektazi, bağışıklık ve böbrek hastalıkları ve iskelet bozuklukları gibi çeşitli bozukluklarla ilişkili olup buda bu reseptörlerin ilaç hedefleri olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (110,137).Vasküler sistemdeki ana ALK'lar, iletim sinyal yolağından farklı olarak ALK1 ve ALK5'lerdir. ALK1 Smad1/5'i etkinleştirirken, ALK5 Smad2/3'ü etkinleştirir.Yapılan son çalışmalarda kullanılan ALK'ya bağlı olarak, TGF β 'nın etkisinin tersi etki göstererek anjiyogenez sırasında endotel hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü kontrol etmek için dengeleyici bir rol oynadığı bir modelle ilişkilendirilmiştir. ALK1, Smad1/5 vasıtasıyla endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyarırken, ALK5 Smad2/3 yoluyla bu süreçleri inhibe eder (110,138).Fareler üzerinde yapılan ALK1 ve ALK5 ile ilişkili çalışmalar, vasküler gelişimde farklı roller ortaya koymaktadır. ALK1 yoksun embriyolar, vasküler lümenlerin ciddi derecede genişlemesi ile seyrederken, ALK5 yoksun embriyolar vasküler düz kas hücresi katmanlarının oluşumunda bir defekt sergilemektedir (110,139).ALK1 arteryel endotelde üretilir. ALK5, kan damarlarının medya ve adventisiya tabakalarında lokalize olur, ancak intimal tabaka içinde saptanmaz. Endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleridahil olmak üzere vasküler hücrelerde daha yaygın bulunan reseptör ALK5 olup, ALK5/ Smad2/3 sinyal yolağıen çok kullanılan sinyal yolağıdır (110,139).

Diğer bir yardımcı TGF β reseptörü türü, endoglin ve betaglikan içeren tip III reseptördür. Heterojenitesi nedeniyle çok tartışmalı bir gruptur. Diğer TGF β reseptörleri tarafından düzenlenebilmesine rağmen sinyal transdüksiyon kapasitesine sahip değildirler. Vasküler cevaplarda endoglinin fonksiyonu açık değildir, ancak aktif TGF β 'yı yakaladığı bilinmektedir; bu nedenle TRII'ye sinyal iletiminde yardımcı olur (110,140,141). Betaglikan, TGF β yanıtlarının bir engelleyici veya arttırıcı maddesi olarak görev yapabilir (110,142).

TGF β sinyalleri hücre çekirdeğine transkripsiyonfaktörleri olarak etki eden, translasyon yapan Smadlar olarak adlandırılan sitoplazmik proteinler vasıtasıyla iletir (110,111,112). Memelilerde Smad ailesinden sekiz farklı üye tespit edilmiştir. Fonksiyonlarına göre, Smadlar reseptör ile aktifleştirilmiş (R-) Smadlar (Smad1, -2, -3, -5 ve -8), ortak (Co-) Smadlar (Smad4) veya inhibitör (I-) Smadlar (Smad6 ve -7) olarak gruplanır. Smad2 ve Smad3, TGF β / aktivin yollarının spesifik mediatörleri iken, Smad1, Smad5 ve Smad8, BMP sinyallemede yer alır (110,111,112). Smad4, R-Smadlar ile hetero-oligomerleri oluşturur ve TGF β ve BMP sinyallemede paylaşılmış araçtır. Smad4, sitoplazma ve çekirdek arasında sürekli olarak iletimi sağlamaktadır (110,111,112).

Smad proteinleri vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edilir ve TGF β sinyalizasyonuna aracılık eder (110,144). Vasküler düz kas hücrelerinde TGF β 1, Smad4 ile heterotrimeri oluşturan Smad2 ve Smad3'ün fosforilasyonunu artırır. Bu kompleks çekirdeğe translokasyon yapar, Smad ile ilişkili DNA sekanslarına bağlanır ve fibronektin, tip I kollajen ve bağ dokusu büyüme faktörü gibi vasküler fibrozda rol alan genlerin transkripsiyonunu artırır (110,144,145,146). Bu hücrelerde, Smad7'nin aşırı ekspresyonu, TGF β 1 ile uyarılan ekstraselüler matriks üretimini ve bağ dokusu büyüme faktörü ekspresyonunu inhibe eder (110,145,146).

TGF β / Smad sinyallemede düzen bozukluğu, insan hastalıklarının patogeneğinde rol oynar. I-Smadlerin sentezlenmesi transkripsiyonel seviyede ve translasyon sonrası protein yıkımı ile düzenlenir. Bunların hücre içi seviyeleri, homeostatik dengeleri korumak için sıkıca kontrol edilir. Bununla birlikte, patolojik koşullardaki I-Smad'lerin anormal seviyeleri hücrelerde değişen TGF β sinyalizasyonunu ortaya çıkarır ve sonunda TGF β ile ilişkili insan hastalıklarına neden olur (110,111,112,113).

Bağ dokusu büyüme faktörü(Connective tissue growth factor) (CTGF) son zamanlarda apoptoz ve fibroz dahil olmak üzere bazı TGF β yanıtlarına aracılık eden yeni bir profibrotik faktör olarak tanımlanmıştır (110,147). In vivo, CTGF sentezi veya aktivitesinin bloke edilmesi, TGF β ile indüklenen kollajen sentezini azaltır. Çalışmalar, CTGF ve TGF β 'nın kronik fibrozu teşvik etmek için sinerjik olduğunu göstermektedir. Farelerde, CTGF ve TGF β 'nın subkütan ko-enjeksiyonu, devamlı ve kalıcı fibrozise neden olur. CTGF; ciltte, böbrekte, akciğerde ve kardiyovasküler sistemde gözlenen çeşitli fibrotik bozukluklarda upregüle edilmiştir (110,147).Akut MI sonrası ve hipertansiyon hastalarında doku düzeyinde CTGF ekspresyonun artışı gözlenmiştir. Bu da ekstraselüler matriks birikimine sebep olmuştur (110,148,149,150,151). Hücrenin türüne bağlı olarak, CTGF proliferasyon / apoptozun düzenlenmesi, kemotaksisin indüklenmesi, hücresel adezyon, ekstraselüler matriks üretimi ve angiogenезisi de dahil olmak üzere çeşitli biyoaktiviteye sahiptir (110,147).CTGF'nin doğrudan TGF β 'ya bağlandığı açıklanmıştır. Bu bağlanma, TGF β aktivitesinin güçlenmesine yol açar. Mekanizma, TGF β 'nın farklı reseptörlerine olan afinitesini arttıran CTGF'nin bir şaperon fonksiyonuna dayanır, bu nedenle yanıtları daha yoğun ve daha uzun olur (110,153,154). CTGF'nin TGF β yanıtlarını arttırmasının tek yolu bu değildir. TGF β ile CTGF'nin endojen üretimi, TIEG1 transkripsiyon faktörünün indüksiyonu yoluyla Smad7 transkripsiyonel bastırmaya yol açar. Bu mekanizmalarla CTGF, Smad7 tarafından sağlanan negatif geri besleme döngüsünü bloke ederek TGF β sinyalizasyonunun aktivasyonunu sürdürür (110,155)

Ekstraselüler matriks birikiminde TGF β 'nın yanı sıra; AngII, yüksek glukoz konsantrasyonları ve mekanik stres ile ilişkili hemodinamik değişiklikler gibi farklı faktörler rol oynar (110,133,156). AngII ve TGF β arasında karşılıklı ilişki söz konusudur. Farklı patolojik durumlarda ve farklı hücre tiplerinde AngII, TGF β ekspresyonunu ve aktivasyonunu düzenler (110,133,156). Anjiyotensin antagonizması, TGF β salınımını ve fibrozu zayıflatır.

AngII'nin TGF β salınımını stimüle ettiği ve bu etkinin TGF β nötrleştirici antikor veya devre dışı bırakılmış TGF β tip II reseptörü tarafından inhibe edildiği gösterildi(110,133,156).AngII ve TGF β protein kinazların aktivasyonu, büyüme faktörlerinin üretimi ve Smad yolunun aktivasyonu da dahil olmak üzere fibrozda rol oynayan bazı hücre içi mekanizmaları paylaşır (110,133,156).

2.3. Sistatin C

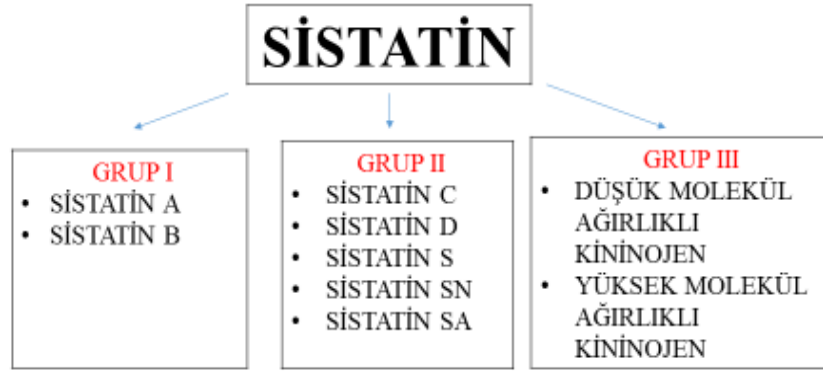
Sistatin C, gamma-Trace veya post gamma globulin olarak adlandırılan nonglikolize, düşük molekül ağırlıklı sitoplazmik bir protein olup, sistein proteinaz inhibitörlerinden sistatin süperaillesinin bir üyesidir(157,158,159).

Sistatin C, iki disülfid köprüsü içeren, 120 aminoasit içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşmuş, düşük molekül ağırlıklı (13-kDA), nonglikolize temel bir proteindir (157,158,159,160,173,174). İzoelektrik noktası 9.3 ve molekül çapı 1.51 nm'dir (157,173,174). Sistatin C geni 20. kromozomda (20 p11,2) bulunur, uzunluğu 7,3 kb olup üç ekson içerir (157,173,174). Sistatin C geni tüm çekirdekli hücrelerde bulunur.İnflamatuvar olaylarda ve malignansilerde Sistatin C üretim hızı değişmez. Sistatin C geninin housekeeping tipte bir gen olduğu ve bu yüzden hücrelerin birçoğu tarafından sabit bir üretim hızıyla üretildiği gözlenmiştir (157,159,160,163,164,165).

İlk olarak Clausen 1961 yılında yayınlanan raporunda, insan serobrospinal sıvısında, serebrospinal sıvı-spesifik bir proteinin varlığından bahsetmiştir. Aynı yıl Butler ve Flynn de proteinürili hastaların idrarında post-gamma globulin adını verdikleri bir protein tarif etmişlerdir. Hochwalc ve Thorbecke tarafından 1962 yılında kanda, plazmada, plevral sıvıda, asidik sıvıda, idrarda ve merkezi sinir sisteminde bu proteinin varlığı araştırılmış ve gamma elektroforetik mobilitesine bağlı olarak isimlendirilmiştir. Son 20 yılda ise postgamma globulin ve gamma trace isimlendirilmeleri yerine Sistatin C kullanılmıştır. Sistatin C'nin molekül ağırlığının düşük olması ve sabit üretim hızı bu proteinin serum konsantrasyonunun

GFR ile orantılı olduğunu düşündürmüştür (157,159,160,173,163,165). Sistatin C bir sistein proteinaz enzim inhibitörü olup bütün üyeleri sistein proteinaz inhibitör etkisi gösterirler ve sistatin süper ailesini oluştururlar. Sistatin süper ailesi üç alt gruba ayrılır. (157,158,159,160,162,164,165)

TABLO 2.5. Sistatinlerin sınıflandırılması(157,158,159,160,162,164,165)



Sistatinlerin tümü nonglikolize, molekül ağırlığı 13.000 Dalton olan proteinlerdir. Birinci alt grupta yer alan sistatinler hücre içi, ikinci alt grupta yer alanlar ekstrasellüler ve üçüncü alt grupta yer alanlar ise intravasküler yerleşimlidirler (157,174,167,168). Sistatinler immunolojik yöntemlerle ayrıştırılarak intrasellüler dağılımları ile ilgili bilgiler elde edilmiştir. Bu bilgilere göre; Sistatin A epidermal hücrelerde ve polimormorfonükleer lökositlerde, Sistatin B skuamöz epitel hücreleri ve lenfositlerde, Sistatin S tükürük ve gözyaşı gibi sekresyonlarda, kininojenler plazma, sinovyal sıvı ve amniyotik sıvıda bulunmaktadır. Sistatin C ise yoğun olarak adrenal medulla, pankreas adacıkları, tiroit bezi ve adenohipofizde ayrıca beyin kortikal nöronlarında saptanmıştır (157,168,169,170). Sistatin C, II. Grubun

üyesidir ve preprotein olarak sentezlenir. Sistatin S, Sistatin SN ve Sistatin SA gelişimsel olarak birbirlerine çok yakındırlar. Bunlar immunohistokimyasal olarak çapraz reaksiyonlar gösterirler ve 121 aminoasitlik rezidüleri, Sistatin C ile yaklaşık % 50 benzerlik gösterir

2.3.1.Sistatinlerin fizyolojik fonksiyonları

Sistatinler, endojen ve eksojen sistein proteinaz aktivitesini düzenlemektedir. Önemli ortak özelliklere sahip olan bu proteinler sistein proteinazlarından papain, ficin, katepsin B, H ve L'yi ayrıca dipeptidil peptidaz l'i de inhibe etmektedir (157,162). Sistatinlerin sistein proteinazların zarar verici proteolitik etkilerini kontrol ettiği ve 21 lokal olarak sınırlamada rol oynadığı düşünülmektedir (157,158,162). Sistatin C, monositler ve makrofajlardan sekrete olur ve komplemanın 4. komponentiyle arasında özel bir ilişki vardır. Sistatin C'nin lökosit kemotaksisini ve fagositozunu da modüle ettiği ve bu nedenlerle de inflamatuvar proseste düzenleyici rol oynadığı öne sürülmektedir (157,162). Katepsin B, H, K ve L'nin glomerüller üzerindeki varlığı ve endojen glomerüler sistein proteazların intakt bazal membran parçalama yeteneği esas alındığında, Sistatin C'nin mezengial hücre proliferasyonu ile seyreden glomerüler hastalıklarda önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (157,158). Sistatin C'nin koruyucu fonksiyonları da vardır, bağ dokusunu ölü ve malign hücrelerden salgılanan intrasellüler enzimlerin yıkımından korur. Grub II'nin diğer üyeleri olan Sistatin D, S, SN ve SA'nın insan vücut sıvılarında dağılımları kısıtlıdır ve Sistatin C ile birlikte mikrobiyal enfeksiyonlara karşı koruyucu rolleri vardır. Bunun nedeni birçok parazitik protozoanın(dizanteri etkeni Entamoeba Histolitika ve Chagas hastalığına neden olan Trypanozoma cruzi) sistein proteinaz üretmesidir. Mikroorganizmalarda bulunan sistein proteinazın mikroorganizmanın çoğalmasında ve dokulara penetrasyonunda aktif olarak rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca sistatinlerin antiviral özellikleri polio, herpes simplex ve corona virüsle enfekte hücre kültürlerinde saptanmıştır (157,158,161). İnsan sistein proteinazları (Katepsin H, L, B, G, N, S elastaz, papain, ficin, bromalein, kalpain, dipeptidil

peptidaz), protein ve peptidlerin intrasellüler katabolizmasında önemli rol oynamaktadır (157,158). Sistatin C'nin hücrelerin lokal hücre dışı ortamlarını koruyan ek bir rol oynadığı ve sekresyon işleminde intrasellüler sistein proteinaz aktivitesini düzenlediği düşünülmektedir (157,171,172).

2.3.2.Sistatin C ve kardiyovasküler hastalıklar

Ateroskleroz ve abdominal aort anevrizmasının (AAA) patogenezi, arteriyel duvarın ekstraselüler matriks içeriğinin proteolizi ile karakterizedir. Ekstraselüler matriksin bozulması ve damar duvarının yeniden modellenmesinde matriks metalloproteinazlar ile serin ve lizozomal sistein proteazlarının görev aldığı bilinir. İnsanlardaki aterosklerotik lezyonlarda, elastin ve kollajen yıkıcı sistein proteazlarının (katepsin S, K, B, H ve L) aşırı ekspresyonu ve sistatin C'nin azalmış üretimi gösterilmiştir (175,176,177,196). Sağlıklı aortaya kıyasla, AAA duvarında çeşitli katepsinlerin belirgin şekilde artmış ekspresyonu mevcuttur. Ayrıca anevrizmatik abdominal aorta segmentinde bulunan bütün hücrelerde, luminal endotel hücreleri hariç, sistatin C'nin azalmış ekspresyonu immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir (179,196).

Bu bağlamda, Shi ve ark.hem aterosklerotik hem de anevrizmal aortik lezyonlarda azalmış sistatin C düzeylerini buldular (180,196). Ultrasonografi ile taranan 122 hastada artmış abdominal aort çapı, serum sistatin C düzeyleri ile ters orantılı bulundu. Benzer şekilde, Lindholt ve ark. serumsistatin düzeyinin AAA boyutu ve progresyonu ile negatif korelasyona sahip olduğunu gösterdi (181,196). Sistatin C ve genişleme arasındaki korelasyonun, proteazların hücre dışı inhibisyonunun bir sonucu olabileceğini düşündürdü. Bu çalışmadan yola çıkılarak yapılan başka bir çalışmada, obstrüktif KAH ile birlikteKAE'si bulunan hastalar, tek başına obstrüktif KAH'lı hastalarla karşılaştırıldığında; obstrüktif KAH ile birlikteKAE'sibulunan hastalarda azaltılmış plazma sistatin C düzeylerigösterilmiştir.

Ayrıca, AAA'lı hastaların obstrüktif abdominal aortik hastalığı olanlara kıyasla daha düşük sistatin C düzeyleri olduğu gösterilmiştir (176,196).

Son on yılda, birçok grup sistatin C'nin plak oluşumu üzerindeki etkisini değerlendirdi. Sukhova ve ark. sistatin C ve apolipoprotein E eksikliği bulunan aterosklerotik farelerin (ApoE - / - / CysC - / -) artmış tunika mediya elastik lamina yıkımı, düz kas hücresi birikimi ve kollajen içeriği artışı sergilediğini, ancak aort boyutunda bir genişleme olmadığını gösterdi (182,196). Benzer şekilde, Bengtsson ve ark. yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde (ApoE - / - / CysC - / -) plak boyutunun ve makrofaj içeriğinin arttığını bildirmiştir (183,196).

Kanıtlar, reaktif oksijen ürünlerinin aterojenez ve kalp yetmezliğinde çok önemli rolü olan vasküler oksidatif stres, inflamasyon ve endotel disfonksiyonuna katkıda bulunduğunu ileri sürmektedir(184,196). Xie ve arkadaşları ilginç bir şekilde, H₂O₂ tedavisinin kardiyomiyositlerde sistatin C seviyesinin yükselmesine neden olduğunu gösterdi. Farelerde kardiyomiyopati doksorubisinin kronik kullanımı ile indüklendiğinde, plazma ve miyokardda yüksek sistatin C proteini tespit edildi. Buna dayanarak, sistatin C'nin kardiyak ekstrasellüler matriks remodelinginde rol oynadığı ileri sürülmüştür (185,196).

Yapılan bir deneysel çalışma, sistatin C eksikliğine bağlı olarak artmış sistein proteaz aktivitesinin; aterosklerotik farelerde abdominal aort anevrizmasına giden inflamatuvar akut alevlenmeyi tetiklediği gözlemlendi. Bu süreçte mikrovaskülerizasyonun, düz kas hücresi apoptozunun, lökosit yapışmasının ve çoğalmasının tetiklendiği gösterildi(186,196). Ayrıca düşük sistatin C düzeyleri, bakteriyel ve viral enfeksiyona karşı direnci azalttığı için, agresif plak büyümesinden sorumlu kronik düşük dereceli inflamatuvar uyaranları arttırmaktadır (187,196).

Bazı araştırmacılar, in vivo patolojik vasküler yeniden modellemede sistatin C'nin önemini aydınlatmak için sistatin C geni fonksiyonel polimorfizmlerinin etkisini de inceledi.

Bu ortamda Eriksson ve ark., artmış KAHşiddeti ile sistatin C ekspresyonunda genetik olarak belirlenen bir azalma arasındailişki olduğunu gösterdi (188,196). Mutant sistatin C haplotipi, daha fazla koroner arter stenozu ile ilişkiliydi ve sistatin C seviyeleri post infarkt hastalarında kontrollerden daha düşüktü (188,196). Bu çalışmada, sistatin C gen ekspresyonunda genetik varyasyona rağmen, incelenen tüm kişilerde serum sistatin C değerleri normal referans aralığında bulunmuştur (175,196).

Yapılan çalışmalarda primer hipertansif hastalarda, yüksek serum sistatin C düzeyleri ile kardiyovasküler risk faktörleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (189,196). Benzer şekilde, çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, yüksek serum sistatin C düzeyleri ve $GFR \geq 60 \text{ ml / dak/1.73 m}^2$ olan bireylerde artmış kardiyovasküler hastalık prevalansı arasında kuvvetli ilişki göstermiştir (190,196).

Urbonaviciene ve ark. tarafından yürütülen yakın tarihli bir araştırmada, normal serum renal fonksiyonu olan semptomatik periferik arter hastalarında, serum sistatin C seviyelerinin daha yüksek olmasının, 5 yıllık tüm nedenlikardiyovasküler mortaliteyi bağımsız olarak öngördüğünü göstermiştir (191,196). Yapılan kapsamlı çalışmalar, sadece yüksek plazma sistatin C düzeylerinin ($> 1.24 \text{ mg/l}$) takip sırasında ölümcül ve ölümcül olmayan kardiyovasküler olay riski ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (191,192,196). Ayrıca yapılan meta-analizde yüksek sistatin C seviyeleri inme, MI ve kalp yetmezliği gibi belirli son noktalar ile kuvvetli ve bağımsız olarak ilişkilendirilmiştir (193,196).

Yapılan bir çalışmada plazma sistatin C'nin kararsız angina grubunda kararlı angina grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirildi. Plazma sistatin C kararsız angina grubunda plak alanı ve plak yükü ile pozitif yönde ilişkiliydi; ancak kararlı angina grubunda pozitif olarak korelasyon yoktu. Bu çalışmada daha yüksek plazma sistatin C düzeyleri, kararsız angina hastalarında plaklarda daha büyük aterosklerotik yükün varlığını gösterdi(194,196). Batra ve ark.koroner anjiyografiye tabi tutulmuş hasta üzerinde prospektif

bir çalışma yapmışlardır. Yazarlar daha yüksek plazma sistatin C düzeylerinin daha yüksek karotis intimal medial kalınlık, diffüzKAHve daha sık üçlü damar hastalığı ile ilişkili olduğunu buldular (195,196). Yüksek sistatin C seviyelerinin KAHile ilişkilendirilmesi normal veya hafif derecede böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda bile gözlendi (195,196).



3.MATERYAL-METOD

Tez projemizde klinik kriterlere göre KAE olguları ve kontrol grubu olarak normal koroner arter tanılı olgulardan çalışma grupları oluşturulmuştur. Çalışma gruplarında TGFβ1 geni rs1800469 (-509G>A) ve rs1800470 (+869A>G) nükleotid değişimleri, serum TGFβ1 ve Sistatin C düzeyleri araştırılmıştır. Proje kapsamında bu örnekler için DNA'lar hazırlanarak saflık tayinleri ve DNA düzeyleri hesaplandı. DNA örneklerinde TGFβ1 genindeki varyasyonlar real-time PZR yöntemi kullanılarak, serum TGFβ1 ve Sistatin C düzeyleri Eliza metodu ile tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında genotip ve allel dağılımları istatistiksel analizle incelenerek hem hastalık gelişimi riskine hemde serum TGFβ1 ve Sistatin C düzeylerine etkileri araştırıldı.

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grup İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü tarafından takip edilen ve anjiyografik yöntemlerle KAE tanısı konmuş 56 hastadan oluşturulmuştur. İkinci grup ise, yine aynı Enstitüde yüksek tansiyon ve kalp rahatsızlığı hikayesi olmayan ve normal koroner arter tanılı 44 kontrol örneği dahil edilmiştir. Klinik parametrelere uyan olgular İ.Ü. Kardiyoloji Enstitüsü tarafından bu şekilde seçilmiş ve kan örnekleri bu birim tarafından sınıflandırılarak İ.Ü. Aziz Sancar DETAE, Moleküler Tıp Anabilim Dalı'na gönderilmiştir.

Kontrol ve hasta seçiminde izlenen kriterler aşağıda özetlenmiştir.

Kardiyoloji polikliniğine göğüs ağrısı ile başvuran, tanı için uygulanan efor stres testi pozitif olan, uygulanan miyokart perfüzyon sintigrafisinde iskemi gözlenen veya klinik olarak stabil angina pectoris düşünülen hastalara yapılan koroner anjiyografide koronerlerinde bir veya daha fazla damarında KAE tespit edilen 56 hasta dahil edilmiştir. Kontrol için benzer

demografik özelliklere ve kardiyak risk profiline sahip, normal koroner arteri olan 44 hasta alınmıştır.

Çalışmadan dışlama kriterleri:

1. Bilinen ciddi psikiyatrik hastalığı olanlar
2. KAE ile birlikte %50 ve üzerinde tıkalı koroner lezyonu olan hastalar
3. Antihipertansif tedaviye rağmen kan basıncı > 180/110 mmHg olan hastalar
4. Karaciğer hastalığı olan hastalar
5. Kreatinin düzeyleri 1,5 mg/dl'nin üzerinde olan hastalar
6. İnme geçirmiş olanlar
7. Ciddi pulmoner hipertansiyonu olanlar
8. Periferik arter hastalığı olanlar
9. Hipertiroidisi olanlar

3.1. KULLANILAN MATERYAL

3.1.1. KULLANILAN KİMYASALLAR

- Etil alkol (Merc)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Sigma)
- Etidyum Bromid (Sigma)
- Tris Baz (BioChemika)
- 6X DNA yükleme boyası (Fermentas)
- DNase/RNase-Free Distilled Water

3.1.2. KULLANILAN KİTLER

- PureLink Genomic DNA Mini Kit(Invitrogen)
- TaqMan® SNP Genotyping Assay, SC 8708473-10, rs1800469
- TaqMan® SNP Genotyping Assay, SC 22272997-10, rs1800470
- PCR Master Mix (Jena Bioscience, PCR303)
- TGFbeta1 Eliza kit (In vitrogen)
- Sistatin C Eliza kit (Thermo Scientific)

3.1.3. KULLANILAN CİHAZLAR

- BioRad, CFX connect Etüv (Heraeus)
- Isı bloğu (Fisher scientific)
- Jel görüntüleme sistemi (BioRad)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Elektromag)
- Santrifüj (Palex NF048)
- Pipet takımı (Eppendorf)
- Nanodrop ND-2000 spectrophotometer (Thermo Scientific)
- Bilgisayar (Bross)
- Buzdolapları (-20 °C ve +4 °C) (Bosch)
- Multiscan Thermo Elisa reader

3.2. KULLANILAN METODLAR

3.2.1. DNA İzolasyonu

Steril EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden kit prosedürü uygulanarak genomik DNA izole edildi (Invitrogen, K182002).

Kit içeriği: RNase, Proteinaz K, Elüsyon buffer, PureLink Genomik Lizis/bağlama solüsyonu, Yıkama solüsyonu 1 ve Yıkama solüsyonu 2, Purelink toplama tüpü.

İzolasyon öncesi yönergelerle uygun şekilde kit içindeki yıkama solüsyonlarına (Yıkama solüsyonu 1 ve Yıkama solüsyonu 2) %96-100 etanol eklendi.

İzolasyon işlem aşamaları:

1. **Lizat hazırlanması:** Isı bloğu 55'ye ayarlandı. Mikrosantrifüj tüp içine 200 µl kan örneği alındı. Üzerine kit önce 20 µl Proteinaz K daha sonra 20 µl RNaz A eklendi. Vorteksledikten sonra 2 dakika oda sıcaklığında inkübasyona tabi tutuldu.

İnkübasyon sonrası 200 µl PureLink Genomik Lizis/bağlama solüsyonu eklendi. Homojen bir solüsyon elde etmek amacıyla vorteksleme işlemiyle karıştırıldı. Protein sindirimini hızlandırmak için 10 dakika 55°C’de inkübasyona tabi tutuldu. Oluşan lizat üzerine 200 µl %96’lık etanol eklendi. Vortekslenerek homojenizasyonu sağlandı.

2. **DNA’ya Bağlanma:** Kit içinde yer alan spin kolona Genomik Lizis/bağlama solüsyonu ve etanolden oluşan lizat (640 µl) eklendi. Kolonoda sıcaklığında bir dakika 10000xg’de santrifüj edildi. Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi ve yıkama aşamasına geçildi.
3. **DNA Yıkama:** Etanol ile hazırlanmış olan Yıkama solüsyonu 1’den 500 µl kolona eklendikten sonra 1 dakika oda sıcaklığında 10000xg’de santrifüj edildi. Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi ve üzerine Yıkama solüsyonu 2’den 500 µl eklendi ve oda sıcaklığında 10000xg’de 3 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü atılarak elüsyon aşamasına geçildi.
4. **DNA Elüsyonu:** Kolon steril mikrosantrifüj tüpü (1,5 ml) içine konuldu. Kolon üzerine 25-200 µl Genomik DNA Elüsyon çözeltisi eklendi. Oda ısısında 1 dakika inkübasyon sonrası oda sıcaklığında 10000xg’de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpte toplanan saf genomik DNA +4°C’de muhafaza edildi.
5. **DNA Konsantrasyon ve Kalite Tayini:** DNA konsantrasyonunun ve saflığının tespit edilmesi için NanoDrop spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boyunda ışığı soğurma (OD) ölçümü yapıldı. 260nm'deki OD/280 nm'deki OD oranı hesaplanarak DNA'nın saflık derecesi bulundu.

3.2.2. TGFB1 (Transforming Growth Factor-Beta-1) geninde çalışılan SNP’lerin özellikleri

3.2.2.1. TGFB1 rs1800469 Genin adı: TGFB1

SNP: rs1800469 (Homo sapiens)

Değişim: G>A (promotor bölge varyantı)

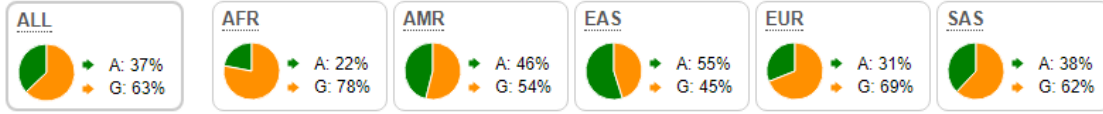
Atasal Allel: G

Minör Allel Frekansı (MAF): 0.37 (A)

Lokasyon: 19:41354391 (forward dizi)

Problar: VIC:A, FAM: G

Şekil 3.1. Allellerin Populasyonlardaki dağılımı:

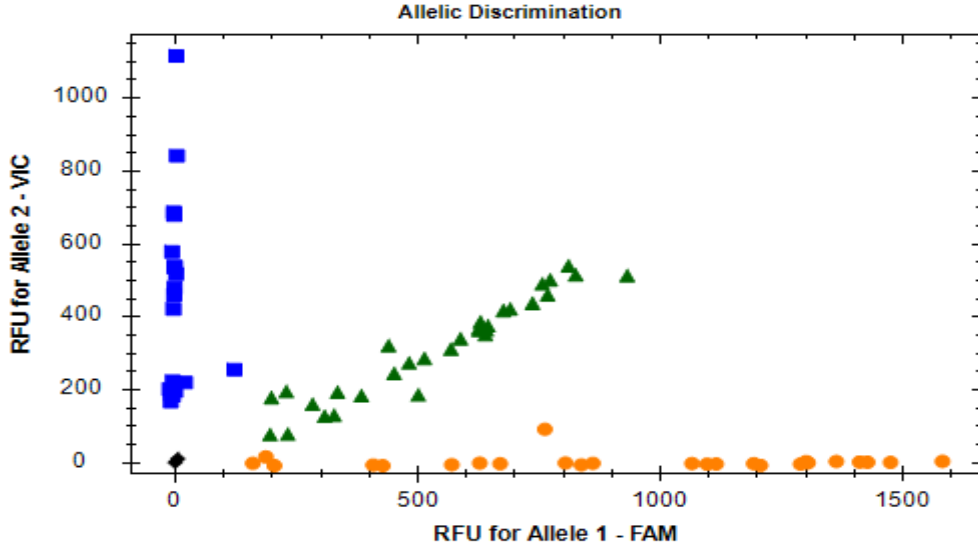


Real-Time PCR (Gerçek zamanlı PCR) Rs1800469 SNP Genotipleme Protokolü

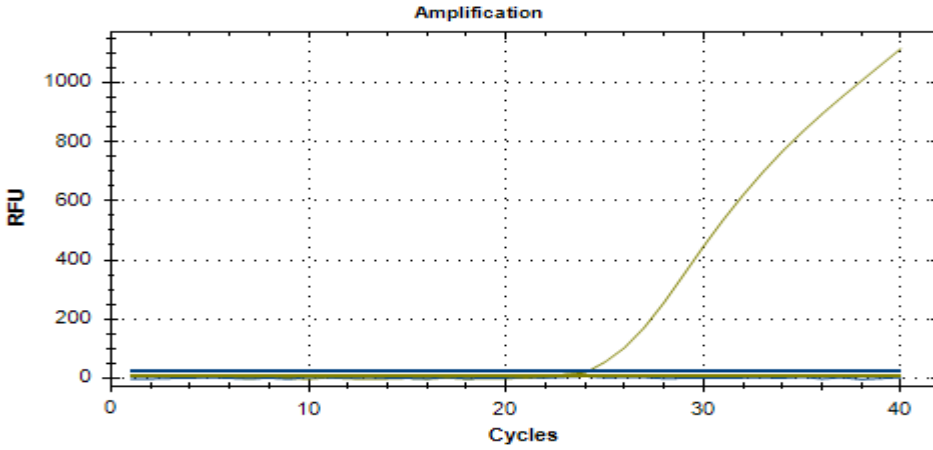
Kuyucuk başına 10ul Real-time PCR Master Mix (Jena Bioscience, PCR303), 0,5 ul floresan işaretli TaqMan probları (FAM, VIC) içeren 40X assay (Invitrogen), 7,5ul steril distile su ve 2ul DNA olacak şekilde kuyucuktaki toplam hacim 20ul olarak çalışıldı.

Reaksiyon Real-time PCR cihazı (BioRad, CFX connect) için uygun olan 96 kuyucuklu plak kullanılarak ve plak üzerine uygun yapışkan kapatıcı film (seal) kapatılarak yapıldı. Hazırlanan karışımın kontamine olup olmadığını belirlemek için her plakta 2 kuyucuk negatif kontrol (örnek DNA içermeyen kuyucuk) olarak ayrıldı. Cihazın SNP Genotipleme protokolü uygulandı; 50 °C'de 2 dakika (ön inkübasyon), 95 °C'de 2 dakika (aktivasyon), 95 °C'de 15 saniye (denatürasyon)+60 °C'de 1 dakika (bağlanma/uzama/okuma) (40 döngü). Her kuyucuktaki amplifikasyonların FAM ve VIC ışımalarına göre genotipler, cihaz tarafından otomatik olarak belirlendi.

Rs1800469 genotiplerinin analizi için; Gerçek zamanlı PZR yöntemi ile oluşturulan amplifikasyon ürünlerinin yaptığı floresan ışımının optik okuması, Real-time PCR cihazında (BioRad, CFX connect) gerçekleştirilmiş ve bilgisayar ekranında erime eğrileri incelenerek hedef DNA'nın çoğaltıldığı saptanmıştır. Erime tepeleri incelenerek Rs1800469 amplifikasyon ürünlerinin genotipik ayrımı (homozigot GG/ heterozigot GA/ homozigot AA) yapılmıştır (Şekil3, Şekil 4).



Şekil 3.2. rs1800469 Allel grafiği



Şekil 3.3. Rs1800469 GG Homozigot bir örneğin amplifikasyon eğrisi

3.2.2.2. TGFB1 Rs1800470

Genin adı: TGFB1

SNP: rs1800470 (Homo sapiens)

Değişim: G>A

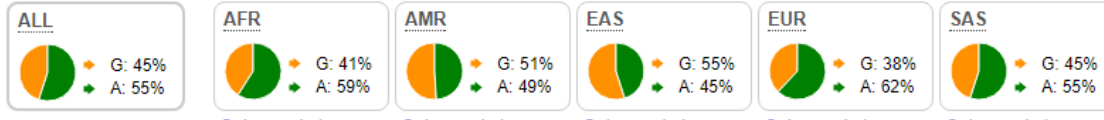
Atasal Allel: G

Minör Allel Frekansı (MAF): MAF: 0.45

Lokasyon: 19:41353016 (forward dizi)

Problar: VIC:A, FAM: G

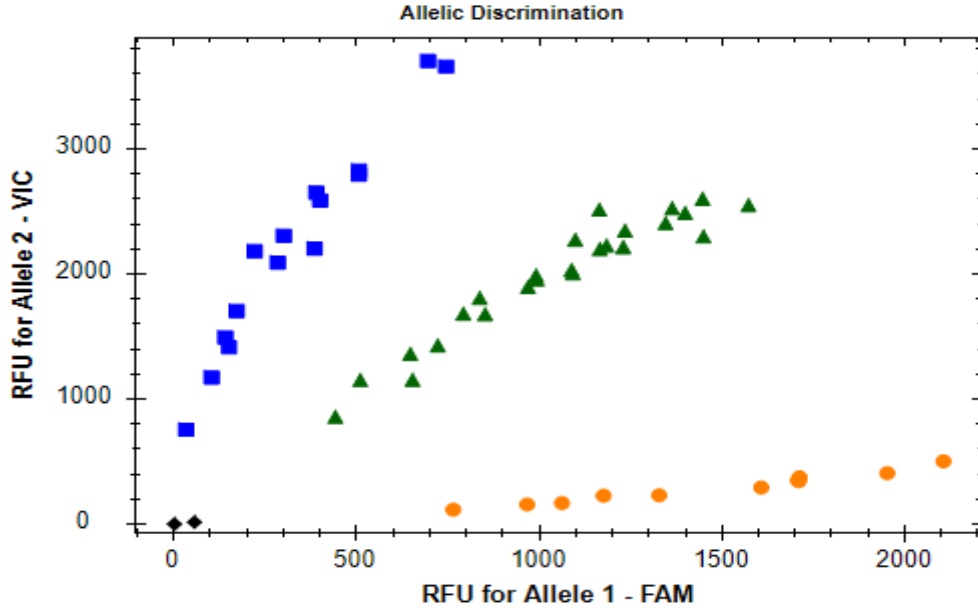
Şekil 3.4. Allellerin Populasyonlardaki dağılımı:



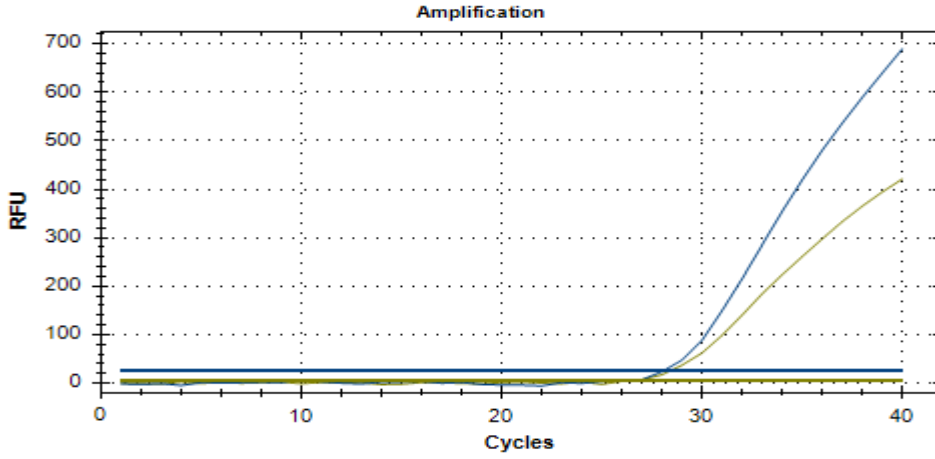
Real-Time PCR (Gerçek zamanlı PCR) Rs1800470 SNP Genotipleme Protokolü

Kuyucuk başına 10ul Real-time PCR Master Mix (Jena Bioscience, PCR303), 0,5 ul floresan işaretli TaqMan problemleri (FAM, VIC) içeren 40X assay (Invitrogen), 7,5ul steril distile su ve 2ul DNA olacak şekilde kuyucuktaki toplam hacim 20ul olarak çalışıldı.

Reaksiyon Real-time PCR cihazı (BioRad, CFX connect) için uygun olan 96 kuyucuklu plak kullanılarak ve plak üzerine uygun yapışkan kapatıcı film (seal) kapatılarak yapıldı. Hazırlanan karışımın kontamine olup olmadığını belirlemek için her plakta 2 kuyucuk negatif kontrol (örnek DNA içermeyen kuyucuk) olarak ayrıldı. Cihazın SNP Genotipleme protokolü uygulandı; 50 °C'de 2 dakika (ön inkübasyon), 95 °C'de 2 dakika (aktivasyon), 95 °C'de 15 saniye (denatürasyon)+60 °C'de 1 dakika (bağlanma/uzama/okuma) (40 döngü). Her kuyucuktaki amplifikasyonların FAM ve VIC ışımalarına göre genotipler, cihaz tarafından otomatik olarak belirlendi. Rs1800470 genotiplerinin analizi için; Gerçek zamanlı PZR yöntemi ile oluşturulan amplifikasyon ürünlerinin yaptığı floresan ışımının optik okuması, Real-time PCR cihazında (BioRad, CFX connect) gerçekleştirilmiş ve bilgisayar ekranında erime eğrileri incelenerek hedef DNA'nın çoğaltıldığı saptanmıştır. Erime tepeleri incelenerek Rs1800470 amplifikasyon ürünlerinin genotipik ayrımı (homozigot AA/ heterozigot AG/ homozigot GG) yapılmıştır (Şekil 3.5, Şekil 3.6).



Şekil 3.5. rs1800470 Allel grafiği



Şekil 3.6. Rs1800470 AG Heterozigot bir örneğin amplifikasyon eğrisi

3.2.3.Eliza Metodları

3.2.3.1. Human TGFβ1 Eliza Platinum Protokolü (Invitrogen, BMS249/4)

A.Reagent'lar

1. Human TGF beta 1'e karşı monoklonal antikorla kaplı Mikrokuyucuklu plate
2. Biotin konjugat Anti-human TGF beta 1 monoklonal antikor (120 ul)
3. Streptavidin-HRP (150 ul)
4. Liyofilize TGF beta 1 standart, 4 ng/ml'ye sulandırma

5. 20x Konsantre assay buffer (%1 Tween20, %10 BSA'lı PBS)
6. 20x Konsantre Wash buffer (%1 Tween20'li PBS)
7. Substrat solüsyonu (tetrametil-benzidin) (15 ml)
8. Stop solüsyonu (1 M fosforik asit) (15 ml)
9. Adhesiv filmler

Gerekli malzemeler

1. 1N NaOH ve 1N HCL
2. 2.5ml ve 10 ml dereceli pipetler
3. 5-1000 ul ayarlanabilir tek kanallı pipetler
4. 50-300 ul ayarlanabilir multikanal mikropipet
5. Multikanal mikropipet rezervuarı
6. Reagentların hazırlanması için deney şişeleri, erlenler ve mezürler
7. Yıkama solüsyonunu uzaklaştırılması için otomatik yıkama sistemi veya multikanal yıkama şişesi
8. Mikroplate çalkalayıcı
9. Microwell strip reader (450 nm'de okuma)
10. camda damıtılmış Distile veya Deiyonize su
11. Regresyon analizi yapmak için istatistiki hesap makinesi

B. Reagentların Hazırlanması

Konsantre bufferlar oda ısısına getirilir ve test öncesi dilüe edilir. Eğer konsantre tamponlarda kristal oluşmuşsa hafifçe ısıtılarak tamamen çözündürülür.

a. Yıkama Tamponu (1x wash buffer)

1. 1000 ml dereceli mezüre 20x konsantre yıkama tamponundan 50 ml aktarılır. Camda distile edilmiş veya deiyonize su ile 1000 ml'ye getirilir.
2. Köpük oluşumundan sakınarak yavaşça karıştırılır.
3. Temiz bir şişeye aktarılır ve 2-25 °C'de muhafaza edilir (1x Yıkama tamponu 30 gün stabil kalır).

1x Yıkama solüsyonu aşağıdaki tablodaki gibi ihtiyaca göre hazırlanabilir.

Strip sayısı	20x Konsantre Yıkama Tamponu (ml)	Distile su (ml)
1-6	25	475
1-12	50	950

b. 1x Assay Tamponu

1.100 ml dereceli mezüre 20x konsantre Assay Tamponundan 5 ml aktarılır. Son hacim Distile su ile 100 ml'ye getirilir. Köpük oluşturmaktan sakınarak yavaşça karıştırılır.

2. 2- 8 °C'de muhafaza edilir (1x Assay tamponu 30 gün stabil kalır).

1x Assay tamponu aşağıdaki tablodaki gibi ihtiyaca göre hazırlanabilir.

Strip sayısı	20x Konsantre Assay Tamponu (ml)	Distile su (ml)
1-6	2,5	47,5
1-12	5	95

c. Biotin-Konjugat

***Biotin-konjugatın dilüsyondan sonra 30 dakika içinde kullanılması gereklidir.**

Konsantre Biotin-Konjugat solüsyonunu, Assay Tamponu (1x) ile 1: 100 oranında seyreltilmiş olarak aşağıdaki tabloya uygun olarak temiz bir plastik tüp içerisinde seyreltin.

Strip sayısı	Biyotin-Konjugat (ml)	1x Assay tamponu (ml)
1-6	0,06	5,94
1-12	0,12	11,88

d. Streptavidin-HRP

***Streptavidin-HRP'nin dilüsyondan sonra 30 dakika içinde kullanılması gereklidir.**

Aşağıdaki tabloya uygun olarak, konsantre Streptavidin-HRP solüsyonunu, Assay Tamponu (1x) ile temiz bir plastik tüp içerisinde 1: 100 oranında seyreltin.

Strip sayısı	Streptavidin-HRP (ml)	1x Assay tamponu (ml)
1-6	0,06	5,94
1-12	0,12	11,88

e. Human TGF beta 1 Standart

Human TGF beta 1 Standartı distile su eklenerek sulandırılır. Standart tüpünün üzerinde sulandırma hacmi belirtilmiştir. Homojen çözünürlüğü sağlamak için karıştırın (Sulandırılmış standart konsantrasyonu = 4 ng / ml).

Standartın 10-30 dakika boyunca yeniden yapılandırılmasına izin verin. Seyreltme yapmadan önce iyice karıştırın.

Kalan standart kullanımdan sonra depolanamaz ve atılmalıdır.

Standart seyreltmeler doğrudan mikrokuyucuklu platelerde veya tüplerde hazırlanabilir.

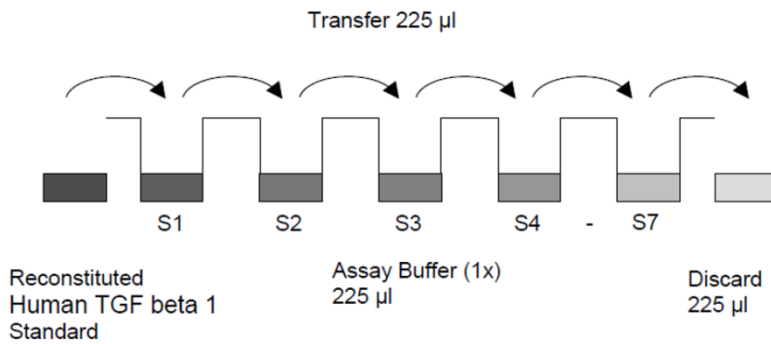
Eksternal standart dilüsyonu

Standart eğri için 7 tüp hazırlanır (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7).

Daha sonra standart eğri için 1: 2 seri seyreltme hazırlayın: Her tüpe 1x 225 µl Assay Tamponu pipetleyin.

Sulandırılmış standarttan (standart konsantrasyon = 4 ng / ml), S1 etiketli ilk tüp içine 225 µl pipetleyin ve karıştırın (standart 1 konsantrasyonu = 2 ng / ml).

Bu seyreltiğin 225 µl'sini S2 etiketli ikinci tüp içine pipetleyin ve bir sonraki aktarmadan önce iyice karıştırın. Seri dilüsyonları 5 kez tekrarlayın ve böylece standart eğrisinin noktalarını oluşturun.



TGFbeta1 ElizaTest Protokolü

1. Test prosedürüne başlamadan önce numunelerinizi hazırlayın. Serum, plazma ve hücre kültür süpernatant numunelerini 1:10 aşağıdaki şemaya göre 1x Assay Tamponu ile seyreltin:

20 µl sample + 180 µl 1x Assay Tamponu

200 µl önceden seyreltilmiş numuneye 20 µl 1N HCl ilave edin, karıştırın ve 1 saat oda sıcaklığında inkübe edin. 20 µl 1N NaOH ekleyerek nötralize edin. Vortekleyin.

2. İstenen numune sayısını artı blank ve standartları çalışmak için gerekli olan kuyu sayısını test etmek için gereken mikrokuyu strip sayısını belirleyin. Her numune, standart, blank ve opsiyonel kontrol numunesi duplike denenmelidir.

Ekstra mikrokuyu şeritlerini tutucudan çıkarın ve 2 ° -8 ° C'de kit ile sağlanan kurutucu ile sıkıca kapatılan folyo torbasında saklayın.

3. Mikrokuyu striplerini yaklaşık 400 µl Yıkama Tamponu ile iki kez yıkayın. Yıkamalar arasında mikrokuyu içeriklerini aspire edin

Aspirasyondan önce yaklaşık 10-15 saniye sürede Yıkama tamponunun oyuklara oturmasına izin verin. Mikrokuyucukların yüzeyini çizmemeye özen gösterin.

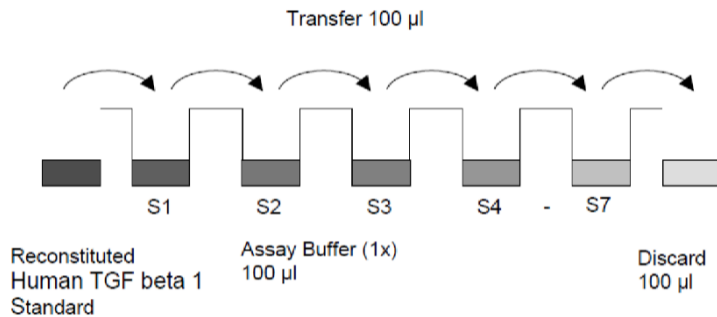
Son yıkama adımından sonra, kuyucukları boşaltın ve fazla yıkama tamponunu çıkarmak için emici ped veya kağıthavlu üzerine mikrokuyu striplerini vurun.

Mikrokuyu striplerini yıkamadan hemen sonra kullanın. Alternatif olarak, mikro kuyu stripleri, ıslak bir emici kağıdaters çevrilerek 15 dakikadan fazla olmayacak şekilde yerleştirilebilir. **Kuyuların kurumasına izin vermeyin.**

4. Mikrokuyucuklu plate üzerinde dilüsyon (Alternatif olarak yukarıdaki gibi tüplerde hazırlanabilir)

Tüm standart kuyucuklara 100 µl 1x Assay Tamponunu duplike olarak ekleyin.

A1 ve A2'ye çift kopya halinde 100 ul hazırlanmış standarttan pipetleyin (konsantrasyon = 4000 pg / ml). Tekrarlanan aspirasyon ve ejeksiyon (standart 1 konsantrasyonu, S1 = 2000 pg / ml) ile kuyuların A1 ve A2 muhtevalarını karıştırın ve 100 ul'lerini sırasıyla B1 ve B2 kuyularına aktarın. Mikrokuyuların iç yüzeyini çizmemeye özen gösterin. Bu işlemi, 2000'den 31 pg / ml'ye kadar değişen iki sıra TGF beta 1 standart dilüsyonu oluşturarak 5 kez tekrarlayın. Kullanılan son mikrokuyulardan (G1, G2) 100 ul içeriği atın.



Tablo 3.1. Mikrokuyu striplerindeki blankların, standartların ve numunelerin düzenlenişi

	1	2	3	4
A	Standard 1 (2000 pg/ml)	Standard 1 (2000 pg/ml)	Sample 1	Sample 1
B	Standard 2 (1000 pg/ml)	Standard 2 (1000 pg/ml)	Sample 2	Sample 2
C	Standard 3 (500 pg/ml)	Standard 3 (500 pg/ml)	Sample 3	Sample 3
D	Standard 4 (250 pg/ml)	Standard 4 (250 pg/ml)	Sample 4	Sample 4
E	Standard 5 (125 pg/ml)	Standard 5 (125 pg/ml)	Sample 5	Sample 5
F	Standard 6 (63 pg/ml)	Standard 6 (63 pg/ml)	Sample 6	Sample 6
G	Standard 7 (31 pg/ml)	Standard 7 (31 pg/ml)	Sample 7	Sample 7
H	Blank	Blank	Sample 8	Sample 8

5. Blank kuyucuklarına 100 µl 1x Assay Tamponu ekleyin.
6. Örnek kuyucuklarına 60 ul 1x Assay Tamponu ekleyin.
7. Önceden muamele edilmiş her bir numuneden 40 ul duplike olarak kuyucuklara ekleyin.
(Numunelerin kesinlikle vorteklenmesi gereklidir!)
8. Yapışkan (adhesiv) bir film ile örtün ve oda sıcaklığında (18 ila 25 ° C) 2 saat süre ile, 400 rpm'de ayarlanmış bir mikropate çalkalayıcıda inkübe edin. (Çalkalama en iyi test performansı için kesinlikle gereklidir.)
9. Biotin Konjugatı hazırlayın.
10. Yapışkan filmi çıkarın ve kuyuları boşaltın. Mikrokuyu stripleri test protokolünün c noktasına göre 5 kez yıkayın. Bir sonraki adıma geçin.
11. Tüm kuyulara 100 ul Biotin-konjugat ekleyin.
12. Adesiv bir filmle oda ısısında (18-25 °C) mikropate çalkalayıcıda 400 rpm'de 1 saat inkübe edin (Çalkalama iyi test sonucu için önemlidir).
13. Streptoavidin-HRP'yi hazırlayın.
14. Yapışkan filmi çıkarın ve kuyuları boşaltın. Mikrokuyu stripleri test protokolünün c noktasına göre 5 kez yıkayın. Bir sonraki adıma geçin.
15. Blankler dahil tüm kuyulara 100 ul dilüe Streptoavidin-HRP ekleyin.
16. Adesiv bir filmle oda ısısında (18-25 °C) mikropate çalkalayıcıda 400 rpm'de 1 saat inkübe edin (Çalkalama iyi test sonucu için önemlidir).
17. Yapışkan filmi çıkarın ve kuyuları boşaltın. Mikrokuyu stripleri test protokolünün c noktasına göre 5 kez yıkayın. Bir sonraki adıma geçin.

18. Tüm kuyulara 100 µl TMB substrat solüsyonu ekleyin.

19. Mikrokuyucuklu stripleri oda ısısında (18-25 °C) 30 dakika inkübe edin. Işığa maruz bırakmayın.

Plate'teki renk gelişimi izlenmeli ve pozitif kuyular oluşumundan sonra substrat reaksiyonu durdurulmalıdır (bu protokolün bir sonraki noktasına bakınız). Renk geliştirme için ideal zaman periyodunun belirlenmesi, her tahlil için ayrı ayrı yapılmalıdır.

En yüksek standart koyu mavi renkte geliştiğinde durdurma çözeltisinin eklenmesi önerilir. Alternatif olarak renk gelişimi 620 nm'de ELISA okuyucu ile izlenebilir. Standart- 1 0,9 - 0,95'lik bir OD'ye ulaştığında substrat reaksiyonu durdurulmalıdır.

20. Her kuyucuğa pipetle 100 µl **Stop Solution** ekleyerek enzim reaksiyonunu durdurun.

Enzimi tamamen inaktive etmek için Stop Solüsyonun mikrokuyu boyunca hızla ve tekdüze yayılması önemlidir. Sonuçlar, Stop solüsyon eklendikten hemen sonra veya mikrokuyu striplerin karanlıkta 2-8 ° C'de saklanma halinde bir saat içinde okunmalıdır.

21. Birincil dalga uzunluğu olarak spektrofotometrede **450 nm'de** (isteğe bağlı olarak 620 nm referans dalga boyu; 610 nm ila 650 nm kabul edilebilir) her mikrokuyu absorbansını okuyun.

Üreticinin talimatlarına göre blank kuyuları kullanarak Plak okuyucuyu sıfırlayın. Hem numunelerin hem de standartların absorbansını belirleyin.

Sonuçların hesaplanması

Duplike standartların ve örneklerin her bir grubu için ortalama absorbans değerlerini hesaplayın. Duplikeler ortalama değerin yüzde 20'sinde olmalıdır.

Yatay ekseninde insan TGF beta 1 konsantrasyonuna karşı ordinat üzerindeki her bir standart konsantrasyon için ortalama absorbans çizerek standart bir eğri oluşturun. Grafiğin noktalarına en uygun eğriyi çizin (5 parametre eğrisi uyumu önerilir)

Her bir numune için dolaşımdaki insan TGF beta 1 konsantrasyonunu belirlemek için önce ordinat üzerindeki ortalama absorbans değerini bulun ve yatay bir çizgiyi standart eğriye kadar uzatın. Kesişme noktasında, yatay çizgiye dikey bir çizgi uzatın ve ilgili insan TGF beta 1 konsantrasyonunu okuyun.

Bu protokoldeki talimatlar takip edildiğinde, numuneler 1: 30'da seyreltilir (20 µl numune + 180 µl 1x Assay Tamponu + 20µl 1N HCl + 20µl 1N NaOH; ve 40 µl önceden muamele edilmiş numune + 60 µl 1x Assay Tamponu ve standart eğriden okunan konsantrasyon seyreltme faktörü (x 30) ile çarpılmalıdır.

Standartların 1'i aşan konsantrasyonda numunelerin hesaplanması, yanlış, düşük insan TGF beta 1 seviyelerine neden olabilir. Bu tür numuneler, doğru TGF beta 1 seviyesini tam olarak ölçmek için 1x Assay Tamponu ile ön dilüsyon gerektirir.

3.2.3.2. Sistatin C (CST3) Eliza Platinum Protokolü (Thermo Scientific,cat# EHCST3)

A.Solüsyonlar

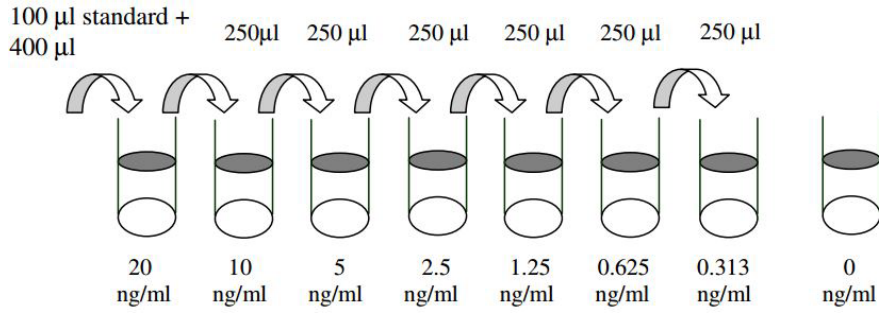
1. Human Sistatin C'e karşı monoklonal antikorla kaplı Mikrokuyucuklu plate
2. Lyofilize rekombinant Sistatin C Standart
3. Streptavidin-HRP (200 µl)
4. Biotinli antikor solüsyonu
6. 20x Konsantre Wash buffer (25 ml)
7. TMB substratı (tetrametil-benzidin) (12 ml)
8. Stop solüsyonu (0,2 M sülfürik asit) (8 ml)
9. 5x Konsantre Assay Dilüent (15 ml)
10. Adhesiv filmler

B. Gerekli malzemeler

1. 5 ml ve 15 ml dereceli pipetler
2. 5-1000 µl ayarlanabilir tek kanallı pipetler
3. Wash buffer ve standart dilüsyonu hazırlamak için distile su
4. Solüsyonların hazırlanması için deney şişeleri, erlenler ve mezürler
5. Mikroplate çalkalayıcı
6. Spektrofotometre, mikroplate okuyucu (450 nm'de okuma)
7. Standartları hazırlamak için 1,5 ml polipropilen veya polietilen tüpler

C. Solüsyonların hazırlanması

1. Assay Dilüent distile su ile 5 kat sulandırıldı. 100 ml mezüre 15 ml Assay dilüent konulup distile su ile 75 ml'ye tamamlandı.
2. 1x Assay Dilüent ile serumlar 1:500 oranında sulandırıldı.
3. Standartların hazırlanması: Liyofilize standart mini spin (kısa santrifüj) yapıldı. 100 ng/mL standard solüsyonu hazırlamak için 400 µL 1x Assay Dilüent liyofilize standart şişesine ilave edildi ve hafifçe karıştırılarak çözülmesi sağlandı. 20 ng/mL standard solüsyonu hazırlamak için boş tüpe 400 µL 1x Assay Dilüent ve 100 µL 100 ng/mL standard solüsyonu eklendi. Her tüpe bu karışımdan 250 µL ve 1x Assay Dilüentten 250 µL eklenerek (1:1 dilüsyon) aşağıdaki gibi dilüsyon serisi hazırlandı:



Bir tüpten diğerine transfer işlemi yapmadan önce tüp iyice karıştırıldı. 1X Assay Dilüent sıfır (0 ng/mL) standart olarak baz alındı.

4. 1x Wash buffer elde etmek için 400 ml 20x Wash Buffer 380 ml distile su içerisine ilave edildi.

5. Biotinli antikor solüsyonu kullanımdan önce mini spin yapıldı ve konsantre antikor hazırlamak için tüp içerisine 100 µL 1x Assay Dilüent ilave edilip yavaşça pipetaj yapılarak karışması sağlandı. Konsantre biotinli antikor 1x Assay Dilüent ile 80 kat sulandırıldı.

6. Streptavidin-HRP şişesi mini spin yapıldı ve kullanım öncesi yavaşça pipetaj yapılarak presipitasyonların karışması sağlandı. Streptavidin-HRP solüsyonu kullanım öncesi 1x Assay Dilüent ile 200-kat sulandırıldı (50 µl konsantre HRP-Streptavidin 10ml 1x Assay Dilüent).

D. Sistatin C Eliza Test Prosedürü

1. Her bir standarttan ve örnekten kuyucuklara 100 µL konuldu ve plate adhesiv film ile kapatılarak 2,5 saat oda sıcaklığında mikropate çalkalayıcıda inkübe edildi.

2. Kuyucuklardaki solüsyon tamamen boşaltıldı ve 300 µL 1x Wash Buffer ile 4 kez yıkandı. Son yıkama sonrası Wash Buffer kalıntısı kalmaması açısından plate kağıt havlu üzerine ters çevrilerek vuruldu.

3. Her kuyucuğa önceden hazırlanmış 100 µL biotinli antikor eklenip oda sıcaklığında 1 saat mikropate çalkalayıcıda inkübe edildi.

4. Kuyucuklardaki solüsyon uzaklaştırıldı ve yıkama aşaması tekrarlandı.

5. Her kuyucuğa önceden hazırlanmış 100 µL Streptavidin-HRP solüsyonu eklenip oda sıcaklığında 45 dk mikropate çalkalayıcıda inkübe edildi.

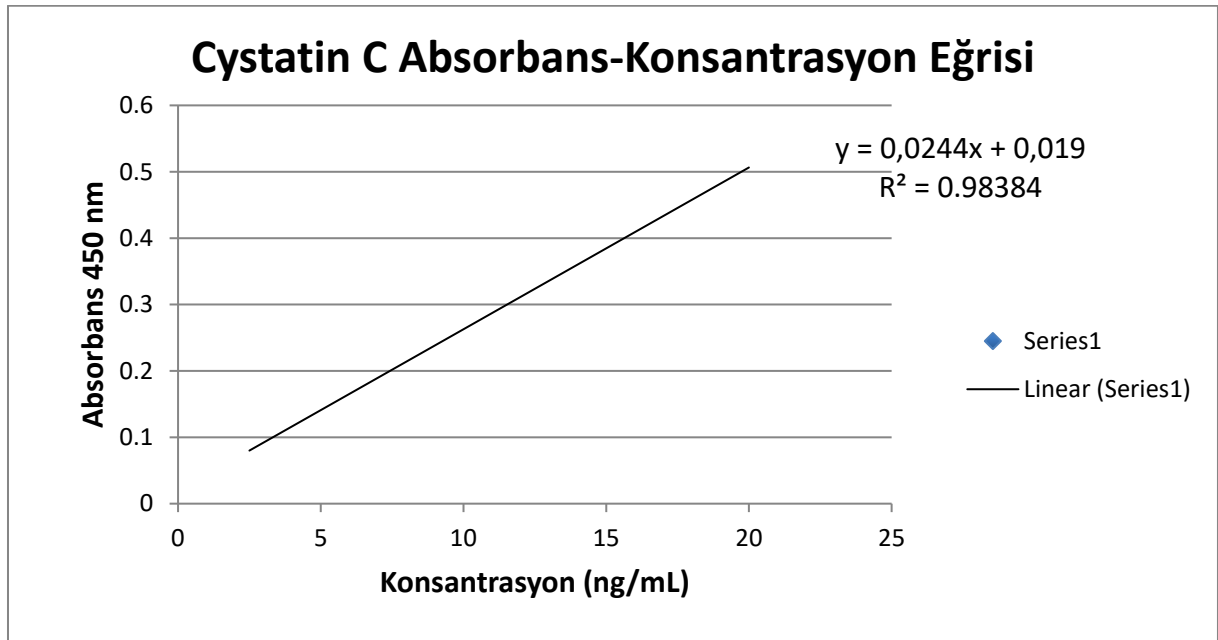
6. Kuyucuklardaki solüsyon uzaklaştırıldı ve yıkama aşaması tekrarlandı.

7. Her kuyucuğa 100 µL TMB Substratı eklenip oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk mikropate çalkalayıcıda inkübe edildi.

8. Plate'teki renk gelişimi izlendi ve pozitif kuyuların oluşumundan sonra her kuyucuğa 100 µl Stop Solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Sonuçlar, Stop solüsyon eklendikten hemen sonra spektrofotometrede 450 nm'de okundu.

E. Sonuçların hesaplanması

Her bir standardın elde edilen ortalama absorbansı dikey eksene (y) ve bununla ilişkili CystatinC konsantrasyonu yatay eksene (x) konularak örneklerin Cystatin C konsantrasyonu belirlendi. Elde edilen konsantrasyonlar dilüsyon faktörü (x 500) ile çarpıldı.



3.3. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri için SSPS 13,0 paket programı kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında, istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak değerlendirilmiştir.

Kan basınçları ve lipid düzeyleri ile vücut kitle indeksi gibi tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin gruplararası karşılaştırılmasında student's t testi; genotip ve allel karşılaştırmaları, Hardy-Weinberg dengesine uyum gibi niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki kare (χ^2) testi kullanılmıştır.

Klinik ve klinik olmayan parametrelerin allellerle karşılaştırılmasında Kikare metodu ve Student's t-testi, ikiden fazla değişkenin olduğu genotip karşılaştırmalarında ANOVA testi kullanılmıştır. Gruplar arası risk etkeninin belirlenmesi için Odds oranı (OR) ve % 95 güven

aralığı (% 95 GA) verilmiştir. Allel frekansı hesaplamalarında gen sayma yöntemi kullanılmıştır. Varyasyonlar arası bağlantı dengesizliğini tespit etmek ve Haplotip analizi için ise Haploview paket programı kullanılmıştır.

Koroner arter ektazi gelişiminde çalışmamızda risk oluşturduğu gözlenen faktörler logistik regresyon analizi ile araştırıldı. Logistik regresyon analizine dahil edilen faktörler serum TGF β seviyesi, erkek cinsiyet, hipertansiyon varlığı, hiperlipidemi varlığı oldu . Bu şekilde logistik regresyon analizine dahil edilen $p<0,05$ 'ten küçük anlamlılık değerine sahip faktörler arasında multivaryant logistik regresyon analizi yapıldı. Bu analiz sonunda elde edilen $p<0,05$ 'ten küçük değerler anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Tez çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü'nde koroneranjiyografi yapılmış KAE saptanmış hastalar ve kontrol (normal koroner arterlere sahip) bireylerinden oluşmak üzere iki örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grup İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü tarafından takip edilen ve anjiyografik yöntemlerle KAEtanısı konmuş 56 hastadan; kontrol grubu ise yapılan koroneranjiyografi sonrası normal koroner arter tespit edilen 44 kişiden oluşturulmuştur.

Tez çalışmamıza dahil edilen KAE'ne sahip hastaların ve normal koroner artere sahip hastaların demografik, klinik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 4-1'de verilmiştir. Koroner arter ektazi ve kontrolgrubu(normal koroner arter) yaş ortalamaları benzer bulunmuştur ($62,23 \pm 1,23$ / $59,95 \pm 1,79$ $p=0,292$). Gruplar arasında klinik, demografik ve biyokimyasal parametreler istatistiksel olarak araştırıldığında KAE hasta grubunda hemoglobin ($12,93 \pm 0,25$ / $13,67 \pm 0,23$ $p=0.037$), hematokrit ($38,78 \pm 0,76$ / $40,94 \pm 0,69$ $p=0.040$), INR ($1,02 \pm 0,03$ / $1,25 \pm 0,09$ $p=0.018$), erkek cinsiyeti (%71,4 / %40,9 $p<0.01$), hipertansiyon sıklığı(%67,9 / %47,7 $p=0.042$) ve hiperlipidemi sıklığı(%58,9 / %29,5 $p<0.01$) kontrol grubuna kıyasla yüksek gözlenirken; TGF $\beta 1$ düzeyi düşük ($3250,40 \pm 212,81$ / $4851,21 \pm 570,36$ $p=0.012$) gözlenmiştir.

Tablo 4.1. Koroner arter ektazili ve normal koroner artere sahip hastaların klinik, demografik ve biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması

	Gruplar		P değeri
	Kontrol (n=44)	Hasta (n=56)	
Yaş (yıl)	59,95± 1,79	62,23±1,284	0,292
Cinsiyet (K/E)	26/18	16/40	0,002
TGF β1Elisa (pg/ml)	4851,21± 570,36	3250,40± 212,81	0,012
Sistatin C (mg/l)	4,090 ± 0,310	3,998 ± 0,242	0,812
Açlık glukoz (mg/dl)	124,39± 10,25	119,23 ± 5,96	0,649
HbA1c (%)	6,16 ± 0,13	6,50± 0,18	0,152
Total kolesterol (mg/dl)	187,68 ± 7,00	187,09 ±5,35	0,946
HDL-Kolesterol (mg/dl)	50,45 ± 2,01	45,57 ± 1,72	0,067
LDL-Kolesterol (mg/dl)	130,14 ± 5,75	128,18 ± 5,19	0,802
Trigliserid (mg/dl)	142,05 ± 10,93	178,75± 15,17	0,065
ALT (SGPT) (U/L)	22,52/2,29	27,43/3,49	0,271
AST (SGOT) (U/L)	21,70/1,92	24,32/2,27	0,399
BUN (mg/dl)	16,82±1,01	15,82±0,52	0,355
Kreatinin (mg/dl)	0,86±0,03	0,92±0,03	0,290
Sodyum (mmol/l)	140,89±0,62	139,91±1,81	0,646
Potasyum (mmol/l)	4,36±0,11	4,50±0,06	0,256
Klor (mmol/l)	100,55±0,69	99,73±1,71	0,690
Beyaz Küre (mm3)	7931,82±372,93	8444,64±350,23	0,322
Hemoglobin (gr/dl)	12,93±0,25	13,67±0,23	0,037
Hemotokrit (%)	38,78±0,76	40,94±0,69	0,040
Platelet (mm3)	249954,55±10487,38	239267,86±9152,15	0,444
Nötrofil (mm3)	4843,18±279,39	4944,64±242,17	0,784
Lenfosit (mm3)	2293,18±133,35	2625,00±227,31	0,243
Monosit (mm3)	779,55±106,03	673,21±34,51	0,298
Bazofil (mm3)	32,27±7,78	28,57±6,09	0,705
Eozinofil (%)	2,23±0,26	2,40±0,19	0,600

TSH (µu/ml)	2,15±0,22	2,39±0,32	0,559
INR	1,02±0,03	1,25±0,09	0,018
EF (%)	58,55±0,88	57,02±1,07	0,292
Hipertansiyon Varlığı (adet/yüzde)	21/47,7	38/67,9	0,042
Tip 2 diyabet Varlığı (adet/yüzde)	11/25	22/39,3	0,132
Hiperlipidemi varlığı (adet/yüzde)	13/29,5	33/58,9	0,003

Tablodaki klinik, demografik ve biyokimyasal değerler $\bar{X} \pm \text{Sem}$ olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi student's t testi ile incelenmiştir. TGF $\beta 1$:transforming growth factor beta1; HgA1c:hemoglobin A1c; BUN: kan üre azotu; EF:ejeksiyon fraksiyonu; INR:international normalized ratio; TSH:tiroid stimulan hormon

Tablo 4.2'de normal koroner artere sahip ve koroner arter ektazili hastalarda TGF $\beta 1$ rs1800469 ve TGF $\beta 1$ rs1800470 polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları verilmiştir.

TGF $\beta 1$ rs1800469 ve TGF $\beta 1$ rs1800470 genotip ve allel dağılımları açısından çalışma grupları arasında farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

TGF $\beta 1$ rs1800469 ve TGF $\beta 1$ rs1800470 varyasyonları kontrol grubunda Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Koroner arter ektazili ve normal koroner artere sahip hastaların genetik polimorfizmlerinin karşılaştırılması

	NORMAL KORONER ARTER (n=44)	KORONER ARTER EKTAZİSİ (n=56)
TGF β1 rs1800469 Genotip		
GG	16 (% 36,4)	19 (% 33,9)
AA	8 (% 18,2)	12 (% 21,4)
GA	20 (% 45,5)	25 (% 44,6)
TGF β1 rs1800469 Allel		
G	52 (% 59,09)	63 (% 56,25)
A	36 (% 40,91)	49 (% 43,75)
TGF β1 rs1800469HWE	p: 0,691 (p>0,05)	p: 0,486 (p>0,05)
TGFβ1rs1800470Genotip	n=44	n=56
AA	13 (% 29,5)	23 (% 41,1)
GG	8 (% 18,2)	10 (%17,9)
GA	23 (% 52,3)	23 (% 41,1)
TGFβ1rs1800470Allel		
A	49 (% 55,68)	69 (% 61,61)
G	39 (% 44,32)	43 (% 38,39)
TGFβ1rs1800470 HWE	p: 0,694 (p>0,05)	p: 0,324 (p>0,05)

Tablodaki değerler n,% olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma kikare analizi ile yapılmıştır. n: örnek sayısı ; HWE: Hardy-Weinberg dengesi ; TGF β1: transforming growth factor beta1

Tablo 4.3'te koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800469 gen varyasyonunun klinik, demografik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi gösterilmiştir.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800469 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde yaygın G allel (GG + GA genotip) taşıyan bireylerde nadir homozigot AA genotip taşıyan bireylere kıyasla serum total kolesterol düzeyleri ($p=0.053$), LDL kolesterol düzeyleri ($p=0.066$) istatistiksel anlamlılığa yakın düşük bulunurken; serum potasyum düzeyleri ($p=0.075$) istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek bulunmuştur.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800469 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde nadir A allel (AA + AG genotip) taşıyan bireylerde yaygın homozigot GG genotip taşıyan bireylere kıyasla serum ALT (SGPT) seviyeleri ($p=0.034$), serum AST (SGOT) seviyeleri ($p=0.032$) ve serum kreatinin düzeyleri ($p=0.042$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek tespit edilmiştir.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800469 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile değerlendirildiğinde nadir homozigot AA genotipi taşıyan bireylerde heterozigot GA genotipi taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel anlamlı seviyede total kolesterol düzeyleri ($p=0.019$) yüksek bulunurken; serum potasyum düzeyleri ($p=0.013$) düşük bulunmuştur.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800469 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile değerlendirildiğinde yaygın homozigot GG genotipi taşıyan bireylerde heterozigot GA genotipi taşıyan bireylere kıyasla serum kreatinin düzeyi ($p=0.049$) düşük bulunmuştur.

Tablo 4.3.TGF β 1 rs1800469 genotip ve allellerinin koroner arter ektazili hasta grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

GRUP	rs1800469				
	GG	AA	GA	GG/GA	AA/GA
KAE	n=19	n=12	n=25	n=44	n=37
Yaş (yıl)	64,11±2,17	59,58±2,75	62,08±1,96	62,95±1,44	61,27±1,58
TGF β 1 Elisa (pg/ml)	2841,76±361,86	3741,11±517,32	3360,43±302,65	3140,00±232,86	3467,50±259,02
Sistatin C (mg/l)	4,0359±0,3633	4,1950±0,54297	3,8738±0,4052	3,9463±0,2734	3,9774±0,3216
Açlık glukoz (mg/dl)	118,79±7,49	127,00±15,28	115,84±9,87	117,11±6,41	119,46±8,23
HbA1c (%)	6,35±0,19	6,82±0,69	6,47±0,19	6,42±0,13	6,58±0,25
Total kolesterol(mg/dl)	184,63±8,58	210,58±15,14	177,68±6,31	180,68±5,12	188,35±6,87
HDL-Kolesterol (mg/dl)	47,11±2,46	47,08±2,77	43,68±3,12	45,16±2,06	44,78±2,28
LDL-Kolesterol (mg/dl)	130,16±9,21	148,33±12,81	117,00±6,37	122,68±5,40	127,16±6,36
Trigliserid (mg/dl)	183,21±29,12	197,42±31,28	166,40±61,645	173,66±17,42	176,46±17,71
ALT (SGPT) (U/L)	24,42±7,56	22,33±3,00	32,16±5,11	28,42±4,35	28,97±3,62
AST (SGOT) (U/L)	22,21±4,67	20,08±1,92	27,96±3,51	25,48±2,83	25,41±2,50
BUN (mg/dl)	15,84±0,89	15,00±1,10	16,20±0,80	16,05±0,59	15,81±0,64
Kreatinin (mg/dl)	0,81±0,03	0,99±0,09	0,97±0,05	0,90±0,03	0,97±0,04
Sodyum (mmol/l)	136,00±5,24	141,83±0,71	141,96±0,57	139,39±2,29	141,92±0,44
Potasyum (mmol/l)	4,43±0,12	4,29±0,07	4,65±0,09	4,56±0,07	4,53±0,07

Klor (mmol/l)	100,58±0,68	95,42±7,90	101,16±0,73	100,91±0,50	99,30±2,57
Beyaz Küre (mm3)	8178,95±445,41	8000,00±723,10	8860,00±623,03	8565,91±402,00	8581,08±480,80
Hemoglobin (gr/dl)	13,65±0,34	13,83±0,47	13,60±0,41	13,62±0,27	13,68±0,31
Hemotokrit (%)	40,33±0,97	41,88±1,55	40,96±1,18	40,69±0,78	41,26±0,93
Platelet (mm3)	249157,89±16253,16	212166,67±22705,90	244760,00±12121,78	246659,09±9718,98	234189,19±11124,11
Nötrofil (mm3)	4836,84±390,02	4741,67±447,12	5124,00±409,68	5000,00±284,94	5000,00±310,33
Lenfosit (mm3)	2594,74±269,66	2350,00±261,26	2780,00±454,12	2700,00±280,61	2640,54±317,47
Monosit (mm3)	647,37±36,96	641,67±81,14	708,00±61,62	681,82±38,37	686,49±48,88
Bazofil (mm3)	26,32±10,37	16,67±11,23	36,00±9,79	31,82±7,10	29,73±7,61
Eozinofil (%)	2,59±0,32	2,26±0,34	2,32±0,32	2,44±0,23	2,30±0,24
TSH (µu/ml)	2,79±0,62	2,24±0,41	2,17±0,51	2,43±0,39	2,19±0,37
INR	1,24±0,14	1,11±0,11	1,33±0,16	1,29±0,11	1,26±0,11
EF (%)	55,37±2,20	60,00±0,00	56,84±1,68	56,20±0,33	57,86±1,15

Tablodaki değerler $\bar{X} \pm \text{SEM}$ olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi genotipler arasında ANOVA testi ile alleller arasında ise Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir. TGF β 1: transforming growth factor beta1; HgA1c: hemoglobin A1c; BUN: kan üre azotu; EF: ejeksiyon fraksiyonu; INR: international normalized ratio; TSH: tiroid stimulan hormon; n: örnek sayısı; KAE: koroner arter ektazisi

Tablo 4.4'te koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800470 gen varyasyonunun klinik, demografik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi gösterilmiştir.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde yaygın A allel (AA + AG) taşıyan bireylerde nadir homozigot GG genotipi taşıyan bireylere kıyasla total kolesterol düzeyleri ($p=0.079$) ve LDL kolesterol düzeyleri ($p=0.072$) istatistiksel anlamlılığa yakın seviyede düşük gözlenirken; platelet sayıları ($p=0.018$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde nadir G allel (GG + AG) taşıyan bireylerde yaygın homozigot AA genotipi taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek serum TGF β 1 düzeylerine sahipken; serum trigliserid düzeyleri ($p=0.046$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulunmuştur.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile değerlendirildiğinde yaygın homozigot AA genotipi taşıyan bireylerde heterozigot AG genotipi taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük serum TGF β 1 düzeyleri ($p=0.030$) ve serum potasyum düzeyleri ($p=0.046$) gözlenirken , total kolesterol düzeyleri ($p=0.047$) ve LDL kolesterol düzeyleri ($p=0.048$) istatistiksel anlamlı seviyede yüksek gözlenmiştir.

Koroner arter ektazili hasta grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile değerlendirildiğinde nadir homozigot GG genotipi taşıyan bireylerde heterozigot AG genotipi taşıyan bireylere kıyasla total kolesterol düzeyleri ($p=0.007$) ve LDL kolesterol düzeyleri ($p=0.006$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur.

Tablo 4.4.TGF β 1 rs1800470 genotip ve allellerinin koroner arter ektazili hasta grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

GRUP	Rs1800470				
	AA	GG	AG	AA/AG	GG/AG
KAE	n=19	n=12	n=25	n=44	n=37
Yaş (yıl)	63,52±2,10	61,60±3,25	61,22±1,89	62,37±1,41	61,33±1,61
TGF β 1 Elisa (pg/ml)	2691,90±330,47	3592,50±351,49	3700,00±333,25	3183,65±245,05	3669,28±255,07
Sistatin C (mg/l)	4,3281±0,3627	4,1850±0,6469	3,5547±0,3712	3,9608±0,2635	3,7415±0,3220
Açlık glukoz (mg/dl)	117,91±7,07	123,70±18,14	118,61±10,36	118,26±6,20	120,15±8,92
HbA1c (%)	6,32±0,16	6,99±0,82	6,47±0,21	6,40±0,13	6,63±0,28
Total kolesterol (mg/dl)	193,22±7,34	210,90±16,91	170,61±6,680	181,91±5,18	182,82±7,51
HDL-Kolesterol (mg/dl)	45,83±2,80	45,50±2,49	45,35±3,00	45,59±2,03	45,39±2,20
LDL-Kolesterol (mg/dl)	133,96±7,78	151,90±14,26	112,09±6,57	123,02±5,29	124,15±6,96
Trigliserid (mg/dl)	207,70±27,67	182,00±35,32	148,39±18,24	178,04±16,97	158,58±16,53
ALT (SGPT) (U/L)	24,52±6,26	23,20±3,45	32,17±5,57	28,35±4,18	29,45±4,05
AST (SGOT) (U/L)	22,96±3,93	18,70±1,49	28,13±3,78	25,54±2,72	25,27±2,76
BUN (mg/dl)	16,00±0,84	15,80±1,28	15,65±0,79	15,83±0,57	15,70±0,66
Kreatinin (mg/dl)	0,85±0,04	0,99±0,10	0,96±0,05	0,90±0,03	0,96±0,04
Sodyum (mmol/l)	136,78±4,33	141,60±0,80	142,30±0,60	139,54±2,20	142,09±0,48
Potasyum (mmol/l)	4,37±0,11	4,44±0,15	4,65±0,07	4,51±0,07	4,59±0,07
Klor (mmol/l)	100,57±0,83	94,10±9,43	101,35±0,74	100,96±0,55	99,15±2,86

Beyaz Küre (mm3)	8504,35±492,37	8800,00±1012,03	8230,43±563,28	8367,39±370,45	8403,03±491,39
Hemoglobin (gr/dl)	13,71±0,34	14,15±0,46	13,41±0,42	13,56±0,26	13,64±0,32
Hemotokrit (%)	40,49±1,02	43,22±1,20	40,41±1,23	40,45±0,79	41,26±0,95
Platelet (mm3)	244217,39±15997,03	1971900,00±20522,31	252304,35±11678,23	248260,87±9810,98	235818,18±10989,96
Nötrofil (mm3)	5291,30±370,49	4270,00±337,32	4891,30±429,99	5091,30±282,20	4703,03±317,55
Lenfosit (mm3)	2365,22±215,19	3570,00±1059,25	2473,91±216,53	2419,57±151,15	2806,06±354,99
Monosit (mm3)	669,57±47,64	700,00±71,49	665,22±63,68	667,39±39,32	675,76±48,85
Bazofil (mm3)	30,43±9,81	10,00±10,00	34,78±10,15	32,61±6,98	27,27±7,87
Eozinofil (%)	2,29±0,27	2,21±0,40	2,59±0,35	2,44±0,22	2,48±0,27
TSH (µu/ml)	2,50±0,54	2,16±0,31	2,39±0,56	2,44±0,38	2,32±0,40
INR	1,27±0,13	1,09±0,08	1,30±0,17	1,29±0,10	1,24±0,12
EF (%)	56,74±1,63	56,50±3,50	57,52±1,45	57,13±1,08	57,21±1,43

Tablodaki değerler $X \pm SEM$ olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi genotipler arasında ANOVA testi ile alleller arasında ise Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir. TGF $\beta 1$: transforming growth factor beta1; HgA1c: hemoglobin A1c; BUN: kan üre azotu; EF: ejeksiyon fraksiyonu; INR: international normalized ratio; TSH:tiroid stimulan hormon; n: örnek sayısı; KAE: koroner arter ektazisi

Tablo 4.5'te normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF $\beta 1$ rs1800469 gen varyasyonunun klinik, demografik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi gösterilmiştir.

Normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF $\beta 1$ rs1800469 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde yaygın G

allel (GG + GA genotip) taşıyan bireylerde nadir homozigot AA genotip taşıyan bireylere kıyasla serum total klor düzeyleri ($p=0.041$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulunurken; serum TSH düzeyleri ($p=0.048$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur.

Normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF $\beta 1$ rs1800469 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile değerlendirildiğinde nadir homozigot AA genotipi taşıyan bireylerde heterozigot GA genotipi taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel anlamlı seviyede total kolesterol düzeyleri ($p=0.019$) ve serum potasyum düzeyleri ($p=0.033$) yüksek bulunmuştur.

Normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF $\beta 1$ rs1800469 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile değerlendirildiğinde yaygın homozigot GG genotipi taşıyan bireylerde heterozigot GA genotipi taşıyan bireylere kıyasla serum kreatinin düzeyi ($p=0.048$) yüksek bulunmuştur.

Tablo4.5.TGF $\beta 1$ rs1800469 genotip ve allellerinin normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

GRUP	Rs1800469				
	GG	AA	GA	GG/GA	AA/GA
KONTROL	n=16	n=8	n=20	n=36	n=28
Yaş (yıl)	58,31±3,77	64,88±1,87	59,30±2,41	58,86±2,11	60,89±1,85
TGF $\beta 1$ Elisa (pg/ml)	4914,61±787,63	4580,00±757,07	4908,57±1121,77	4911,48±681,25	4810,00±805,69
Sistatin C (mg/l)	4,3307±0,4282	3,6233±0,8963	4,0514±0,5151	4,1911±0,3297	3,9230±0,4388
Açlık glukoz (mg/dl)	129,44±16,30	97,13±6,45	131,25±18,17	130,44±12,25	121,50±13,340
HbA1c (%)	6,30±0,29	5,85±0,169	6,17±0,18	6,23±0,16	6,08±0,13

Total kolesterol (mg/dl)	175,75±8,17	199,50±16,71	192,50±12,27	185,06±7,75	194,50±9,83
HDL-Kolesterol (mg/dl)	49,31±3,08	57,63±6,29	48,50±2,63	48,86±1,97	51,11±2,65
LDL-Kolesterol (mg/dl)	116,88±6,52	132,88±14,03	139,65±9,84	129,53±6,40	137,71±7,97
Trigliserid (mg/dl)	157,13±24,22	112,00±20,64	142,00±11,55	148,72±12,39	133,43±10,27
ALT (SGPT) (U/L)	23,88±5,33	23,25±4,34	21,15±2,28	22,36±2,65	21,75±2,01
AST (SGOT) (U/L)	23,69±5,04	22,63±1,94	19,75±1,20	21,50±2,32	20,57±1,03
BUN (mg/dl)	18,50±2,36	17,38±1,72	15,25±0,94	16,69±1,18	15,86±0,83
Kreatinin (mg/dl)	0,94±0,06	0,84±0,11	0,81±0,05	0,87±0,04	0,82±0,04
Sodyum (mmol/l)	140,25±1,27	142,13±0,74	140,90±0,87	140,61±0,73	141,25±0,66
Potasyum (mmol/l)	4,49±0,13	4,46±0,19	4,21±0,21	4,34±0,13	4,28±0,16
Klor (mmol/l)	99,81±1,40	103,50±0,82	99,95±0,92	99,89±0,79	100,99±0,75
Beyaz Küre (mm3)	7587,50±613,45	7537,50±980,69	8365,00±543,05	8019,44±406,06	8128,57±473,97
Hemoglobin (gr/dl)	13,18±0,40	12,52±0,69	12,88±0,38	13,01±0,27	12,78±0,33
Hemotokrit (%)	39,44±1,04	37,94±2,58	38,60±1,08	38,97±0,75	38,41±1,04
Platelet (mm3)	245437,50±17700,51	257500,00±26220,22	250550,00±15695,20	248277,78±11582,52	252535,71±13233,00
Nötrofil (mm3)	4437,50±359,26	4850,00±757,34	5165,00±458,50	4841,67±302,85	5075,00±385,88
Lenfosit (mm3)	2243,75±280,62	1900,00±289,08	2490,00±145,25	2380,56±147,61	2321,43±139,38
Monosit (mm3)	937,50±275,20	625,00±103,07	715,00±69,31	813,89±127,37	689,29±57,12
Bazofil (mm3)	31,25±11,96	65,00±25,56	20,00±9,17	25,00±7,31	32,86±10,29
Eozinofil (%)	2,66±0,58	1,48±0,28	2,20±0,30	2,40±0,30	1,99±0,23

TSH (μu/ml)	1,88±0,28	1,64±0,66	2,57±0,35	2,26±0,23	2,30±0,31
INR	1,01±0,02	0,94±0,01	1,07±0,06	1,04±0,03	1,03±0,04
EF (%)	56,75±2,28	58,50±1,50	60,00±0,00	58,56±1,03	59,57±0,42

Tablodaki değerler $\bar{X} \pm \text{SEM}$ olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi genotipler arasında ANOVA testi ile alleller arasında ise Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir. TGF β 1: transforming growth factor beta1; HgA1c: hemoglobin A1c ; BUN: kan üre azotu ; EF: ejeksiyon fraksiyonu ; INR: international normalized ratio ; TSH:tiroid stimulan hormon ; n: örnek sayısı ;

Tablo 4.6’da normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF β 1 rs1800470 gen varyasyonunun klinik, demografik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi gösterilmiştir.

Normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde normal A allel (AA + AG genotip) taşıyan bireylerde nadir homozigot GG genotip taşıyan bireylere kıyasla serum AST(SGOT) düzeyleri ($p=0.019$) ve serum sodyum düzeyleri ($p=0.048$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulunmuştur.

Normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonunun klinik ve biyokimyasal parametre etkisi Mann-Whitney U testi ile incelendiğinde nadir G allel (GG + AG genotip) taşıyan bireylerde yaygın homozigot AA genotip taşıyan bireylere kıyasla kan eozinofil yüzdesi ($p=0.030$) istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulunmuştur.

Normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda TGF β 1 rs1800470 varyasyonuna ait 3 genotipin incelenen klinik ve biyokimyasal parametrelere etkisi ANOVA testi ile

değerlendirildiğinde yaygın homozigot AA genotipi taşıyan bireylerde heterozigot AG genotipi taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük serum TGF β 1 düzeyleri ($p=0.030$) gözlenmiştir.

Tablo 4.6.TGF β 1 rs1800470 genotip ve allellerinin normal koroner arterlere sahip kontrol grubunda klinik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

GRUP	Rs1800470				
	AA	GG	AG	AA/AG	GG/AG
KONTROL	n=13	n=8	n=23	n=36	n=31
Yaş (yıl)	58,38 $\pm$ 3,36	64,25 $\pm$ 1,83	59,35 $\pm$ 2,79	59,00 $\pm$ 2,13	60,61 $\pm$ 2,14
TGF β 1Elisa (pg/ml)	4293,63 $\pm$ 998,47	4796,66 $\pm$ 589,16	5255,00 $\pm$ 951,77	4863,33 $\pm$ 688,84	5130,00 $\pm$ 703,63
Sistatin C (mg/l)	3,8175 $\pm$ 0,5340	4,0500 $\pm$ 0,8567	4,3113 $\pm$ 0,4405	4,0996 $\pm$ 0,3370	4,2400 $\pm$ 0,3861
Açlık glukoz (mg/dl)	130,46 $\pm$ 19,803	101,25 $\pm$ 7,95	129,00 $\pm$ 15,96	129,53 $\pm$ 12,285	121,84 $\pm$ 12,14
HbA1c (%)	6,44 $\pm$ 0,35	5,79 $\pm$ 0,16	6,13 $\pm$ 0,16	6,24 $\pm$ 0,16	6,04 $\pm$ 0,12
Total kolesterol (mg/dl)	188,46 $\pm$ 10,76	196,13 $\pm$ 16,51	184,30 $\pm$ 10,76	185,81 $\pm$ 7,80	187,35 $\pm$ 8,96
HDL-Kolesterol (mg/dl)	46,92 $\pm$ 3,69	57,63 $\pm$ 6,29	49,96 $\pm$ 2,31	48,86 $\pm$ 1,97	51,94 $\pm$ 2,38
LDL-Kolesterol (mg/dl)	131,46 $\pm$ 9,47	128,00 $\pm$ 13,47	130,13 $\pm$ 8,72	130,61 $\pm$ 6,45	129,58 $\pm$ 7,23
Trigliserid (mg/dl)	177,77 $\pm$ 27,54	118,38 $\pm$ 24,75	130,09 $\pm$ 9,87	147,31 $\pm$ 12,16	127,06 $\pm$ 9,52
ALT (SGPT) (U/L)	26,31 $\pm$ 6,53	27,88 $\pm$ 5,53	18,52 $\pm$ 1,23	21,33 $\pm$ 2,50	20,94 $\pm$ 1,79
AST (SGOT) (U/L)	23,69 $\pm$ 5,75	23,88 $\pm$ 1,72	19,83 $\pm$ 1,73	21,22 $\pm$ 2,32	20,87 $\pm$ 1,38
BUN (mg/dl)	18,15 $\pm$ 1,70	18,13 $\pm$ 1,85	15,61 $\pm$ 1,55	16,53 $\pm$ 1,17	16,26 $\pm$ 1,25
Kreatinin (mg/dl)	0,91 $\pm$ 0,06	0,91 $\pm$ 0,12	0,82 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04
Sodyum (mmol/l)	139,69 $\pm$ 1,23	143,00 $\pm$ 0,53	140,83 $\pm$ 0,91	140,42 $\pm$ 0,73	141,39 $\pm$ 0,70

Potasyum (mmol/l)	4,46±0,11	4,53±0,21	4,24±0,19	4,32±0,13	4,32±0,15
Klor (mmol/l)	101,38±1,40	102,88±0,51	99,26±1,00	100,03±0,82	100,19±0,80
Beyaz Küre (mm³)	7500,00±479,18	7650,00±981,61	8273,91±575,52	7994,44±406,68	8112,90±490,63
Hemoglobin (gr/dl)	13,37±0,41	12,25±0,62	12,91±0,37	13,08±0,28	12,74±0,32
Hemotokrit (%)	39,74±1,13	37,04±2,38	38,85±1,03	39,17±0,76	38,38±0,97
Platelet (mm³)	247153,85±20095,23	249375,00±30665,78	251739,13±13502,77	250083,33±11106,51	251129,03±12484,46
Nötrofil (mm³)	4238,46±336,181	5000,00±736,54	5130,43±428,31	4808,33±304,81	5096,77±364,13
Lenfosit (mm³)	2269,23±230,49	1875,00±280,14	2452,17±193,66	2386,11±147,85	2303,23±165,09
Monosit (mm³)	1030,77±332,12	612,50±102,53	695,65±66,97	816,67±127,27	674,19±55,83
Bazofil (mm³)	46,15±14,39	52,50±26,16	17,39±8,08	27,78±7,57	26,45±9,20
Eozinofil (%)	3,15±0,67	1,51±0,29	1,97±0,27	2,39±0,30	1,85±0,21
TSH (µu/ml)	2,31±0,58	1,72±0,64	2,21±0,20	2,24±0,24	2,08±0,21
INR	1,02±0,02	0,94±0,01	1,05±0,05	1,04±0,03	1,02±0,04
EF (%)	58,46±1,53	58,50±1,50	58,61±1,39	58,56±1,03	58,58±1,09

Tablodaki değerler $\bar{X} \pm \text{SEM}$ olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi genotipler arasında ANOVA testi ile alleller arasında ise Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir. TGF β 1: transforming growth factor beta1 ; HgA1c: hemoglobin A1c ; BUN: kan üre azotu ; EF: ejeksiyon fraksiyonu ; INR: international normalized ratio ; TSH:tiroid stimulan hormon ; n: örnek sayısı ;

Tablo 4.7’de lojistik regresyon analizini kullanarak koroner arter ektazisi gelişiminde; bu çalışmada risk olarak belirlediğimiz genetik, klinik ve biyokimyasal parametrelerin etkileri değerlendirilmiştir. Koroner arter ektazili hasta grubunda erkek cinsiyet ($p=0,002$), hemoglobin düzeyi ($p=0,037$), hemotokrit yüzdesi ($p=0,040$), INR ($p=0,018$), hipertansiyon varlığı ($p=0,042$) ve hiperlipidemi varlığı ($p=0,003$) kontrol grubuna göre yüksekken, serum TGF β 1 düzeyi ($p=0,012$) düşük bulunmuştur (Tablo 4.1). Bu nedenle koroner arter ektazisi

için yapılan risk analizinde cinsiyet, serum TGF β 1 düzeyi, hemoglobin düzeyi, hemotokrit yüzdesi, INR, hipertansiyon varlığı ve hiperlipidemi varlığı kategorik değişkenlerde yer almıştır. Sonuç olarak yapılan lojistik regresyon analizinde cinsiyet, serum TGF β 1 düzeyi ve hiperlipidemi varlığının koroner arter ektazi gelişiminde risk oluşturdıkları doğrulanmıştır.

Tablo 4.7. Koroner arter ektazili hasta grubunda ilişkili risk faktörlerinin lojistik regresyon analizinde değerlendirilmesi

Bağımlı Değişkenler	P değeri	Exp (B)	OR (95% CI) for Exp (B)
Serum TGF β 1 düzeyi	0,003	-0,005	0,001-0,002
Cinsiyet	0,003	0,311	0,113-0,510
Hipertansiyon	0,382	0,09	0,114-0,295
Hiperlipidemi	0,006	0,274	0,008-0,467

Bağımsız değişken=Grup

5.TARTIŞMA

Koroner arter ektazisi tanısı koronerangiyoğrafik olarak konulan, koroner arter damar çapının komşu koroner arter çapından 1,5 kat veya daha fazla genişlemesi olarak tanımlanan durumdur. Bir ya da birden çok koroner arterde gözlenebileceği gibi, aynı koroner arterde lokalize veya difüz olarak da gözlenebilir (2,3,5,13). Genişlemiş koroner arterler için kullanılan ektazi terimi literatürde ilk defa 1966 yılında Bjork tarafından kullanılmıştır (1,13). Koroner arter ektazisinin tanımı için mutabakata varılmış tam bir tanı kriteri bulunmadığı için farklı çalışmalarda farklı sıklık değerleri karşımıza çıkmaktadır. Koroner arter ektazisi için yapılmış en büyük çalışma CASS (Coronary Artery Surgery Study) çalışmasıdır. Çalışmaya 20087 hasta dahil edilmiş ve bu hastaların %4,9’unda koroner arter ektazisi tespit edilmiştir (9). Koroner arter ektazilerini; lümen çapına, ektazinin morfolojisine ve ektazinin içerdiği damar komponentine göre sınıflayan çeşitli sınıflamalar mevcuttur. En yaygın kullanılan sınıflama ise Markis ve arkadaşlarının oluşturduğu sınıflamadır (12,13,54).

Koroner arter ektazisinin farklı etiyolojik sebepleri mevcuttur. Bu etiyolojik sebeplerden en yaygın görülen 3 tanesi; doğuştan (konjenital), ateroskleroz zemininde gelişenler ve inflamatuvar hastalık kaynaklı (izole) olanlardır (5,15,16). Ateroskleroz zemininde gelişen koroner arter ektazileri, ektazi etiyolojisinin %50’sini oluşturur (5,15,16). Bir diğer etiyolojik grup ise izole koroner ektazi grubudur. Bu gruptaki ektazilerin kaynağı

romatolojik ve inflamatuvar hastalıklardır(Kawasaki hastalığı, Takayatsu arteriti, poliartirit nodosa vd.). Diğer nadir etiyolojik sebepler ise travma, genetik bağ dokusu hastalıkları(Marfan, Ehler-Danlos) ve ilaç ilişkili(amfetamin, kokain) ektazilerdir (5,15,16).

Koroner arter ektazilerinde altta yatan etiyolojik sebebe bağlı olarak patofizyolojik bulgular değişkenlik gösterir. Tez çalışmamızda seçtiğimiz hasta grubu ateroskleroz zemininde gelişen KAE grubudur. Ateroskleroz zemininde gelişen KAE grubu,KAE etiyolojisinin % 50'ini oluşturur. Vasküler intimada meydana gelen aterosklerotik değişiklikler, vasküler mediya tabakasında kas/elastik bileşim dengesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Bu değişiklikler arteryel yeniden modellenmeye (arteryel remodeling) sebep olmakta ve süreç koroner arter ektazisi ile sonuçlanmaktadır (13,25,26,54). Arteryel yeniden modellenme sürecinde metalloproteinazların (MMPs) aşırı üretimi ve ekstraselüler matriks elamanlarının yıkımı söz konusudur (13,33,34,35,54). KAE ile ilgili ortaya konulan patofizyolojik ve klinik verilere rağmen altta yatan mekanizma tam olarak açıklanamamaktadır. Genetik yatkınlık ve çevresel etkilerin KAE oluşumuna etkisi göz ardı edilmemelidir (5,13,,31,32). Sistein proteinazları (katepsin K,L, S vd.) ve serin proteinazlar (plazminojen aktivatörler, plasmin, triptaz vd.) gibi ekstraselüler matriks yıkıcı enzimlerin KAE patogenezi etiyolojisinde rolü olabileceği düşünülmüştür (13,40-44,54).

Koroner arter ektazisi genellikle KAH ile birliktelik gösterir. KAE hastalarının yaklaşık %50'sinde KAH mevcuttur. KAE'de koroner kan akımı laminar akımdan türbülant akıma dönüşür (3,13,54,76,77).

TGF β 'nın içinde yer aldığı TGF β süper ailesi; aktivin, inhibin, büyüme farklılaşma faktörleri, kemik morfogenetik proteinlerini (BMPs) de içeren büyük bir ailedir. Bunlar hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, organizasyonu,göçü,yapışması, ekstraselüler matriks üretimi, doku hemostazı ve embriyogenezi teşvik eden çok işlevli düzenleyicilerdir (110-113).

TGF β yolağında sorun oluşması kanser, otoimmün, fibrotik ve kardiyovasküler dahil birçok hastalığa sebep olur. TGF β hücrel etkileri olumlu ya da olumsuz yönde düzenleyebilir. TGF β 'nın ateroskleroza önleyici antiinflamatuvar etkileri olduğu gibi; hipertansiyon ve kardiyak hasarda gözlenen fibroz patogenezi teşvik edecek profibrotik etkileri de mevcuttur (110-113).

TGF β 'nın; TGF β 1, TGF β 2 ve TGF β 3 olarak tanımlanmış 3 farklı izotipi mevcuttur. TGF β 1 kardiyovasküler sistem üzerine en etkili ve en önemli izotiptir. TGF β 1 tez çalışmamızda incelediğimiz izotiptir (110-114).

TGF β ; hipertansiyon, restenoz, ateroskleroz, kalp hipertrofisi ve kalp yetmezliği gibi birçok hastalığın patogeneziinde yer alır. TGF β kardiyovasküler hücreler üzerine pleiotropik etkilere sahiptir. TGF β ; aterosklerozda damar duvar yapısının korunması, inflamasyonun azaltılması ve ekstraselüler matriks içeriğinin korunmasını sağladığı için koruyucu sitokin olarak adlandırılır. TGF β 'nın hücreler üzerindeki etki kaybı ateroskleroz sürecini hızlandırır (110,124). TGF β kollajen üretimini artırarak plak stabilizasyonuna katkı sağlar (110,124).

TGF β , fibroblastları kollajen üretime teşvik ettiği için fibroz patogeneziinde önemli rol oynar (110,126,127). TGF β bu özelliğiyle hipertansiyon, dilate ve hipertrofik kardiyomiopati, kalp krizi sonrası miyokardın yeniden modellenmesi, kapak hastalıkları ve aritmi gibi çok sayıda patogeneziinde rol alır (110,126,127).

TGF β kodlayan gende meydana gelen otozomal dominant mutasyonlar Loeys-Dietz adlı sendroma sebep olur. Bu sendrom özellikle abdominal aort anevrizması olmak üzere çoklu damar anevrizmaları ile seyrederek (130). Bu ve buna benzeyen bir çok çalışmada TGF β ve abdominal aort anevrizması arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Abdominal aort anevrizması ile koroner arter ektazisi arasındaki patogenezi benzerdir (110). Uygulanan

endovasküler gen terapisi ile TGF β aşırı ekspresyonu tetiklenmiş ve abdominal aort anevrizmasının ilerlemesi engellenmiştir (110,129).

Sistatin C; sistatin süper ailesinin bir üyesi olup, sistein proteinaz inhibitörüdür. Sistatin C nonglikolize, düşük molekül ağırlıklı ve sitoplazmik bir proteindir. Sistatin C'nin hücrelerin birçoğunda üretim hızı sabittir. Sistatin C'nin molekül ağırlığının düşük, üretim hızının sabit olması glomerüler filtrasyon hızının hesaplanmasında kullanılmasına sebep olmuştur (157,159,160,173). Sistatin C'ye adrenal medulla, pankreas adacıkları, tiroid bezi, beyin kortikal nöronları, endotel ve vasküler hücrelerin ekstraselüler matrikslerinde yoğun olarak rastlanmıştır. Sistatin C, sistein proteinazlardan papain, ficin, katepsin B,H,L'yi inhibe ederek ekstraselüler matriksin yıkımını önler (157-160). Kompleman sistemini aktive ederek immün sisteme katkı sağlar.

Koroner arter ektazilerinde patogenezdaki temel olay ekstraselüler matriksin yıkımıdır. Ekstraselüler matriks yıkımında serin proteinazlar, lizozomal proteinazlar ve metalloproteinazlar etkilidir. Ekstraselüller matriks yıkımı arteriyel yeniden modellenmeye sebep olurken, süreç KAE ile sonuçlanır (175,176,177,196). Lohoefer ve arkadaşları yaptıkları deneylerde anevrizmatik abdominal aort segmentinde immünohistokimyasal çalışmalar ile azalmış Sistatin C aktivitesi göstermişlerdir (179). Ayrıca Lindholt ve arkadaşları Sistatin C eksikliği olan hastalarda abdominal aort anevrizması çapının daha hızlı genişlediğini gösterdiler (180).

Dolaşımda Sistatin C düzeyinin azalması koroner arter ektazisi ve abdominal aort anevrizmasına sebep olurken (176,180,181,196), Sistatin C'nin dolaşımdaki düzeyinin artması inme, kalp yetmezliği, akut koroner sendrom, periferik arter hastalığının patogenezinin katkı sağlamaktadır (185,186,196)

TGF β 1 gen varyasyonlarının aterosklerotik kalp hastalıkları üzerine etkisini ortaya koymuş birçok çalışma bulunmaktadır.

TGF β 'nın ateroskleroz patogenezinde koruyucu sitokin rolü düşünülerek TGF β sentezleyen genlerde meydana gelecek varyasyonların ateroskleroz zemininde gelişen koroner arter ektazisi patogenezinde etkili olabileceği hipotezinden yola çıkarak; koroner arter ektazili hasta grubunda ve normal koronerlere sahip kontrol grubunda TGF β genindeki rs1800469 ve rs1800470 varyasyonlarının dağılımlarını ve hastalığın gelişiminde bireysel ve kombine etkilerini belirlemeye çalıştık. Aynı zamanda TGF β 1 genindeki rs1800469 ve rs1800470 varyasyonlarının TGF β ve sistatin C kan düzeylerini nasıl etkilediğini, klinik ve biyokimyasal parametrelere nasıl etki edeceğini belirlemeye çalıştık. Araştırdığımız TGF β rs1800469 ve rs1800470 gen varyasyonları tek başına veya birlikte koroner arter ektazili hastalarda çalışılmamıştır. Yaptığımız çalışma bu anlamda dünya tıp literatüründeki ilk çalışmadır.

TGF β gen ailesindeki polimorfizmler kanser, inflamatuvar hastalıklar, enfeksiyöz hastalıklar ve psikiyatrik hastalıklarda araştırılmış ve bu hastalıklarla ilişkisi ortaya konulmuştur (197,198.199.200.201).

Hailong Cao ve arkadaşları yaptığı çalışmada TGF β rs1800469 gen polimorfizmlerinin atrial fibrilasyonla ilişkili olduğunu gösterdiler (202). Chou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada romatizmal kapak hastalıkları ile TGF β rs1800469 gen polimorfizmlerinin ilişkili olabileceğini gösterdiler. Nadir homozigot CC genotipinin romatizmal kalp hastalığına yakalanmaya karşı koruyucu olabileceğini gösterdiler (203). Cruz ve arkadaşları sessiz iskemi geçiren diyabetik hastalarda TGF β rs1800469 T>C ve rs1800470 T>C genetik varyasyonlarını taşımanın sessiz iskemi geçirme açısından risk oluşturduğunu ortaya koydular (204). Morris ve arkadaşları 5 çalışmayı inceleyerek yayınladıkları

metaanalizde; TGF β rs1800469 gen varyasyonunda T allel, rs1800470 gen varyasyonunda T allel, rs1800471 gen varyasyonunda C allel taşıyıcısı olmanın koroner kalp hastalığı ile ilişkili olduğunu gösterdiler (205). Koch ve arkadaşları TGF β gen polimorfizmleri ile akut miyokardiyal enfarktüs arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarında TGF β rs1800469 gen polimorfizmi ile akut miyokart enfarktüsünü ilişkili buldular (206). Yokota ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; TGF β rs1800470 gen varyasyonlarında T allel taşıyıcısı olmanın akut miyokart enfarktüsü için risk faktörü olduğunu ortaya koydular (207). Fragosa ve arkadaşları TGF β genotipleri ile stent restenozu arasındaki ilişkiyi incelediklerinde TGF β rs1800470 varyasyonunda homozigot TT genotipi taşıyanlarda stent restenozlarının daha sık görüldüğünü ortaya koydular (208). Zuo ve arkadaşları abdominal aort anevrizması ile TGF β rs1800469 gen varyasyonları arasındaki ilişkiyi incelediklerinde, homozigot TT genotipi taşıyan bireylerin homozigot CC genotipi taşıyan bireylere göre abdominal aort anevrizması için artmış risk taşıdıklarını buldular (209).

Literatür tarandığında KAE üzerine TGF β gen varyasyonları ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. KAE ile yapılan çalışmaların birçoğu Kawasaki hastalığı zemininde gelişen koroner anevrizmalarla ilgilidir(210,211,212). Ateroskleroz zemininde gelişen KAE ile yapılmış genetik polimorfizm çalışmaları sınırlı sayıdadır. Arif Yalçın ve arkadaşları yaptıkları çalışmada endotelial nitrik oksit sentaz genindeki c.894 G>T polimorfizminin KAE ile ilişkisini gösterdiler (213). Hsu ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile h0GG1 ser326Cys gen polimorfizmi ile KAE gelişimi arasındaki riski ortaya koydular (214). Güleç ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile anjiotensin I converting enzim genindeki delesyon mutasyonunun KAE için potansiyel bir risk olduğunu gösterdiler (215). Akdemir ve arkadaşları yaptıkları çalışmada HLA-DR B1, DR16, DQ2 ve DQ5 genotiplerinin KAE ile ilişkisini ortaya koydular (216).

Tez çalışmamıza dahil edilen KAE'li ve normal koroner arterlere sahip bireylerin yaş ortalamaları($62,23 \pm 1,23$ / $59,95 \pm 1,79$ $p=0,292$) benzer bulunmuştur gruplar arasında klinik, demografik ve biyokimyasal parametreler karşılaştırıldığında KAE hasta grubunda hemoglobin ($12,93 \pm 0,25$ / $13,67 \pm 0,23$ $p=0.037$), hematokrit ($38,78 \pm 0,76$ / $40,94 \pm 0,69$ $p=0.040$), INR ($1,02 \pm 0,03$ / $1,25 \pm 0,09$ $p=0.018$), erkek cinsiyeti (%71,4 / %40,9 $p<0.01$), hipertansiyon sıklığı(%67,9 / %47,7 $p=0.042$) ve hiperlipidemi sıklığı(%58,9 / %29,5 $p<0.01$) kontrol grubuna kıyasla yüksek gözlenirken; TGF $\beta 1$ düzeyi düşük ($3250,40 \pm 212,81$ / $4851,21 \pm 570,36$ $p=0.012$) gözlenmiştir. Güneş ve arkadaşlarının yaptığı ve koroner arter ektazili hastaların klinik profilinin incelendiği çalışmada, hipertansiyon sıklığı ($p=0,03$) ve hiperlipidemi sıklığı ($p<0,001$) koroner ektazi grubunda normal arter grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (217). Bermüdez ve arkadaşlarının koroner ektazileri klinik prevalans ve anjiyografik özelliklerine göre inceledikleri çalışmalarında erkek hasta yüzdesi KAE grubunda (%91), normal koroner arter grubuna kıyasla (%71) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (218). Yılmaz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada hipertansiyon ve KAE arasındaki ilişkiyi ortaya koydular. Koroner arter ektazili hastalar koroner arter ektazisi olmayan kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman koroner arter ektazili hasta grubunda hipertansiyon sıklığı anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,002$) (219). Uluslararası literatür tarandığı zaman normal koroner arter hastalığına kıyasla KAE'li hastalarda hemoglobin ve hemotokrit değerlerinin yüksek bulunduğu başka çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda TGF $\beta 1$ serum düzeyi koroner arter ektazili hastalarda, normal koroner artere sahip kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,012$). Yetkin ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada yalnız koroner arter ektazili hastalar ile koroner arter ektazisi ile birlikte koroner arter hastalığı olan hastaları karşılaştırmış ve yalnız koroner arter hastalığı olan grupta plazma TGF $\beta 1$ düzeyi anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,02$) (220).

Çalışmamızda KAE'li grup ile normal koroner arterlere sahip kontrol grubu arasında serum sistatin C seviyeleri açısından anlamlı fark olmadığını tespit ettik ($p=0,812$). Theodoras ve arkadaşları yaptığı çalışmada bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak KAE'li grup ile normal koroner arterlere sahip kontrol grubu arasında serum sistatin C seviyeleri açısından fark olmadığını ortaya koydular (221). Yetkin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise yalnız koroner arter hastalığına sahip bireylerde, KAE ile koroner arter hastalığının birlikte bulunduğu bireylere kıyasla plazma sistatin C değerlerinin düşük olduğu gösterildi (220).

Çalışmamızda KAE'li grup ile normal koroner arterlere sahip grup arasında TGF β rs1800469 ve TGF β rs1800470 polimorfizimlerinin genotip varyasyon dağılımı açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Çalışmamızda TGF β rs1800469 ve rs1800470 gen varyasyonlarının hem hasta grubunda hem kontrol grubunda Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olduğunu gördük ($p>0,05$).

Çalışmamızda ayrıca TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 genetik polimorfizimleri ile serum TGF β 1 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Daha önce literatürde KAE ve normal koroner arterlere sahip hastalarda TGF β polimorfizmi ve serum TGF β 1 düzeyini karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. TGF β 1 gen polimorfizmi ve TGF β 1 düzeylerini karşılaştıran çalışmalar kanser, preeklampsia, hepatit enfeksiyonu gibi alanlarda yapılmıştır (222,223,224). Bizim çalışmamızda KAE grubunda TGF β rs1800470 gen varyasyonlarında nadir G allel (GG + AG) genotip taşıyan bireylerde normal homozigot AA genotip taşıyan bireylere kıyasla yüksek serum TGF β 1 ($p=0,012$) düzeyleri bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda normal koroner arterlere sahip bireylerde TGF β rs1800470 gen varyasyonları incelendiğinde homozigot AA genotipi taşıyan bireylerde heterozigot AG genotipi taşıyan bireylere kıyasla düşük serum TGF β 1 seviyesi ($p=0,030$) bulunmuştur. Çalışmamızda normal koroner arterlere sahip bireylerde KAE'li bireylere kıyasla yüksek serum TGF β 1 seviyesi bulunduğu düşünülürse,

TGF β rs1800470 G allel (GG+AG) taşıyıcısı olmanın KAE'sine yakalanma açısından koruyucu olduğu düşünülebilir.

Chen ve arkadaşları yaptığı çalışmada yüksek kolesterol değerlerinin TGF β etkinliğini baskıladığını gösterdiler (225). Lekkou ve arkadaşları ciddi sepsisli hastalarda yaptıkları araştırmada sağ kalan hastalarda ölen hastalara kıyasla HDL kolesterol ve serum TGF β değerlerinin yüksek olduğunu gösterdiler (226). Uluslararası literatür incelendiği zaman ise TGF β gen varyasyonları ile serum kolesterol değerlerini karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Tez çalışmamızda koroner arter hasta grubunda TGF β rs1800469 gen varyasyonlarının serum lipid profiline etkisi incelendiğinde nadir homozigot AA genotip taşıyan bireylerde G allel (GG+GA genotip) taşıyan bireylere kıyasla total kolesterol ($p=0,053$) ve LDL kolesterol değerlerinin ($p=0,066$) istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek saptandığı gözlenmiştir. Ayrıca nadir homozigot AA genotip taşıyan bireylerde heterozigot GA taşıyan bireylere kıyasla total kolesterol düzeylerinin ($p=0,019$) anlamlı yüksek olduğu gözlenmiştir. Koroner ektazili hastalarda TGF β 1800470 gen varyasyonlarının serum lipid profiline etkisine baktığımızda ise, nadir homozigot GG genotip taşıyan bireylerde A allel (AA+AG genotipi) taşıyan bireylere kıyasla total kolesterol ($p=0,079$) ve LDL kolesterol değerleri ($p=0,072$) istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek gözlenmiştir. Nadir GG genotip taşıyan bireylerde heterozigot AG genotip taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük total kolesterol ($p=0,007$) ve LDL kolesterol ($p=0,006$) düzeyleri bulunmuştur. Bu durum rs1800470 gen varyasyonunda nadir GG homozigot genotip sahibi olmanın hiperlipidemiye karşı koruyucu olabileceğini gösterir.

Yang ve arkadaşları farelerde yaptıkları araştırmalarda TGF β uyarısı ile hepatositlerde yağ birikiminin arttığını ortaya koydular (227). TGF β 'nın insanda karaciğer üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Tez çalışmamızda TGF β rs1800469 gen varyasyonlarında nadir A allel (AA+GA genotip) taşıyan bireylerde homozigot GG genotipi taşıyan bireylere kıyasla

istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek ALT ($p=0,034$) ve AST ($p=0,032$) düzeyleri bulunmuştur. Bu durum rs1800469 gen varyasyonunda homozigot GG genotipinin karaciğer üzerine koruyucu etkiye sahip olabileceğini gösterir.

TGF β gen polimorfizmi ile alerjik reaksiyonlarının ilişkisini gösteren birçok çalışma mevcuttur bunlardan biri Silverman ve arkadaşlarının astım hastalığı ile TGF β C-509T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi ortaya koyduğu çalışmadır(228). Silverman ve arkadaşlarının çalışmasında TGF β C-509T polimorfizmi ile eozinofil yüzdesi arasında ilişki bulunmamıştır. Tez çalışmamızda normal koroner artere sahip kontrol grubunda rs1800470 gen varyasyonları incelendiğinde homozigot AA genotip taşıyan bireylerde nadir A allel (AA+AG genotip) taşıyan bireylere kıyasla yüksek eozinofil yüzdesi bulunmuştur.

6.SONUÇ

Çalışmamızda, ateroskleroz zemininde gelişen koroner arter ektazili ile normal koroner artere sahip hastalar arasında TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 genetik polimorfizmlerinin her 3 genotipinde de görülme sıklığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak yapılacak daha geniş kapsamlı bir çalışmada koroner arter ektazisi ile TGF β 1 rs1800469 ve rs1800470 genetik polimorfizmleri arasındaki ilişki daha net olarak gösterilebilir. Çalışmamızda koroner arter ektazili hastalarda normal koronere sahip kontrol grubuna kıyasla serum TGF β 1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük saptanmıştır. Bu sonuç TGF β 1'in koroner arter ektazisi gelişimine karşı koruyucu etkiye sahip olduğuna işaret edebilir. Ayrıca ; koroner arter ektazili grupta TGF β 1 rs1800470 genetik polimorfizmlerinden G allel (GG+AG genotip) taşıyan bireylerde homozigot AA genotip taşıyan bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek TGF β 1 düzeyleri bulunmuştur. Bu durum TGF β 1 rs1800470 genetik polimorfizminde G allel taşımanın koroner arter ektazisi gelişimine karşı koruyucu olabileceğine işaret edebilir. Çalışmamızda koroner arter ektazili hasta grubu ile normal koroner artere sahip kontrol grubu arasında serum sistatin C düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca erkek cinsiyet oranı, hiperlipidemi ve hipertansiyon mevcudiyeti koroner arter ektazili grupta normal koroner artere sahip kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. Bu durum hiperlipidemi ve hipertansiyon gibi risk faktörlerinin sıkı kontrolünün koroner ektazi girişimine karşı koruyucu olduğuna işaret edebilir. Çalışmamızdaki hasta sayısındaki kısıtlılık nedeni ile ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Björk L. Ectasia of the coronary arteries. *Radiology* 87: 33-34, 1966
2. Hartnell GG, Parnell BM, Pridie RB. Coronary artery ectasia. Its prevalence and

Clinicalsignificance in 4993 patients. *Br Heart J.* 1985 Oct;54(4):392-
3. Yetkin E, Waltenberger J. Novel insights into an old controversy: is coronary artery

Ectasiavariant of coronary atherosclerosis? *Clin Res Cardiol* 96: 331-339, 2007.
4. Swaye PS, Fisher LD, Litwin P, et al. Aneurysmal coronary artery

disease. *Circulation* 1983;67:134–138.
5. Dahhan A. Coronary artery ectasia in atherosclerotic coronary artery disease,

inflammatory disorders, and sickle cell disease. *Cardiovascular Therapeutics* **April**
2015 Pages 79-88
6. Demopoulos VP, Olympios CD, Fakiolas CN, et al. The natural history of

aneurysmal coronary artery disease. *Heart* 1997;78:136–141.
7. Hartnell GG, Parnell BM, Pridie RB. Coronary artery ectasia. Its prevalence and

clinical significance in 4993 patients. *Br Heart J* 1985;54:392–395.
8. Sharma SN, Kaul U, Sharma S, et al. Coronary arteriographic profile in young

and old Indian patients with ischaemic heart disease: a comparative study. *Indian*

Heart J 1990;42:365–369.

9. National Heart, Lung, and Blood Institute Coronary Artery Surgery Study. A multicenter comparison of the effects of randomized medical and surgical treatment of mildly symptomatic patients with coronary artery disease, and a registry of consecutive patients undergoing coronary angiography. *Circulation*. 1981 Jun;63(6 Pt 2):11-81.
10. Maehara A, Mintz GS, Ahmed JM, et al. An intravascular ultrasound classification of angiographic coronary artery aneurysms. *Am J Cardiol* 88: 365-370, 2001.
11. Aqel RA, Zoghbi GJ, Iskandrian A. Spontaneous coronary artery dissection, aneurysms, and pseudoaneurysms: a review. *Echocardiography* 21: 175-182, 2004.
12. Markis JE, Joffe CD, Cohn PF, Feen DJ, Herman MV, Gorlin R. Clinical significance of coronary arterial ectasia. *Am J Cardiol*. 1976 Feb;37(2):217-22.
13. Burhan ÇABUK, Koroner ektazi saptanan hastalarda serum asimatrik dimetilarginin düzeylerinin değerlendirilmesi, 2011
14. Swanton RH, Thomas ML, Coltart DJ, Jenkins BS, Webb-Peploe MM, Williams BT. Coronary artery ectasia—a variant of occlusive coronaryarteriosclerosis. *Br Heart J* 1978;40:393–400.
15. Falsetti HL, Carrol RJ. Coronary artery aneurysm. A review of the literature with a report of 11 new cases. *Chest* 1976;69:630–636.
16. Daoud AS, Pankin D, Tulgan H, Florentin RA. Aneurysms of the coronary artery. Report of ten cases and review of literature. *Am J Cardiol* 1963;11:228–237.

17. Hiraishi S, Yashiro K, Oguchi K, Kusano S, Ishii K, Nakazawa K. Clinical course of cardiovascular involvement in the mucocutaneous lymph node syndrome. Relation between clinical signs of carditis and development of coronary arterial aneurysm. *Am J Cardiol* 1981;47:323–330.
18. Nicholson GT, Hsu DT, Colan SD, Manwani D, Burton WB, Fountain D, Lopez L. Coronary artery dilation in sickle cell disease. *J Pediatr* 2011;159:789–794.e1–2.
19. Stajduhar KC, Laird JR, Rogan KM, Wortham DJ. Coronary arterial ectasia: Increased prevalence in patients with abdominal aortic aneurysm as compared to occlusive atherosclerotic peripheral vascular disease. *Am Heart J* 125:86-92, 1993.
20. Sudhir K, Ports TA, Amidon TM, Goldberger JJ, Brushan V, Kane JP, Yock P, Malloy MJ. Increased prevalence of coronary ectasia in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 91:1375-80, 1995.
21. Sorrell VL, Davis MJ, Bove AA. Current knowledge and significance of coronary artery ectasia: a chronologic review of the literature, recommendations for treatment, possible etiologies, and future considerations. *Clin Cardiol.* 1998 Mar;21(3):157-60.
22. Sorrell VL, Davis MJ, Bove AA. Origins of coronary artery ectasia. *Lancet.* 1996 Jan 20;347(8995):136-7.
23. Atilla İçli, İzole koroner arter ektazi hastalarında endotelial nitrik oksit sentaz gen polimorfizminin (T-786) SDÜ TIP FAKÜLTESİ 2010

24. Virmani R, Robinowitz M, Atkinson JB, Forman MB, Silver MD, McAllister HA. Acquired coronary arterial aneurysms: an autopsy study of 52 patients. *Hum Pathol* 1986;17:575–583.
25. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 316: 1371–1375, 1987.
26. Chatzizisis YS, Jonas M, Coskun AU, et al. Prediction of the localization of highrisk coronary atherosclerotic plaque on the basis of low endothelial shear stress: an intravascular ultrasound and histopathology natural history study. *Circulation* 117: 993-1002, 2008.
27. Virmani R, Robinowitz M, Atkinson JB, Forman MB, Silver MD, McAllister HA. Acquired coronary arterial aneurysms: an autopsy study of 52 patients. *Hum Pathol* 1986;17:575–583.
28. Erden I, Erden EC, Ozhan H, Karabulut A, Ordu S, Yazici M. Outcome of primary percutaneous intervention in patients with infarct-related coronary artery ectasia. *Angiology* 2010;61:574–579.
29. Androulakis AE, Andrikopoulos GK, Kartalis AN, et al. Relation of coronary artery ectasia to diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2004;93:1165–1167.
30. Vavuranakis M, Stefanadis C, Toutouzas K, Pitsavos C, Spanos V, Toutouzas P. Impaired compensatory coronary artery enlargement in atherosclerosis contributes to the development of coronary artery stenosis in diabetic patients. An in vivo intravascular ultrasound study. *Eur Heart J* 1997;18:1090–1094.

31. Lin YJ, Chang JS, Liu X, et al. Sorting nexin 24 genetic variation associates with coronary artery aneurysm severity in Kawasaki disease patients. *Cell Biosci* 2013;3:44.
32. Sudhir K, Ports TA, Amidon TM, et al. Increased prevalence of coronary ectasia in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1995;91:1375–1380.
33. J.F. Bentzon, G. Pasterkamp, E. Falk. Expansive remodeling is a response of the plaque-related vessel wall in aortic roots of apoE-deficient mice: an experiment of nature *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23 (2003), pp. 257-26
34. Y.S. Chatzizisis, A.U. Coskun, M. Jonas, E.R. Edelman, C.L. Feldman, P.H. Stone. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior *J Am Coll Cardiol*, 49 (2007), pp. 2379-2393
35. Y.S. Chatzizisis, A.U. Coskun, M. Jonas, E.R. Edelman, P.H. Stone, C.L. Feldman. Risk stratification of individual coronary lesions using local endothelial shear stress: a new paradigm for managing coronary artery disease *Curr Opin Cardiol*, 22 (2007), pp. 552-564
36. D.P. Mason, R.D. Kenagy, D. Hasenstab, et al. Matrix metalloproteinase-9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery *Circ Res*, 85 (1999), pp. 1179-1185
37. M.F. Prescott, W.K. Sawyer, J. Von Linden-Reed, et al. Effect of matrix metalloproteinase inhibition on progression of atherosclerosis and aneurysm in LDL receptor-deficient mice overexpressing MMP-3, MMP-12, and MMP-13 and on restenosis in rats after balloon injury

38. T.W. Carrell, K.G. Burnand, G.M. Wells, J.M. Clements, A. Smith **Stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are overexpressed in the wall of abdominal aortic aneurysms** *Circulation*, 105 (2002), pp. 477-782
39. G. Pasterkamp, A.H. Schoneveld, D.J. Hijnen, *et al.* **Atherosclerotic arterial remodeling and the localization of macrophages and matrix metalloproteases 1, 2 and 9 in the human coronary artery** *Atherosclerosis*, 150 (2000), pp. 245-253
40. N. Lamblin, C. Bauters, X. Hermant, J.M. Lablanche, N. Helbecque, P. Amouyel **Poly morphisms in the promoter regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 genes as determinants of aneurysmal coronary artery disease** *J Am Coll Cardiol*, 40 (2002), pp. 43-48
41. J. Liu, G.K. Sukhova, J.T. Yang, *et al.* **Cathepsin L expression and regulation in human abdominal aortic aneurysm, atherosclerosis, and vascular cells** *Atherosclerosis*, 184 (2006), pp. 302-311
42. J. Schneiderman, G.M. Bordin, I. Engelberg, *et al.* **Expression of fibrinolytic genes in atherosclerotic abdominal aortic aneurysm wall. A possible mechanism for aneurysm expansion** *J Clin Invest*, 96 (1995), pp. 639-645
43. X.W. Cheng, M. Kuzuya, T. Sasaki, *et al.* **Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries** *Am J Pathol*, 164 (2004), pp. 243-251
44. C.M. Dollery, C.A. Owen, G.K. Sukhova, A. Krettek, S.D. Shapiro, P. Libby **Neutrophil elastase in human atherosclerotic plaques: production by macrophages** *Circulation*, 107 (2003), pp. 2829-2836
45. H. Mabuchi, I. Michishita, Y. Sakai, *et al.* **Coronary ectasia in a homozygous patient with familial hypercholesterolemia** *Atherosclerosis*, 59 (1986), pp. 43-46

46. A. Genda, A. Nakayama, M. Shimizu, *et al.* **Coronary angiographic characteristics in Japanese patients with heterozygous familial hypercholesterolemia** *Atherosclerosis*, 66 (1987), pp. 29-36
47. K. Sudhir, T.A. Ports, T.M. Amidon, *et al.* **Increased prevalence of coronary ectasia in heterozygous familial hypercholesterolemia** *Circulation*, 91 (1995), pp. 1375-1380
48. G.R. Thompson, N.B. Myant, D. Kilpatrick, C.M. Oakley, M.J. Raphael, R.E. Steiner **Assessment of long-term plasma exchange for familial hypercholesterolaemia** *Br Heart J*, 43 (1980), pp. 680-688
49. G. Camejo **The interaction of lipids and lipoproteins with the intercellular matrix of arterial tissue: its possible role in atherogenesis** *Adv Lipid Res*, 19 (1982), pp. 1-53
50. Z.S. Galis, G.K. Sukhova, R. Kranzhofer, S. Clark, P. Libby **Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix-degrading proteinases** *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92 (1995), pp. 402-406
51. Y. Huang, M. Mironova, M.F. Lopes-Virella **Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19 (1999), pp. 2640-2647
52. H. Turhan, A.R. Erbay, A.S. Yasar, *et al.* **Plasma soluble adhesion molecules; intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 and E-selectin levels in patients with isolated coronary artery ectasia** *Coron Artery Dis*, 16 (2005), pp. 45-50
53. H. Yilmaz, G. Tayyareci, N. Sayar, *et al.* **Plasma soluble adhesion molecule levels in coronary artery ectasia** *Cardiology*, 105 (2006), pp. 176-181

54. Antonios P. Antoniadis^a, Yiannis S. Chatzizisis Pathogenetic mechanisms of coronary ectasia **International Journal of Cardiology** November 2008 pp. 335-343
55. M. Savino, Q. Parisi, G.G. Biondi-Zoccai, C. Pristipino, D. Cianflone, F. Crea **New insights into molecular mechanisms of diffuse coronary ectasiae: a possible role for VEGF** *Int J Cardiol*, 106 (2006), pp. 307-312
56. E.N. Unemori, N. Ferrara, E.A. Bauer, E.P. Amento **Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells** *J Cell Physiol*, 153 (1992), pp. 557-562
57. J.H. Dwyer, H. Allayee, K.M. Dwyer, *et al.* **Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis** *N Engl J Med*, 350 (2004), pp. 29-37
58. L. Zhao, M.P. Moos, R. Grabner, *et al.* **The 5-lipoxygenase pathway promotes pathogenesis of hyperlipidemia-dependent aortic aneurysm** *Nat Med*, 10 (2004), pp. 966-973
59. F. Cipollone, A. Mezzetti, M.L. Fazia, *et al.* **Association between 5-lipoxygenase expression and plaque instability in humans** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25 (2005), pp. 1665-1670
60. A.K. Adiloglu, R. Can, C. Nazli, *et al.* **Ectasia and severe atherosclerosis: relationships with *Chlamydia pneumoniae*, helicobacter pylori, and inflammatory markers** *Tex Heart Inst J*, 32 (2005), pp. 21-27
61. G. Arno, J.C. Kaski, D.A. Smith, J.P. Akiyu, S.E. Hughes, C. Baboonian **Matrix metalloproteinase-9 expression is associated with the presence of *Chlamydia pneumoniae* in human coronary atherosclerotic plaques** *Heart*, 91 (2005), pp. 521-525

62. A. Kol, G.K. Sukhova, A.H. Lichtman, P. Libby **Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase expression** *Circulation*, 98 (1998), pp. 300-307
63. B.M. Singh, J.L. Mehta **Interactions between the renin-angiotensin system and dyslipidemia: relevance in the therapy of hypertension and coronary heart disease** *Arch Intern Med*, 163 (2003), pp. 1296-1304
64. H. Uyarel, E. Okmen, Z. Tartan, *et al.* **The role of angiotensin converting enzyme genotype in coronary artery ectasia** *Int Heart J*, 46 (2005), pp. 89-96
65. B. Schieffer, E. Schieffer, D. Hilfiker-Kleiner, *et al.* **Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques: potential implications for inflammation and plaque instability** *Circulation*, 101 (2000), pp. 1372-1378
66. V. Sorrell, M. Davis, A. Bove **Origins of coronary artery ectasia** *The Lancet*, 347 (1996), pp. 136-137
67. J.M. Johanning, D.P. Franklin, D.C. Han, D.J. Carey, J.R. Elmore **Inhibition of inducible nitric oxide synthase limits nitric oxide production and experimental aneurysm expansion** *J Vasc Surg*, 33 (2001), pp. 579-586
68. J.M. Johanning, P.J. Armstrong, D.P. Franklin, D.C. Han, D.J. Carey, J.R. Elmore **Nitric oxide in experimental aneurysm formation: early events and consequences of nitric oxide inhibition** *Ann Vasc Surg*, 16 (2002), pp. 65-72
69. A.R. Porcalla, C.A. Sable, K.M. Patel, G.R. Martin, N. Singh **The epidemiology of Kawasaki disease in an urban hospital: does African American race protect against coronary artery aneurysms?** *Pediatr Cardiol*, 26 (2005), pp. 775-781
70. . Murase, K. Yagi, J. Kobayashi, *et al.* **Association of coronary artery ectasia with plasma insulin levels in Japanese men of heterozygous familial**

hypercholesterolemia with the low-density lipoprotein receptor gene mutation

K790X Clin Chim Acta, 355 (2005), pp. 33-39

71. P.W. Anderson, X.Y. Zhang, J. Tian, *et al.* **Insulin and angiotensin II are additive in stimulating TGF-beta 1 and matrix mRNAs in mesangial cells** Kidney Int, 50 (1996), pp. 745-753
72. G.D. Giannoglou, J.V. Soulis, T.M. Farmakis, D.M. Farmakis, G.E. Louridas **Haemodynamic factors and the important role of local low static pressure in coronary wall thickening** Int J Cardiol, 86 (2002), pp. 27-40
73. Y.S. Chatzizisis, A.U. Coskun, M. Jonas, E.R. Edelman, C.L. Feldman, P.H. Stone **Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior** J Am Coll Cardiol, 49 (2007), pp. 2379-2393
74. Y.S. Chatzizisis, A.U. Coskun, M. Jonas, E.R. Edelman, P.H. Stone, C.L. Feldman **Risk stratification of individual coronary lesions using local endothelial shear stress: a new paradigm for managing coronary artery disease** Curr Opin Cardiol, 22 (2007), pp. 552-564
75. Befeler B, Aranda MJ, Embi A et al (1977) Coronary artery aneurysms: study of their etiology, clinical course, and effect on left ventricular function and prognosis. Am J Med 62:597–607
76. Demopoulos V, Olympios C, Fakiolas C, et al (1997) The natural history of aneurysmal coronary artery disease. Heart 78:136–141
77. Swaye PS, Fisher LD, Litwin P, et al (1983) Aneurysmal coronary artery disease. Circulation 67:134–138

78. Giannoglou GD, Antoniadis AP, Chatzizisis YS, et al (2006) Prevalence of Ectasia in Human Coronary Arteries in Patients in Northern Greece Referred for Coronary Angiography. *Am J Cardiol* 98:314–318
79. Chrissoheris MP, Donohue TJ, Young RS, Ghantous A. Coronary Artery Aneurysms. *Cardiol in Rev* 16: 116-123, 2008.
80. Turkmen M, Bitigen A, Esen MA. Coronary artery ectasia: Review. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 26:68-72, 2006.
81. Akyürek Ö, Berkalp B, Sayin T, Kumbasar D, Kervancioğlu C. Altered coronary flow properties in diffuse coronary artery ectasia. *Am Heart J* 145:66-72, 2003. 44
82. Papadakis MC, Manginas A, Cotileas P, et al. Documentation of slow coronary flow by the TIMI frame count in patients with coronary ectasia. *Am J Cardiol* 88: 1030-1032, 2001.
83. Mattern AL, Baker WP, McHale JJ, Lee DE. Congenital coronary aneurysms with angina pectoris and myocardial infarction treated with saphenous vein bypass graft. *Am J Cardiol* 30: 906-909, 1972.
84. 48. Berkoff HA, Rowe GG. Atherosclerotic ulcerative disease and associated aneurysms of the coronary arteries. *Am Heart J* 90: 153-158, 1975.
85. Gulec S, Atmaca Y, Kilickap M, Akyürek O, Aras O, Oral D. Angiographic assessment of myocardial perfusion in patients with isolated coronary artery ectasia. *Am J Cardiol* 91:996-99, 2003.
86. Krüger D, Stierle U, Herrmann G, Simon R, Sheikhzadeh A. Exercise-induced myocardial ischemia in isolated coronary artery ectasias and aneurysms (“dilated coronopathy”). *J Am Coll Cardiol* 1999;**34**:1461–1470.

87. Sorrell VL, Davis MJ, Bove AA. Current knowledge and significance of coronary artery ectasia: a chronologic review of the literature, recommendations for treatment, possible etiologies, and future considerations. *Clin Cardiol* 1998;**21**:157–160.
88. Hart JJ, Joslin CG. Coronary artery ectasia. *Kans Med* 1998;**98**:6–9.
89. Baman TS, Cole JH, Devireddy CM, Sperling LS. Risk factors and outcomes in patients with coronary artery aneurysms. *Am J Cardiol* 2004;**93**:1549–1551.
90. Fauci AS, Doppman JL, Wolff SM. Cyclophosphamide-induced remissions in advanced polyarteritis nodosa. *Am J Med* 1978;**64**:890–894.
91. Turhan H, Yetkin E. What is the plausible strategy for the management of patients with isolated coronary artery ectasia and myocardial ischemia? *Int J Cardiol* 2007;**117**:285–286.
92. Yasar AS, Erbay AR, Ayaz S, Turhan H, Metin F, Ilkay E, Sabah I. Increased platelet activity in patients with isolated coronary artery ectasia. *Coron Artery Dis* 2007;**18**:451–454.
93. Perlman PE, Ridgeway NA. Thrombosis and anticoagulation therapy in coronary ectasia. *Clin Cardiol* 1989;**12**:541–542.
94. Tunick PA, Slater J, Kronzon I, Glassman E. Discrete atherosclerotic coronary artery aneurysms: a study of 20 patients. *J Am Coll Cardiol* 1990;**15**:279–282.
95. Yip HK, Chen MC, Wu CJ, et al. Clinical features and outcome of coronary artery aneurysm in patients with acute myocardial infarction undergoing a primary percutaneous coronary intervention. *Cardiology* 2002;**98**:132–140.
96. Geri G, Wechsler B, Thi Huong du L, et al. Spectrum of cardiac lesions in Behçet disease: a series of 52 patients and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2012;**91**:25–34.

97. Hoppe C, Kuypers F, Larkin S, Hagar W, Vichinsky E, Styles L. A pilot study of the short-term use of simvastatin in sickle cell disease: effects on markers of vascular dysfunction. *Br J Haematol* 2011;**153**:655–663.
98. Ozbay Y, Akbulut M, Balin M, Kayancicek H, Baydas A, Korkmaz H. The level of hs-CRP in coronary artery ectasia and its response to statin and angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment. *Mediators Inflamm* 2007;**2007**:89649.
99. Williams RM, Moskowitz DW. The prevention of pain from sickle cell disease bytrandolapril. *J Natl Med Assoc* 2007;**99**:276–278.
100. Kim W, Jeong MH, Ahn YK, Cho JG, Park JC, Kang JC. The changes of fractional flow reserve after intracoronary nitrate and Nicorandil injection in coronary artery ectasia. *Int J Cardiol* 2006;**113**:250–251.
101. Beltrame JF, Turner SP, Leslie SL, Solomon P, Freedman SB, Horowitz JD. The angiographic and clinical benefits of mibefradil in the coronary slow flow phenomenon. *J Am Coll Cardiol* 2004;**44**:57–62.
102. Wilson CS, Weaver WF, Forker AD. Bilateral arteriosclerotic coronary arterial aneurysms successfully treated with saphenous vein bypass grafting. *Am J Cardiol* 1975;**35**:315–318.
103. Harandi S, Johnston SB, Wood RE, Roberts WC. Operative therapy of coronary arterial aneurysm. *Am J Cardiol* 1999;**83**:1290–1293.
104. Ghanta RK, Paul S, Couper GS. Successful revascularization of multiple coronary artery aneurysms using a combination of surgical strategies. *Ann Thorac Surg* 2007;**84**:e10–e11.
105. Aintablian A, Hamby RI, Hoffman I, Kramer RJ. Coronary ectasia: incidence and results of coronary bypass surgery. *Am Heart J* 1978;**96**:309–315.

106. Otsuka M, Minami S, Hato K, et al. Acute myocardial infarction caused by thrombotic occlusion of a coronary aneurysm. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1997;**41**:423–425.
107. Hokimoto S, Saito T, Noda K, et al. Relation between coronary thrombus and angiographic no-flow during primary angioplasty in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J* 1999;**63**:849–853.
108. Vavuranakis M, Stefanadis C, Eaton G, Toutouzas P. Transluminal extraction catheter atherectomy for the treatment of acute occlusion of an ectatic coronary artery. *J Invasive Cardiol* 1999;**11**:513–516.
109. Oh SK, Rha SW, Kook H, et al. Two different successful angioplasty methods in patients with stenotic coronary artery ectasia. *Chonnam Med J* 2012;**48**:185–189.
110. Marta Ruiz-Ortega Juan Rodríguez-Vita, TGF- β signaling in vascular fibrosis, *Cardiovascular Research*, Volume 74, Issue 2, 1 May 2007, Pages 196–206
111. Massague J. Seoane J. Wotton D. Smad transcription factors *Genes Dev* 2005 19 2783 2810
112. Javelaud D. Mauviel A. Mammalian transforming growth factor-betas: Smad signaling and physiopathological roles *Int J Biochem Cell Biol* 2004 36 1161 1165
113. Moustakas A. Pardali K. Gaal A. Heldin C.H. Mechanisms of TGF- β signaling in regulation of cell growth and differentiation *Immunol Lett* 2002 82 85 91
114. Annes J.P. Munger J.S. Rifkin D.B. Making sense of latent TGFbeta activation *J Cell Sci* 2003 116 217 224
115. Leask A. Abraham D.J. TGF- β signaling and the fibrotic response *FASEB J* 2004 18 816 817

116. Gibbons G.H. Pratt R.E. Dzau V.J. Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs. Hyperplasia. Autocrine transforming growth factor- β 1 expression determines growth responses to angiotensin J Clin Invest 1992 90 456 461
117. Weigert C. Brodbeck K. Klopfer K. Häring H.U. Schleicher E.D. Angiotensin II induces human TGF- β 1 promoter activation: similarity to hyperglycaemia Diabetologia 2002 45 890 898
118. Naito T. Masaki T. Nikolic-Paterson D.J. Tanji C. Yorioka Kohno N. Angiotensin II induces thrombospondin-1 production in human mesangial cells via p38 MAPK and JNK: a mechanism for activation of latent TGF- β 1 Am J Physiol Renal Physiol 2004 286 F278 F287
119. Wang M. Zhao D. Spinetti G. Zhang J. Jiang L.Q. Pintus G. et al. Matrix metalloproteinase 2 activation of transforming growth factor- β 1 (TGF- β) and TGF- β 1-type II receptor signaling within the aged arterial wall Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006 26 1503 1509
120. Song C.Y. Kim B.C. Hong H.K. Lee H.S. Oxidized LDL activates PAI-1 transcription through autocrine activation of TGF- β signaling in mesangial cells Kidney Int 2005 67 1743 1752
121. Berk B.C. Vascular smooth muscle growth: autocrine growth mechanisms Physiol Rev 2001 81 3 999 1030
122. Zegarska J. Paczek L. Pawlowska M. Wyczalkowska A. Michalska W. Ziolkowski J. et al. Increased mRNA expression of transforming growth factor beta in the arterial wall of chronically rejected renal allografts in humans Transplant Proc 2006 38 115 118

123. Ryan S.T. Koteliensky V.E. Gotwals P.J. Lindner V. Transforming growth factor-beta-dependent events in vascular remodeling following arterial injury J Vasc Res 2003 40 37 46
124. Grainger D.J. Transforming growth factor-b and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004 24 399 404
125. Grainger DJ. TGF- β and Atherosclerosis in Man. Cardiovasc Res in press (Accepted Manuscript, Available online 23 February 2007).
126. Euler-Taimor G. Heger J. The complex pattern of SMAD signaling in the cardiovascular system Cardiovasc Res 2006 69 15 25
127. Khan R. Sheppard R. Fibrosis in heart disease: understanding the role of transforming growth factor-beta in cardiomyopathy, valvular disease and arrhythmia Immunology 2006 118 10 14
128. Zacchigna L. Vecchione C. Notte A. Cordenonsi M. Dupont S. Maretto S. et al. Emilin 1 links TGF- β maturation to blood pressure homeostasis Cell 2006 124 929 932
129. Dai J. Losy F. Guinault A.M. Pages C. Anegon I. Desgranges P. et al. Overexpression of transforming growth factor-beta1 stabilizes already-formed aortic aneurysms: a first approach to induction of functional healing by endovascular gene therapy Circulation 2005 112 7 1008 1015
130. Loeys B.L. Schwarze U. Holm T. Callewaert B.L. Thomas G.H. Pannu H. et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF- β receptor N Engl J Med 2006 355 788 798

131. Habashi J.P. Judge D.P. Holm T.M. Cohn R.D. Loeys B.L. Cooper T.K. et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome *Science* 2006 312 5770 117 121
132. Verrecchia F. Mauviel A. Transforming growth factor-beta signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation *J Invest Dermatol* 2002 118 211 215
133. Ruiz-Ortega M. Ruperez M. Esteban V. Egido J. Molecular mechanisms of angiotensin II-induced vascular injury *Curr Hypertens Rep* 2003 5 73 79
134. Li J.H. Huang X.R. Zhu H.J. Johnson R. Lan H.Y. Role of TGF- β signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions *Kidney Int* 2003 63 2010 2019
135. Li J.H. Huang X.R. Zhu H.J. Oldfield M. Cooper M. Truong L.D. et al. Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF- β -dependent and independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease *FASEB J* 2004 18 176 178
136. Roberts A.B. TGF- β signaling from receptors to the nucleus *Microbes Infect* 1999 1 1265 1273
137. Graham H. Peng C. Activin receptor-like kinases: structure, function and clinical implications *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2006 6 45 58
138. Lebrin F. Deckers M. Bertolino P. Ten Dijke P. TGF- β receptor function in the endothelium *Cardiovasc Res* 2005 65 599 608
139. Seki T. Hong K.H. Oh S.P. Nonoverlapping expression patterns of ALK1 and ALK5 reveal distinct roles of each receptor in vascular development *Lab Invest* 2006 86 116 119

140. Koleva R.I. Conley B.A. Romero D. Riley K.S. Marto J.A. Lux A. et al.
Endoglin structure and function: determinants of endoglin phosphorylation by
TGFbeta receptors J Biol Chem 2006 281 25110 25119
141. Fonsatti E. Del Vecchio L. Altomonte M. Sigalotti L. Nicotra M.R. Coral S. et
al. Endoglin: an accessory component of the TGF- β -binding receptor-complex with
diagnostic, prognostic, and bioimmunotherapeutic potential in human malignancies J
Cell Physiol 2001 188 1 7
142. Bernard D.J. Chapman S.C. Woodruff T.K. Inhibin binding protein
(InhBP/p120), betaglycan, and the continuing search for the inhibin receptor Mol
Endocrinol 2002 16 207 212
143. Nakao A. Okumura K. Ogawa H. Smad7: a new key player in TGF- β -
associated disease Trends Mol Med 2002 8 361 363
144. Ikeda H. Tamaki K. Ueda S. Kato S. Fujii M. Ten Dijke P. et al. Smad protein
and TGF- β signaling in vascular smooth muscle cells Int J Mol Med 2003 11 645 650
145. Rodriguez-Vita J. Sanchez-Lopez E. Esteban V. Ruperez M. Egido J. Ruiz-
Ortega M. Angiotensin II activates the Smad pathway in vascular smooth muscle cells
by a transforming growth factor-beta-independent mechanism Circulation 2005 111
2509 2517
146. Wang W. Huang X.R. Canlas E. Oka K. Truong L.D. Deng C. et al. Essential
role of Smad3 in angiotensin II-induced vascular fibrosis Circ Res 2006 98 1032 1039
147. Perbal B. CCN proteins: multifunctional signalling regulators Lancet 2004 363
62 64
148. Oemar B.S. Werner A. Garnier J.M. Do D.D. Godoy N. Nauck M. et al.
Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic
lesions Circulation 1997 18 831 839

149. Chen M.M. Lam A. Abraham J.A. Schreiner G.F. Joly A.H. CTGF expression is induced by TGF- β in cardiac fibroblasts and cardiac myocytes: a potential role in heart fibrosis J Mol Cell Cardiol 2000 32 1805 1809
150. Finckenberg P. Lassila M. Inkinen K. Pere A.K. Krogerus L. Lindgren L. et al. Cyclosporine induces myocardial connective tissue growth factor in spontaneously hypertensive rats on high-sodium diet Transplantation 2001 71 951 958
151. Ruperez M. Lorenzo O. Blanco-Colio L.M. Esteban V. Egido J. Ruiz-Ortega M. Connective tissue growth factor is a mediator of angiotensin II-induced fibrosis Circulation 2003 108 1499 1505
152. Fan W.H. Pech M. Karnovsky M.J. Connective tissue growth factor (CTGF) stimulates vascular smooth muscle cell growth and migration in vitro Eur J Cell Biol 2000 79 915 923
153. Rodriguez-Vita J. Ruiz-Ortega M. Ruperez M. Esteban V. Sanchez-Lopez E. Plaza J.J. et al. Endothelin-1, via ETA receptor and independently of transforming growth factor-beta, increases the connective tissue growth factor in vascular smooth muscle cells Circ Res 2005 97 125 134
154. Abreu J.G. Ketpura N.I. Reversade B. De Robertis E.M. Connective-tissue growth factor (CTGF) modulates Cell Signalling by BMP and TGF- β Nat Cell Biol 2002 4 599 604
155. Wahab N.A. Weston B.S. Mason R.M. Modulation of the TGF- β /Smad signaling pathway in mesangial cells by CTGF/CCN2 Exp Cell Res 2005 307 305 314
156. Tuñon J. Ruiz-Ortega M. Egido J. Regulation of matrix proteins and impact on vascular structure Curr Hypertens Rep 2000 2 106 113
157. Osman Kayapınar, Enver Sinan Albayrak, İzole Sol Ventrikül Diyastolik Disfonksiyonu ve Serum Sistatin C İlişkisi, Düzce Üniversitesi 2011

158. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995; 47(1):312-8. 47
159. Palsdottir A, Abrahamson M, Thorsteinsson L, Arnason A, Olafsson I, Grubb A, Jensson O. Mutation in cystatin C gene causes hereditary brain haemorrhage. *Lancet*, 1988; 2: 603-604
160. Ghiso J, Pons –Estel B, Frangione B. Hereditary cerebral amyloid angiopathy : the amyloid fibrils contain a protein which is a variant of cystatin C, an inhibitor of lysosomal cysteine proteases. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986; 136(2): 548- 54.
161. Ekiel I, Abrahamson M. Folding- related dimerization of human cystatin C. *Am Soc Bioc Mol Bio*, 1996; 271(3):1314-1321
162. Newman D. More on cystatin C. *Clin Chem*. 1999; 45: 718-719.
163. Grubb A, Abrahamson M, Olafsson I, Trojnar J, Kasprzykowska R, Kasprzykowski F, Grzonka Z. Synthesis of cysteine proteinase inhibitors structurally based on the proteinase interacting N-terminal region of human cystatin C. *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1990; 371: 137-44.
164. Bökenkamp A, Vijk J, Lentze M. Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and β 2-mikroglobulin concentrations. *Clin Chem*, 2002; 1123-1126.
165. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C : a replacement for creatinine as a biochemical marker of GFR. *Kidney Int Supp*, 1994;47:20-22.
166. Oberbauer R, Nenov V, Wedekam C, Haas M, Szekeres T, Mayer G. Reduction in mesanglomerular pore size coincides with the development of large shunt pores in patients with diabetic nephropathy. *Nephrology*, 2001; 9:49-5

167. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W. Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. Clin Biochem, 2005; 38: 1-8. 36. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. Clin Nephrol, 1992; 20-27.
168. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. Clin Nephrol, 1992; 20-27.
169. Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routine measurement of human cystatin C. Clin Chem Lab Med, 1998; 36(11): 859-865. 49
170. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. Clin Chem, 1999; 45: 1866-1868.
171. Lerner UH, Johanson L, Ransjö M, Rosenquist JB, Reinholt FP, Grubb A. Cystatin C, an inhibitor of bone resorption produced by osteoblasts. Acta Physiol Scand, 1997; 161: 81-92.
172. Kabanda A, Jadoul M, Lauwerys R, Bernard A. Low molecular weight proteinuria in Chinese herbs nephropathy. Kidney Int, 1995; 48(5): 1571-1576.
173. Randers E, Erlands E J. Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function: a review. Clin Chem Lab Med, 1999; 37(4): 389-95.
174. Gökkuşu CA, Özden TA, Gül H, Yıldız A. Relationship between plasma cystatin C and creatinine in chronic renal diseases and Tx-transplant patients. Clin Bioc, 2004; 37: 94-97.
175. J. Lassus, V.P. Harjola, C. CystatinA **step forward in assessing kidney function and cardiovascular risk** Heart Fail Rev, 17 (2012), pp. 251-261

176. E. Yetkin, J. Waltenberger **Cathepsin enzymes and cystatin C: do they play a role in positive arterial remodeling?** *Stroke*, 40 (2009), pp. e26-e27
177. X.W. Cheng, Z. Huang, M. Kuzuya, K. Okumura, T. Murohara **Cysteine protease cathepsins in atherosclerosis-based vascular disease and its complications** *Hypertension*, 58 (2011), pp. 978-986
178. X. Li, Z. Liu, Z. Cheng, X. Cheng **Cysteinyll cathepsins: multifunctional enzymes in cardiovascular disease** *Chonnam Med J*, 48 (2012), pp. 77-85
179. F. Lohoefer, C. Reeps, C. Lipp, M. Rudelius, A. Zimmermann, S. Ockert, H.H. Eckstein, J. Pelisek **Histopathological analysis of cellular localization of cathepsins in abdominal aortic aneurysm** *Wall Int J Exp Pathol*, 93 (2012), pp. 252-258
180. G.P. Shi, G.K. Sukhova, A. Grubb, A. Ducharme, L.H. Rhode, R.T. Lee, P.M. Ridker, P. Libby, H.A. Chapman **Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms** *J Clin Invest*, 104 (1999), pp. 1191-1197
181. J.S. Lindholt, E.J. Erlandsen, E.W. Henneberg **Cystatin C deficiency is associated with the progression of small abdominal aortic aneurysms** *Br J Surg*, 88 (2001), pp. 1472-1475
182. G.K. Sukhova, B. Wang, P. Libby, J.H. Pan, Y. Zhang, A. Grubb, K. Fang, H. A. Chapman, G.P. Shi **C deficiency increases elastic lamina degradation and aortic dilatation in apolipoprotein e-null mice** *Circ Res*, 96 (2005), pp. 368-375

183. E. Bengtsson, F. To, K. Hakansson, A. Grubb, L. Branen, J. Nilsson, S. Jovinge
Lack of the cysteine protease inhibitor cystatin C promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25 (2005), pp. 2151-2156
184. P. Puddu, G.M. Puddu, E. Cravero, L. Vizioli, A. Muscarì
Relationships among hyperuricemia, endothelial dysfunction and cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications *J Cardiol*, 59 (2012), pp. 235-242
185. L. Xie, J. Terrand, B. Xu, G. Tsapralis, J. Boyer, Q.M. Chen
Cystatin C increases in cardiac injury: a role in extracellular matrix protein modulation *Cardiovasc Res*, 87 (2010), pp. 628-635
186. S. Schulte, J. Sun, P. Libby, L. Macfarlane, C. Sun, M. Lopez-Illasaca, G.P. Shi, G.K. Sukhova
C deficiency promotes inflammation in angiotensin II-induced abdominal aortic aneurisms in atherosclerotic mice *Am J Pathol*, 177 (2010), pp. 456-463
187. A. Jasir, F. Kasprzykowski, R. Kasprzykowska, V. Lindstrom, C. Schalen, A. Grubb
New antimicrobial cystatin C-based peptide active against gram-positive bacterial pathogens, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multiresistant coagulase-negative staphylococci *APMIS*, 111 (2003), pp. 1004-1010
188. P. Eriksson, H. Deguchi, A. Samnegard, P. Lundman, S. Boquist, P. Tornvall, C.G. Ericsson, L. Bergstrand, L.O. Hansson, S. Ye, A. Hamsten
Human evidence that the cystatin C gene is implicated in focal progression of coronary artery disease *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24 (2004), pp. 551-557

189. J.V. Salgado, A.K. Franca, N.A. Cabral, J. Lages, V.S. Ribeiro, A.M. Santos, B.J. Salgado **Cystatin C, kidney function, and cardiovascular risk factors in primary hypertension** *Rev Assoc Med Bras*, 59 (2013), pp. 21-27
190. T.H. Dent **Predicting the risk of coronary heart disease. II. The role of novel molecular biomarkers and genetics in estimating risk, and the future of risk prediction** *Atherosclerosis*, 213 (2010), pp. 352-362
191. G. Urbonaviciene, G.P. Shi, S. Urbonavicius, E.W. Henneberg, J.S. Lindholt **Higher cystatin C level predicts long-term mortality in patients with peripheral arterial disease** *Atherosclerosis*, 216 (2011), pp. 440-445
192. M. Loew, M.M. Hoffmann, W. Koenig, H. Brenner, D. Rothenbacher **Genotype and plasma concentration of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25 (2005), pp. 1470-1474
193. M. Lee, J.L. Saver, W.H. Huang, J. Chow, K.H. Chang, B. Ovbiagele **Impact of elevated cystatin C level on cardiovascular disease risk in predominantly high cardiovascular risk populations: a meta-analysis** *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 3 (2010), pp. 675-683
194. F.F. Gu, S.Z. Lu, Y.D. Chen, Y.J. Zhou, X.T. Song, Z.N. Jin, H. Liu **Relationship between plasma cathepsin S and cystatin C levels and coronary plaque morphology of mild to moderate lesions: an in vivo study using intravascular ultrasound** *Chin Med J (Engl)*, 122 (2009), pp. 2820-2826
195. A. Batra, A. Kapoor, R.K. Sharma, N. Agrawal, A. Sinha, S. Kumar, N. Garg, S. Tewari, P.K. Goel **Association of plasma cystatin C levels with angiographically documented coronary artery disease in patients of Indian origin** *J Cardiol*, 59 (2012), pp. 182-189

196. João VictorSalgadoBSc, PharmD, MHS**How to understand the association between cystatin C levels and cardiovascular disease: Imbalance, counterbalance, or consequence? *Journal of Cardiology* Volume 62, Issue 6, December 2013, Pages 331-335**

197. Mak M, Misiak B, Frydecka D, Pełka-Wysiecka J, Kucharska-Mazur J, Samochowiec A, Bieńkowski P, Pawlak-Adamska E, Karabon L, Szmida E, Skiba P, Kotowicz K, Piotrowski P, Beszłej JA, Samochowiec J. Polymorphisms in immune-inflammatory response genes and the risk of deficit schizophrenia. *Schizophr Res.* 2017 Jun 30. pii: S0920-9964(17)30389-4

198. Wang HB, Song WG, Liu HQ, Fang F, Xiao Y. Role of TGFB1 polymorphism in the development of metastatic brain tumors in non-small cell lung cancer patients *Genet Mol Res.* 2015 Apr 17;14(2):3545-50

199. Sepanjnia A, Eskandari-Nasab E, Moghadampour M, Tahmasebi A, Dahmardeh F. TGFβ1 genetic variants are associated with an increased risk of acute brucellosis. *Infect Dis (Lond).* 2015 Jul;47(7):458-64

200. Fan H, Yu H, Deng H, Chen X. Transforming growth factor-β1 rs1800470 polymorphism is associated with lung cancer risk: a meta-analysis. *Med Sci Monit.* 2014 Nov 20;20:2358-62

201. Almeida NP, Santana GO, Almeida TC, Bendicho MT, Lemaire DC, Cardeal M, Lyra AC. Polymorphisms of the cytokine genes TGFB1 and IL10 in a mixed-race population with Crohn's disease. *BMC Res Notes.* 2013 Sep 27;6:387

202. Cao H, Zhou Q, Lan R, Røe OD, Chen X, Chen Y, Wang D. A Functional Polymorphism C-509T in *TGFβ-1* Promoter Contributes to Susceptibility and

Prognosis of Lone Atrial Fibrillation in Chinese Population PLoS One. 2014 Nov 17;9(11):e112912

203. Chou HT, Chen CH, Tsai CH, Tsai FJ Association between transforming growth factor-beta1 gene C-509T and T869C polymorphisms and rheumatic heart disease Am Heart J. 2004 Jul;148(1):181-6.
204. Cruz M, Fragoso JM, Alvarez-León E, Escobedo-de-la-Peña J, Valladares A, Juárez-Cedillo T, Pérez-Méndez O, Vargas-Alarcón G. The TGF-B1 and IL-10 gene polymorphisms are associated with risk of developing silent myocardial ischemia in the diabetic patients. Immunol Lett. 2013 Nov-Dec;156(1-2):18-22
205. Morris DR, Moxon JV, Biros E, Krishna SM, Golledge J. Meta-analysis of the association between transforming growth factor-beta polymorphisms and complications of coronary heart disease. PLoS One. 2012;7(5):e37878
206. Koch W, Hoppmann P, Mueller JC, Schömig A, Kastrati A. Association of transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms with myocardial infarction in patients with angiographically proven coronary heart disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006 May;26(5):1114-9. Epub 2006 Mar 16
207. Yokota M, Ichihara S, Lin TL, Nakashima N, Yamada Y. Association of a T29→C polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to myocardial infarction in Japanese. Circulation. 2000;101:2783–2787.
208. Fragoso JM, Zuñiga-Ramos J, Arellano-González M, Alvarez-León E, Villegas-Torres BE, Cruz-Lagunas A, Delgadillo-Rodriguez H, Peña-Duque MA, Martínez-Ríos MA, Vargas-Alarcón G. The T29C (rs1800470) polymorphism of the transforming growth factor-β1 (TGF-β1) gene is associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients. Exp Mol Pathol. 2015 Feb;98(1):13-7. doi: 10.1016/j.yexmp.2014.11.007. Epub 2014 Nov 13.

209. Zuo S, Xiong J, Wei Y, Chen D, Chen F, Liu K, Wu T, Hu Y, Guo W. Potential Interactions Between Genetic Polymorphisms of the Transforming Growth Factor- β Pathway and Environmental Factors in Abdominal Aortic Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2015 Jul;50(1):71-7. doi: 10.1016/j.ejvs.2015.04.010. Epub 2015 May 29.
210. Kuo HC, Li SC, Guo MM, Huang YH, Yu HR, Huang FC, Jiao F, Kuo HC, Andrade J, Chan WC. Genome-Wide Association Study Identifies Novel Susceptibility Genes Associated with Coronary Artery Aneurysm Formation in Kawasaki Disease. *PLoS One*. 2016 May 12;11(5):e0154943. doi: 10.1371/journal.pone.0154943. eCollection 2016.
211. Lin YJ, Chang JS, Liu X, Tsang H, Chien WK, Chen JH, Hsieh HY, Hsueh KC, Shiao YT, Li JP, Lin CW, Lai CH, Wu JY, Chen CH, Lin JG, Lin TH, Liao CC, Huang SM, Lan YC, Ho TJ, Liang WM, Yeh YC, Lin JC, Tsai FJ. Genetic variants in *PLCB4/PLCB1* as susceptibility loci for coronary artery aneurysm formation in Kawasaki disease in Han Chinese in Taiwan. *Sci Rep*. 2015 Oct 5;5:14762. doi: 10.1038/srep14762.
212. Lee CP, Huang YH, Hsu YW, Yang KD, Chien HC, Yu HR, Yang YL, Wang CL, Chang WC, Kuo HC. *TARC/CCL17* gene polymorphisms and expression associated with susceptibility and coronary artery aneurysm formation in Kawasaki disease. *Pediatr Res*. 2013 Nov;74(5):545-51. doi: 10.1038/pr.2013.134. Epub 2013 Aug 13.
213. Arif Yalcin A, Faruk Akturk I, Celik O, Erturk M, Sabri Hancer V, Yalcin B, Isiksacan N, Uzun F, Ozbey Ozyilmaz S, Biyik I. Coronary artery ectasia is associated with the c.894G>T (Glu298Asp) polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Tohoku J Exp Med*. 2014 Feb;232(2):137-44.

214. Hsu PC, Wang CL, Su HM, Juo SH, Lin TH, Voon WC, Shin SJ, Lai WT, Sheu SH. The hOGG1 Ser326Cys gene polymorphism and the risk of coronary ectasia in the Chinese population. *Int J Mol Sci.* 2014 Jan 22;15(1):1671-82.
215. Gülec S, Aras O, Atmaca Y, Akyürek O, Hanson NQ, Sayin T, Tsai MY, Akar N, Oral D. Deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is a potent risk factor for coronary artery ectasia. *Heart.* 2003 Feb;89(2):213-4. No abstract available.
216. Akdemir R, Ozhan H, Gunduz H, Erbilin E, Yazici M, Duran S, Orkunoglu F, Albayrak S, Imirzalioglu N, Uyan C. HLA-DR B1 and DQ B1 polymorphisms in patients with coronary artery ectasia. *Acta Cardiol.* 2004 Oct;59(5):499-502.
217. Gunes Y, Boztosun B, Yildiz A, Metin Esen A, Saglam M, Bulut M, Karapinar H, Kirma C. Clinical profile and outcome of coronary artery ectasia. *Heart.* 2006 Aug;92(8):1159-60
218. Pinar Bermúdez E, López Palop R, Lozano Martínez-Luengas I, Cortés Sánchez R, Carrillo Sáez P, Rodríguez Carreras R, Picó Aracil F, Valdés Chávarri M.[Coronary ectasia: prevalence, and clinical and angiographic characteristics]. *Rev Esp Cardiol.* 2003 May;56(5):473-9. Spanish
219. Dr. Hale Yılmaz, Dr. Nurten Sayar, Dr. Mehmet Yılmaz,¹ Dr. Burak Tangürek, Dr. Nazmiye Çakmak, Dr. Ufuk Gürkan, Dr. Mehmet Gül, Dr. Dilek Şimşek, Dr. Osman Bolca. Coronary artery ectasia: clinical and angiographical evaluation. *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol* 2009;36(8):530-535
220. Yetkin E, Acikgoz N, Sivri N, Tekin GO, Yagmur J, Aksoy Y, Turhan H. Increased plasma levels of cystatin C and transforming growth factor-beta1 in patients

with coronary artery ectasia: can there be a potential interaction between cystatin C and transforming growth factor-beta1. *Coron Artery Dis.* 2007 May;18(3):211-4.

221. Theodoros A. Zografos, Alexander Haliassos , Socrates Korovesis , Eleftherios Giazitzoglou , John Serelis , Demosthenes G. Katritsis. Serum cathepsin levels in coronary artery ectasia. *International Journal of Cardiology* December 3 2010 Volume 145, Issue 3, Pages 606–607
222. Li X, ShenL, Tan H. Polymorphisms and plasma level of transforming growth factor-Beta 1 and risk for preeclampsia: a systematic review. *PLoS One.* 2014 May 13;9(5):e97230
223. Rathod SB, Tripathy AS. TGF-β1 gene - 509C > T promoter polymorphism modulates TGF-β1 levels in hepatitis E patients. *Meta Gene.* 2015 Sep 15;6:53-8
224. Taubenschuß E, Marton E, Mogg M, Frech B, Ehart L, Muin D, Schreiber M. The L10P polymorphism and serum levels of transforming growth factor β1 in human breast cancer. *Int J Mol Sci.* 2013 Jul 24;14(8):15376-85.
225. Chun-Lin Chen, I-Hua Liu, Steven J. Fliesler, Xianlin Han, Shuan Shian Huang, Jung San Huang. Cholesterol suppresses cellular TGF-β responsiveness: implications in atherogenesis. *Journal of Cell Science* 2007 120: 3509-3521; doi: 10.1242/jcs.006916
226. Lekkou A, Mouzaki A, Siagris D, Ravani I, Gogos CA. Serum lipid profile, cytokine production, and clinical outcome in patients with severe sepsis. *J Crit Care.* 2014 Oct;29(5):723-7. doi: 10.1016/j.jcrc.2014.04.018. Epub 2014 Apr 24.
227. Yang L, Roh YS, Song J, Zhang B, Liu C, Loomba R, Seki E. Transforming growth factor beta signaling in hepatocytes participates in

steatohepatitis through regulation of cell death and lipid metabolism in mice.

Hepatology. 2014 Feb;59(2):483-95. doi: 10.1002/hep.26698. Epub 2013 Dec 18.

228. Silverman ES, Palmer LJ, Subramaniam V, Hallock A, Mathew S, Vallone J, Faffe DS, Shikanai T, Raby BA, Weiss ST, Shore SA. Transforming growth factor-beta1 promoter polymorphism C-509T is associated with asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2004 Jan 15;169(2):214-9. Epub 2003 Nov 3.







