

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İSKEMİK KARDİYOMİYOPATİLİ HASTALARDA MATRIX GLA
PROTEİN GEN POLİMORFİZMİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Sıddık ÜLGEN

Dr. İlyas KAYA

UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2010

TEŞEKKÜR

Kardiyoloji ihtisas eğitimim süresince bana çalışma şevki veren ve yetişmemde büyük emekleri olan, her zaman örnek aldığım saygıdeğer, Kardiyoloji A.D. başkanımız **Prof.Dr.M.Siddık Ülgen**'e teşekkür ederim.

Tezimi oluşturmamda büyük emeği geçen tez danışmanım öğretim üyesi sayın **Prof.Dr. M.Siddık Ülgen**'e, ayrıca Kardiyoloji ihtisas eğitimim süresince bana çalışma şevki veren ve yetişmemde büyük emekleri olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, kendileriyle çalışmaktan kıvanç duyduğum saygıdeğer hocalarım; sayın **Prof.Dr.Nizamettin Toprak, Prof.Dr.A.Aziz Karadede, Prof.Dr.Sait Alan, Doç.Dr.Serdar Soydinç Yrd.Doç.Dr.Ömer Alyan,Yrd.Doç.Dr.Yahya İslamoğlu,Yrd.Doç.Dr.Zuhal Arıtürk Atılgan, Yrd.Doç.Dr. Ebru Öntürk Tekbaş ve Uz.Dr.Habib Çil**'e teşekkürlerimi sunarım. Rotasyon eğitimim sırasında bilgilerini benden esirgemeyen İç Hastalıkları A.D'dan **Prof.Dr. Ekrem Müftüoğlu**, öğretim üyesi hocalarım ve doktor arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve Kardiyoloji A.D. çalışanlarına ve tezimin oluşmasında emekleri olan Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D. çalışanlarına, **Dr.Bülent Gögebakan, Dr.Ali Fuad Kara** ve tezime katkısı olan herkese teşekkürlerimi sunarım.

Desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen **Canım Aileme** ve Eşim **Dr. Emel Kan Kaya**'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. İlyas KAYA
DİYARBAKIR-2010

İÇİNDEKİLER

SAYFA

TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER	3-5
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	6
ŞEKİLLER VE TABLOLAR	7
1.GİRİŞ VE AMAÇ	8
2.GENEL BİLGİLER	10
2.1. KALP YETERSİZLİĞİ.....	10
2.1.1.Kalp Yetersizliği Tanımı ve Epidemiyoloji.....	10
2.1.2.Etiyoloji ve Patofizyoloji.....	10
2.1.3.Konjestif Kalp Yetersizliğinin Mekanizmaları.....	11
2.1.3.1.Familiyal Kardiyomiyopati.....	11
2.1.3.2.Miyositlerin Kalsiyum Yüklenmesi.....	11
2.1.3.3.Miyokardiyal Hücre Ölümü	11
2.1.3.4.Ekstraselüler Matriks Proliferasyonu.....	11
2.1.3.5.Miyokardiyal Enerji İhtiyacı ve Sunumu Arasındaki Dengesizlik.....	12
2.1.4.Sınıflama.....	12
2.1.4.1.Sağ /Sol Kalp Yetersizliği.....	12
2.1.4.2.Akut/Kronik Kalp Yetersizliği.....	12
2.1.4.3.Düşük/Yüksek Atımlı Kalp Yetersizliği.....	13
2.1.4.4.Sistolik/Diyastolik Kalp Yetersizliği.....	13
2.1.4.5.İskemik/Noniskemik Kalp Yetersizliği.....	13
2.1.5.Klinik Özellikler.....	14
2.1.5.1.Semptomatoloji.....	14
2.1.5.2.Fonksiyonel Kapasite.....	15
2.1.6.Nörohümorale Yanıtlar.....	15
2.1.6.1.Renin-Angiotensin-Aldosteron Sistemi.....	16
2.1.6.2.Natriüretik Peptidler.....	17

2.1.6.3. İnflamatuar Sitokinler.....	19
2.1.7. FİZİK MUAYENE.....	20
2.1.8. LABORATUVAR BULGULARI.....	21
2.1.8.1. Biyokimyasal Tetkikler.....	21
2.1.8.2.Akciğer Grafisi.....	22
2.1.8.3. Elektrokardiyografi.....	22
2.1.8.4. Akciğer Fonksiyon Testleri.....	22
2.1.8.5. Egzersiz Testi.	22
2.1.8.6. Ekokardiyografi.....	22
2.1.8.7.Koroner Anjiyografi ve Kateterizasyon.....	23
2.1.8.8.Elektrofizyolojik Monitörizasyon.....	23
2.1.8.9.Endomiyokardiyal Biyopsi.....	23
2.1.9.Prognoz.....	23
2.2.KARDİYOMİYOPATİ	23
2.2.1.İSKEMİK KARDİYOMİYOPATİ.....	25
2.2.1.1.İskemik/Noniskemik Kalp Yetersizliği.....	25
2.2.1.2.Yeniden Yapılanma(Remodeling)	26
2.2.1.3.Mekanik Etkenler.....	27
2.2.1.4.Subendokardiyal Koroner Arter Hastalığı.....	27
2.2.1.5.İskemi.....	27
2.2.1.6.Miyosit Kaybı.....	28
2.2.1.7.Aritmogenesis.....	28
2.2.1.8.Koruma.....	28
2.2.2.DİLATE KARDİYOMİYOPATİ.....	29
2.2.2.1.Patofizyoloji.....	29
2.2.2.2.Klinik ve Tedavi.....	31
2.2.2.3.İDKM’de Ekokardiyografik Bulgular.....	32
2.2.2.4.İDKM’de KAG ve Kardiyak Kateterizasyon Bulguları.....	33
2.2.3. KALP YETMEZLİĞİNİN TEDAVİSİ.....	34
2.2.3.1.Tedavinin Anahtarları.....	34
2.2.3.2. Farmakojik Olmayan Tedavi	35
2.2.3.3. Farmakolojik Tedavi.....	36
2.2.3.4.Kronik Kalp Yetersizlikli Hastalarda Kullanılan İlaçlar.....	37
2.2.3.4.1. ACE-İ (Angiotensin Converting Enzim İnhibitörleri).....	38

2.2.3.4.2. Diüretikler.....	39
2.2.3.4.3. Kardiyak Glikozidler.....	39
2.2.3.4.4. Hidralazin-İzosorbid Dinitrat.....	39
2.2.3.4.5. Alfa Adrenerjik Blokerler.....	39
2.2.3.4.6. Kalsiyum Antagonistleri.....	40
2.2.3.4.7. Pozitif İnotropik Ajanlar.....	40
2.2.3.4.8. Antitrombotik Ajanlar.....	40
2.2.3.4.9. Beta Bloker İlaçlar.....	40
2.2.3.5. Kalp Yetmezliği Progresyonun Engellenmesi ve Yaşam Süresinin Uzatılması.....	42
2.3. MATRİKS GLA PROTEİNİ.....	42
2.3.1. Yapısı.....	42
2.3.2. Vücuttaki Dağılımı.....	43
2.3.3. İşlevi.....	44
2.3.4. MGP Geni.....	46
2.3.5. Özendirici Bölgede Yer Alan Düzenleyici Elementler.....	51
2.3.6. MGP Gen İfadesinin Düzenlenimi.....	51
2.3.7.MGP Geninde Bilinen Çeşitlilikler Ve Fenotipe Yansıması.....	52
3.GEREÇ VE YÖNTEM	54
4. BULGULAR VE SONUÇLAR	60
5.TARTIŞMA	63
6.ÖZET	66
7.SUMMARY	67
8. KAYNAKLAR	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACC: American Collage of Cardiology
ACE: Anjiotensin Converting Enzim
ACE-İ: Anjiotensin Converting Enzim İnhibitörü
AHA: American Heart Association
ANP: Atriyal Natriüretik Peptid
AT-1: Anjiotensin tip 1 Reseptörü
AVP: Arginin Vazo Pressin
BGP: Bone Gla Protein (Kemik Gla protein)
BNP: Brain Natriüretik Peptid
CP/ATP: Kreatinin Fosfat / Adenozin Tri Fosfat
DKM: Dilate Kardiyomiyopati
EPHESUS: Eplerenone's neuroHormonal Efficacy and SURvival Study
ET-1: Endotelin-1
Gla: Gama karboksi Glutamik asit
Glu: Glutamik Asit
HRE: Hormon Cevap Anahtarı
İCD: İmplant edilebilen Kardiyoverter Defibrilatörler
İKM: İskemik Kardiyomiyopati
İVRZ: İzovolümetrik Relaksasyon Zamanı
KAH: Koroner Arter Hastalığı
KAK: Koroner Arter Kalsiyum
KY: Kalp Yetmezliği
MGP: Matriks Gla Proteini
MMP: Matriks Metalloproteinaz
MRE: Metal Cevap elementleri
NCBI: National Center for Biotechnology Information
NYHA: New York Heart Association
PZT: Polimeraz Zincir Tepkimesi
RAAS: Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi
RALES: Randomized ALdactone Evaluation Study
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
ThrAla: Treonin Alanin
TNF: Tümör Nekrozis Faktör

TABLolar

SAYFA

Tablo-1: ACC/AHA Kalp Yetersizliği sınıflandırma sistemi.....	14
Tablo-2: Fonksiyonel kapasite sınıflaması.....	15
Tablo-3:Kardiyomiyopati sınıflaması.....	22
Tablo 4: Prognozla ilişkili parametreler.....	32
Tablo 5. Sıçan dokularında MGP ifadesinin seviyeleri.....	44
Tablo 6: MGP geni.....	47
Tablo 7. MGP geni gen çokyapılılığının incelenmesi.....	57
Tablo 8. Toplam hacim 20 µL olacak şekilde tepkime karışım oranları.....	58
Tablo 9. Primerlere ait optimize edilmiş erime sıcaklıkları.....	58
Tablo 10. Polimeraz zincir tepkimesi koşulları.....	58
Tablo 11. Enzim Kesim Protokolü.....	59
Tablo 12. Restriksiyon enzimlerinin tanıma dizileri ve tepkime koşulları.....	59
Tablo 13. T-138C gen polimorfizmi için genotiplerin ve alleller.....	61
Tablo 14. Thr83Ala gen polimorfizmi için genotiplerin ve alleller.....	62

ŞEKİLLER

Şekil 1. Matriks Gla Proteini.....	43
Şekil 2.Sıçan dokularındaki MGP mRNA seviyelerinin Analizi.....	44
Şekil 3. MGP geninin intron-ekzon organizasyonu ve enzim haritası.....	48
Şekil 4. İnsan MGP geninin nükleotid dizisi.....	50
Şekil 5. İnsan MGP geninin moleküler çeşitlilikleri.....	52
Şekil 6. T-138C nükleotid değişimi.....	60
Şekil 7. Thr83Ala aminoasit değişimi.....	61

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp yetmezliği günümüzün; önemli sağlık problemlerinden birini oluşturmakta ve prevalansı giderek artış göstermektedir. Kalp yetersizliği, tanı ve tedavisinde sağlanan gelişmelere rağmen, yüksek mortalite ve morbidite nedeni ile önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir.

Koroner arter hastalığı toplumda kalp yetersizliğinin en sık sebebidir. İskemi ve infarktüs sonucu sağ-sol, akut-kronik, sistolik veya diyastolik kalp yetersizlikleri meydana gelebilir. En önemli mekanizma miyokard infarktüsü ile oluşan miyokard nekrozudur. Koroner arter hastalarında stunning ve hiberne miyokard varlığının tespiti tedavi ile geri dönüşüm açısından önemlidir çünkü kardiyak miyositler canlı durumdadır ve reperfüzyonla fonksiyonel iyileşme göstermektedir.

Son zamanlarda koroner arter kalsiyum (KAK) skrolama gibi yöntemler üzerinde giderek artan sıklıkta durulmaktadır(1). KAK skrolama, koroner ateroskleroz varlığını gösteren tekniklerden biridir. KAK, arteriyel kalsifikasyonun göstergesidir. Koroner arterlerde duvar kalsifikasyonu ile KAH arasında çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Subklinik aterosklerozun bir göstergesi olan KAK yükünün kişinin kardiyovasküler riski yönünden konvansiyonel risk faktörlerinden bağımsız olarak prognostik bilgi verdiği birçok çalışma ile kanıtlanmıştır(2). Klinik olarak vasküler kalsifikasyon damar duvarında sertleşmeye yol açar ve bu arteriyel kompliyansın azalmasına neden olur. Koroner perfüzyonun azalmasına yol açıp fatal komplikasyonların artışına sebep olur(3,4).

Arter kalsifikasyonu ile ilgili proteinlerden matriks Gla proteini (MGP) geniş birdoku dağılımına sahip önemli bir hücre dışı matriks proteini(5). En çok akciğer ve kalpte sentezlenmekle beraber kemik ve böbreklerde de sentezi yapılmaktadır. Moleküler ağırlığı 10 kDa(kilo Dalton) olan olgun MGP proteini 84 aminoasitten oluşmaktadır. Sahip olduğu glutamik asit birimlerinin 5 tanesi sentez sonrası vitamin K ve bikarbonat iyonlarını gerektiren bir reaksiyonla gama karboksilasyona uğrayarak gama karboksi glutamik asite dönüşür. Bu Gla birimleri kalsiyum (Ca +2), fosfat, hidroksiapatit kristalleri için yüksek bağlanma ilgisi oluşturur. Ca +2 iyonları Gla ünitelerinde yapısal değişiklikleri teşvik etmekte ve proteinin uygun katlanmayı gerçekleştirmesini kolaylaştırmaktadır(6).

MGP, arterial kalsifikasyonun önlenmesindeki koruyucu mekanizmaya katılan proteinlerden biridir (7).Normal yapısında kalsifiye olmayan bir hücre dışı matrikse sahip iki hücre tipinde (vasküler düz kas hücreleri ve kondrositler) MGP eksikliğinde şiddetli kalsifikasyonun gözlenmesi MGP'nin doku kalsifikasyonunu önleyici bir makromolekül olduğunu göstermektedir(8).

Hasta bireylerde, MGP'nin koroner arter hastalığı oluşumundaki rolünün anlaşılması hastalığın oluşumundaki moleküler mekanizmaya ışık tutacaktır. Böylelikle toplumumuzda sık rastlanılan koroner arter hastalığı hakkında moleküler düzeyde bilgiye sahip olunması ve elde edilecek verilerin hastalığın moleküler tanısına yönelik bir adım olarak kullanılmasıyla daha nitelikli sağlık hizmetlerinin sunulması ve yaşam kalitesinin arttırılması sağlanacaktır. Ayrıca bu çalışma bu konuda yapılabilecek daha sonraki çalışmalar için de bir temel oluşturacaktır.

Bu çalışmada, önemli bir kalsifikasyon engelleyici olan matriks Gla proteinin bilinen tek nükleotid değişimlerinin ateroskleroz ile ilişkisi ve İKM'li hastalar arasındaki dağılımı araştırıldı.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. KALP YETERSİZLİĞİ

2.1.1.Kalp Yetersizliği Tanımı ve Epidemiyoloji:

Kalp yetmezliği, kalbin organ ve dokuların ihtiyaçlarına yetecek oranda kanı pompalayamaması veya bunu sadece artmış dolum basınçlarıyla gerçekleştirebilmesi şeklinde tanımlanan bir fizyopatolojik durumdur. Başka bir tanım olarak kalp yetmezliği, ventrikülün kanla dolma ve kanı pompalama yeteneğini bozan herhangi bir yapısal veya fonksiyonel bozukluktan kaynaklanabilen karmaşık bir klinik sendromdur. Bu sendrom; nefes darlığı, egzersiz intoleransı, sodyum ve su tutulumu ile kendini gösteren ödem ile karakterizedir.

Kalp yetersizliği dünyada yaklaşık 15 milyon insanı etkileyen yaygın bir hastalıktır. Kalp yetersizliği sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. 50-60 Yaş arası grupta sıklığı %1-2 iken, 75 yaş üzerinde %10'a ulaşmaktadır. Tüm kalp yetersizliklerinin ortalama %80'i 65 yaş ve üzerindeki kişilerde görülmektedir. Framingham çalışmasına göre; 50-59 yaş arası her 1000 erkekte 3, 1000 kadında 2, 80-89 yaş arası her 1000 erkekte 27, 1000 kadında 22 hastada kalp yetersizliği saptanmıştır. Kadın ve erkek oranı 1/3 olarak bulunmuştur. ABD'de her yıl ortalama 45.000 hastanın ölüm nedeni olarak kalp yetersizliği bildirilmekte ve her geçen yıl bu sayı popülasyonun yaşlanması ve kardiyovasküler hastalıklardan sağ kalım oranlarının artması nedeniyle artmaktadır. Ayrıca hem tıbbi masraflar hem de iş gücü kaybı ekonomiyi olumsuz etkilemektedir(9,10)

2.1.2.Etiyoloji ve Patofizyoloji:

Kalbin herhangi bir yapısal, mekanik veya elektriksel anormalliği kalp yetersizliğine neden olabilir. Benzer şekilde kalp yetersizliği; iskemik, infektif, inflamatuvar, immün, endokrin, metabolik, genetik ve neoplastik nedenlere bağlı olarak gelişebilir. Kalbin yetersiz gelişiminden veya gebelikten kaynaklanabilir. Gelişmekte olan ülkelerde romatizmal kapak hastalıkları sık bir neden iken, gelişmiş ülkelerde dejeneratif kapak hastalıkları daha fazla görülmektedir. Miyokard infarktüsü geçirmiş olmak, kişisel olarak kalp yetersizliği gelişimi açısından hipertansiyondan daha önemlidir fakat toplum bazında hipertansiyonun getirdiği riskler muhtemelen daha fazladır(11). Birden fazla nedenin bir araya gelmesi, kalp yetersizliği riskini oldukça artırır. Etiyoloji olarak hipertansiyon kadınlarda erkeklerden daha sık görülür. İdiyopatik dilate kardiyomiyopati, sistolik fonksiyonu azalmış olan olguların %15-20'sini oluşturur. Bunların patogenezinde pek çok neden vardır ve gittikçe daha fazla genetik neden saptanmaktadır. Nedeni açıklanamayan bir dilate kardiyomiyopati olgusuyla karşılaşınca viral enfeksiyon geçirme, geçmişte veya halen aşırı alkol kullanımı, kemoterapötik ajanlar ve bazı toksinlere maruziyet gibi nedenler akla gelmelidir. Eğer koroner arter hastalığını

dışlamak amacıyla anjiyografi yapılmazsa idiyopatik dilate kardiyomiyopati tanısı doğru olmaz. Trypanosoma cruzi'nin neden olduğu Chagas Hastalığı da sistolik disfonksiyona yol açar. Diyabetin sistolik ve diyastolik disfonksiyona olan katkısı çok iyi anlaşılamamıştır(12). Diyabetik hastalarda kalp yetersizliği prevalansı daha yüksektir. Diyabet çoğunlukla hipertansiyona eşlik eder ve koroner ateroskleroz gelişimini hızlandırır. Doğrudan kardiyomiyopatiye neden olup olmadığı henüz açıklığa kavuşmamıştır.

Kalbin dokuların ihtiyacı olan kanı pompalayamaması; yapısal anomaliler, yetersiz kardiyak doluş ve/veya kontraktıl yetersizliğe bağlı meydana gelebilir. Adaptasyon mekanizmaları kan volümünü, kardiyak doluş basınçlarını, kalp hızını ve kas kitlesini artırarak normal fizyolojiyi sağlamaya çalışır. Ancak bu adaptif mekanizmaların da katkısıyla kalbin kontraksiyon ve relaksasyon kapasitesi daha da bozulmakta ve kalp yetersizliği hızlı ilerleme göstermektedir(10).

2.1.3.Konjestif Kalp Yetersizliğinin Mekanizmaları

2.1.3.1.Familyal kardiyomiyopati: Miyositteki sarkomerik protein ve kalsiyum tutucu mekanizmanın fetal paterndeki gen ekspresyonuna çevrilmesi (nörohormonal sitokin anomalisi ve hemodinamik yüklenme ile) sonucu oluşan bozulmadır.

2.1.3.2.Miyositlerin kalsiyum yüklenmesi: Hemodinamik yüklenme sarkoplazmik retiküler ATPase'nin ve miyosit plazmalemmasındaki Na-Ca transporter ekspresyonunun ve aktivitesinin azalmasına yol açar. Sonuçta sitoplazma içindeki kalsiyum miktarı artar sistolik disfonksiyon ve relaksasyon kusuru gelişir.

2.1.3.3.Miyokardiyal hücre ölümü: Apoptozis programlanmış hücre ölümüdür. Yaşlanma, iskemi, nörohümorale ve sitokin aktivitesinde artış ve hemodinamik yüklenme sonucunda meydana gelir. İskemik miyokardiyal nekroz daha lokalize skar oluşumuna neden olur. Yaşayan hücrelerin üzerindeki artmış hemodinamik yük ve ventriküler remodeling hücre ölümü sonucu oluşan kalp yetersizliğinin en önemli mekanizmalarıdır. Hemodinamik yüklenme ve sitoskeletal proteinleri kodlayan genlerde mutasyon sonucu meydana gelen sitoskeletal anomaliler de miyosit sitoplazması ve kardiyak remodeling üzerine olumsuz etkilerle yetmezliğe sebep olmaktadır.

2.1.3.4.Ekstraselüler matriks proliferasyonu: Matriks metalloproteinaz(MMP) aktivitesinin artışı ekstraselüler matriks proteinlerini artırır ve intersitisyel fibrozis oluşur. Fibrozis kontraksiyon ve relaksasyon kusuruna neden olur. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACE-I) ve MMP inhibitörleri bu konuda faydalı olabilirler. Spironalaktonun etki mekanizmasında ekstraselüler matriks turn-overinin azalması da rol oynayabilir.

2.1.3.5.Miyokardiyal enerji ihtiyacı ve sunumu arasındaki dengesizlik: Akut iskemik sendromlu hastalardaki kalp yetersizliği mekanizmalarından birisi de yüksek enerjili fosfat depolarının azalmasıdır. Hipertansiyon ve aort stenozunda subendokardiyal alanda enerji depolarında azalma gösterilmiştir. Mitral yetersizliğinde kardiyak kreatininfosfat /adenozintrifosfat (CP/ATP) depolarında noninvazif olarak MR spektroskopisi ile azalma gösterilmiş ve ventrikül çapları arttıkça ve ventrikül fonksiyonu bozuldukça bu azalmanın fazlaştığı gösterilmiştir. Ayrıca dilate kardiyomiyopatide CP/ATP oranının multivaryant analizde yaşam beklentisinin bağımsız belirleyicisi olduğu saptanmıştır(13).

2.1.4.Sınıflama:

Sebepler ve sonuç ilişkisine dayanarak kalp yetersizliği çeşitli alt gruplarda incelenebilir.

Bunlar:

- Sağ /Sol
- Akut /Kronik
- Düşük Atımlı /Yüksek Atımlı
- Sistolik /Diyastolik
- İskemik /Noniskemik Kalp Yetersizliği olarak sınıflandırılabilir(10).

2.1.4.1.Sağ /Sol Kalp Yetersizliği:

Konjestif kalp yetersizliğinde teori, sıvı birikiminin etkilenen boşluğun gerisinde gerçekleşmesi üzerine kurulur. Pulmoner konjesyona bağlı semptomlar ve plevral efüzyon öncelikli olarak sol kalp ile ilişkiliyken, pretibiyal ödem, hepatomegali, asit daha çok sağ kalp yetersizliğinin sonucudur. Sıvı birikimi, glomerüler filtrasyon hızının azalması ve renin anjiyotensin sisteminin aktivasyonu sonucu gerçekleşir. Azalmış kardiyak output glomerüler filtrasyon hızını azaltarak renin ve aldosteron salınımını artırır. Venöz konjesyon ve azalmış kan akımı nedeniyle oluşan hepatik yetersizlik aldosteron metabolizmasını etkileyerek aldosteronun daha da artmasına neden olur. Sonuç su ve tuz tutulumudur.

2.1.4.2.Akut/Kronik Kalp Yetersizliği:

Kalp yetersizliğinin klinik bulgularının şiddeti ve semptom gelişme sıklığı adaptif mekanizmaların gelişebilmesi için yeterli zamanın varlığına dayanır. Örneğin öncesinde tamamen normal olan bir kişide aniden gelişen anatomik veya fonksiyonel bir patoloji (miyokard infarktüsü, yüksek ventrikül cevaplı taşiaritmi, infektif endokardite sekonder kapak rüptürü) kardiyak outputta ciddi bir azalma, yetersiz organ perfüzyonu veya etkilenen ventrikülün gerisinde akut konjestif semptomları meydana getirecektir. Ancak aynı olaylar zaman içinde gerçekleştiğinde kardiyak remodeling, nöro hormonal aktivasyon gibi birçok

adaptif mekanizma ile uzun zaman düşük kardiyak output ve anotomik anomali tolere edilecektir.

2.1.4.3.Düşük/Yüksek Atımlı Kalp Yetersizliği:

İstirahatte düşük atımlı kalp yetersizliği birçok kardiyovasküler hastalık sonucu oluşan kalp yetersizliğinin karakteristik bulgusudur.(konjestif kalp yetersizliği, hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kardiyomiyopati). Tirotoksikoz, arteriyo-venöz fistül, anemi, Beriberi, Paget hastalığı gibi birçok hastalık yüksek atımlı kalp yetersizliğine yol açabilir. Düşük atımlı kalp yetersizliği soğuk ve siyanotik ekstremitelerle karakterizedir, nabız basıncı daralmıştır ve arter-ven oksijen saturasyon farkı artmıştır. Yüksek atımlı kalp yetersizliğinde ekstremiteler genellikle sıcak ve kızarıktır, nabız basıncı genişlemiştir ve arter-ven oksijen saturasyon farkı normaldir.

2.1.4.4.Sistolik/Diyastolik Kalp Yetersizliği:

Kalp yetersizliği kalbin pompa fonksiyonunu etkileyen sistolik fonksiyonda veya doluşunu etkileyen diyastolik fonksiyonda bozulma sonucu meydana gelebilir. Klasik kalp yetersizliği kasılma fonksiyonunda bozulma sonucudur. Diyastolik fonksiyon bozukluğu sol ventrikül relaksasyonunda bozulma ve relaksasyon sürecinin ancak yüksek intrakardiyak basınçlar altında gerçekleşebilmesidir. Bu durum geçici olarak iskemik sebepli veya kalıcı olarak hipertrofi, depo hastalıkları veya restriktif kardiyomiyopatide görülebilir. Sistolik kalp yetersizliğinin klinik bulguları uygunsuz kardiyak atım ve sekonder su-tuz tutulumuna bağlıdır. Diyastolik kalp yetersizliğinin klinik bulguları yüksek ventrikül basınçları nedeniyle venöz basınçların artışına bağlı olarak sistemik ve pulmoner konjesyon ile meydana gelir.

Epidemiyolojik çalışmalar diyastolik disfonksiyonun sistolik disfonksiyon kadar sık görülen bir patoloji olduğunu göstermektedir. Çoğu zaman bu iki durum birlikte bulunmaktadır. Sistolik ve diyastolik kalp yetersizliği ayrımı ve tedavilerindeki farklar nedeniyle önemlidir.

Tanıda öykü, fizik muayene, biyokimyasal inceleme, tele, elektrokardiyografi, ekokardiyografik inceleme, koroner anjiyografi ve kalp kateterizasyonu bulguları birlikte değerlendirilmelidir. Ancak buna rağmen ayırım zor olabilir. Özellikle minimal sistolik disfonksiyonla birlikte görülen diyastolik disfonksiyon gibi durumlarda tedavi önde gelen patoloji üzerinde yoğunlaşılmalıdır.

2.1.4.5.İskemik/Noniskemik Kalp Yetersizliği:

Koroner arter hastalığı toplumda kalp yetersizliğinin en sık sebebidir. İskemi ve infarktüs sonucu sağ-sol, akut-kronik, sistolik veya diyastolik kalp yetersizlikleri meydana gelebilir. En önemli mekanizma miyokard infarktüsü ile oluşan miyokard nekrozudur.

Koroner arter hastalarında stunning ve hiberne miyokard varlığının tespiti tedavi ile geri dönüşüm açısından önemlidir çünkü kardiyak miyositler canlı durumdadır ve reperfüzyonla fonksiyonel iyileşme göstermektedir.

Herbir alt grubun tedavi stratejisi etiyolojik faktörlere ve semptomatolojisine göre düzenlenir.

ACC/AHA Kalp yetersizliği sınıflandırma sistemi

Evre	Tarif	Örnek
A	Kalp yapılarında saptanan bir anormallik olmamasına rağmen kalp yetersizliği gelişimi için yüksek riskli olan hastalar	Sistemik hipertansiyon, kardiyotoksik ajan kullanımı, koroner arter hastalığı, alkol kullanımı
B	Kalp yetersizliği gelişimi için yüksek risk taşıyan yapısal anormallik gelişen ancak kalp yetersizliği semptom ve bulguları gelişmeyen hastalar	Asemptomatik kapak hastalığı, kardiyak hipertrofi-fibrozis, kardiyak dilatasyon ve hipokontraktilite, eski miyokard infarktüsü
C	Altta yatan yapısal kalp hastalığı ile beraber geçmişte veya o an kalp yetersizliği semptomları olan hastalar	Dispne veya egzersiz intoleransı olan hastalar, asemptomatik olup geçmiş semptomları için KY tedavisi alan hastalar
D	İleri yapısal kalp hastalığı olan ve maksimal medikal tedaviye rağmen istirahatte dahi KY semptomları olan hastalar	Sık-sık hastaneye yatan veya güvenli biçimde taburcu edilemeyen hastalar, transplantasyon adayları, yardımcı kalp cihazları olanlar

Tablo-1:ACC/AHA kalp yetersizliği sınıflandırma sistemi

2.1.5.Klinik Özellikler

2.1.5.1.Semptomatoloji:

Kalp yetersizliğinde belirtiler etkilenen kalp boşluğu ve yetersizliğin ciddiyeti ile doğru orantılı olarak meydana gelir. Dispne kalp yetersizliğinin en sık semptomudur. Egzersiz dispnesi, ortopne, paroksizmal nokturnal dispne hastalığın çeşitli derecelerinde görülen semptomlardır. Dispneye hemen her zaman öksürük ve hırıltılı solunum da eşlik etmektedir. Sol kalp yetersizliğinin ileri dönemlerinde ve sağ kalp yetersizliğinde konjestif semptomlar görülmektedir. Hepatik konjesyon, splenomegali, asit, künt karın ağrısına; pretibial ödem ve alt ekstremitedeki şişlikler, ağrı ,egzersiz intoleransı (sol ve sağ kalp yetersizliğinde meydana gelen düşük kardiyak output, iskelet kaslarının fonksiyonu için gerekli metabolitlerin yeterli miktarda taşınamamasına ve dokulardan uzaklaştırılamamasına neden olmaktadır) ve müsküler atrofi meydana gelebilir. Solunum kaslarında oluşan kondüsyon eksikliği de egzersiz intoleransını arttırmaktadır.

Kardiyak kaşeksi kalp yetersizlikli hastaların % 15'inde ve daha sık olarak yüksek NYHA fonksiyonel kapasitedeki hastalarda görülür ve artmış mortalite ve morbiditeyle ilişkilidir. Gece saatlerinde supin pozisyonda kanın kalbe dönüşü kolaylaşır dolayısıyla preload artar ve bu da kardiyak outputu artırarak glomerüler filtrasyonu hızlanır ve noktüri oluşabilir. İleri dönem kalp yetersizliğinde kardiyak outputun ciddi azalması sonucunda ise

oligüri meydana gelebilir. Özellikle ileri dönem kalp yetersizliğinde yaşlı hastalarda konfüzyon, hafıza bozukluğu, anksiyete, uykusuzluk ve nörotik bozukluklar görülebilir. Sağ kalp yetersizliğine bağlı konjesyon sonucu sağ üst kadran ağrısı, bulantı, kusma, konstipasyon, karın ağrısı ve distansiyon gibi gastrointestinal semptomlar da görülebilir.

2.1.5.2.Fonksiyonel Kapasite:

Kalp hastalarının sınıflandırılması New York Heart Association (NYHA) tarafından geliştirilen, semptom oluşması için gereken efor miktarını değerlendiren skalayla yapılır. Subjektif şikayetlerden oluşan bir sınıflandırma olmasına rağmen NYHA fonksiyonel sınıflamasının kronik kalp yetersizliğinde yaşam beklentisinin güçlü bir prediktörü olduğu kanıtlanmıştır.(tablo 2)

Evre-I	Kalp hastalığı olan ancak hastalığın fiziksel aktiviteyi kısıtlamadığı hastalar. Olağan fiziksel aktivite aşırı yorgunluğa, çarpıntıya, dispneye veya anjinal ağrıya yol açmaz
Evre-II	Fiziksel aktiviteyi hafif olarak kısıtlayan kalp hastalığı olan hastalar. Olağan fiziksel aktiviteler yorgunluk, çarpıntı, dispne veya anjinal ağrıya yol açar.
Evre-III	Fiziksel aktiviteyi belirgin olarak kısıtlayan kalp hastalığı olan hastalar. Olağan fiziksel aktiviteden daha hafif aktiviteler yorgunluk, çarpıntı, dispne veya anjinal ağrıya yol açar.
Evre-IV	Hiçbir fiziksel aktivitenin rahatsızlık duyulmadan yapılamadığı kalp hastalığı bulunan hastalar. Kalp yetersizliğinin veya anjinal sendromun belirtileri istirahatte bile olabilmektedir.

Tablo 2: Fonksiyonel kapasite sınıflaması

2.1.6.Nörohüморal Yanıtlar

Miyokard hücre disfonksiyonunu kompanse etmek için hem kardiyak hemde nörohüморal mekanizmalar kalp debisini ve kardiyak fonksiyonu normale getirmek için aktifleşirler. Ventrikül yükselmiş diyastolik gerilime ve Frank-Starling ilkesine sekonder olarak kontraksiyonunu artırırken azalmış kardiyak debiye yanıt olarak sempatik sinir sistemi de aktifleşir. Hasar görmemiş miyokarddaki β adrenerjik reseptörlerin stimülasyonu, kontraksiyonun hem kuvvetini hem de sıklığını arttırmasına neden olur (14). Hemodinamik ve nörohüморal mekanizmalar inotropik destek sağlamasına rağmen uzun dönemli yük ve riskte bir artışla da ilişkilidirler. Ventriküler dilatasyon ve sempatik sinir sisteminin ve renin-anjiotensin aldosteron sisteminin (RAAS) aktivasyonu diyastolik duvar gerilimini artırır ve buda ventrikülün yapısını belirgin bir şekilde etkiler ve kardiyak enerji tüketimini artırır. Yani nörohüморal eksenin aktivasyonu ile kompensatuar kısa dönemli adaptasyon uzun dönemli

kötüleştirci etkilerle ilişkilidir ve bir kısır döngüye yol açar. Ventriküllerin artmış yüküne karşı primer adaptasyon yanıtı kardiyak hipertrofi gelişimidir(14).

2.1.6.1.Renin-Anyijotensin-Aldosteron Sistemi

Kalp yetersizliğine bağlı renal kanlanmanın azalması ve artmış beta-adrenarjik uyarı jukstaglomerüler aparatustan renin salınımına neden olur(15). Renin inaktif olan anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e, anjiyotensin konverting enzim (ACE) de, anjiyotensin I'i, anjiyotensin II'ye çevirir. Angiyotensin II'nin iki tip reseptörü vardır.

- 1)Anjiyotensin II reseptör 1 (AT1 reseptör): Arteriyal vazokonstriksiyon, hücrel hipertrofi, miyositlerde apoptozis, polidipsi, noradrenalin (NA) salınımı, kan damarlarının NA'e duyarlılığında artış, arginin vazopressin (AVP) ve aldosteron salınımına aracılık eder.
- 2)Anjiyotensin II reseptör 2 (AT 2 reseptör): Vazodilatasyon yapar, remodelingi baskılar. RAAS'nin sadece endokrin değil, kardiyovasküler sistem, beyin ve böbrek dokusunda otokrin ve parakrin aktiviteleri de vardır (16). Hatta kompanse kalp yetersizliğinde kanda RAAS normal iken, doku düzeyinde RAAS aktiftir.

Doku düzeyinde anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümü ACE'den farklı bir mekanizma ile gerçekleşebilir (17). NA gibi anjiyotensin II de kardiyak miyositlere direkt toksik etkilidir. RAAS'nin aktivasyon düzeyi kalp yetersizliğinin şiddeti ve prognozu ile ilişkilidir (18). ACE inhibitörleri, AT1 reseptör blokörleri ve aldosteron antagonistleri kalp yetersizliğinin tedavisinde kullanılmaktadır (19). Vücuttaki ACE'nin önemli bir bölümü (%90-99) dokularda bulunur. Kalan %1-10'luk bölümü ise dolaşımdadır. Renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin gerekli bileşenlerinin tümü, aynı şekilde damar yatağı, kalp ve böbrekler gibi çeşitli organlarda ve dokularda bulunur. Deneysel miyokardiyal hipertrofi veya yetmezlik bulunan hayvanlardan çıkarılan miyokarda, ACE'nin ve renin tarafından anjiyotensin I üretimi için substrat olan anjiyotensinojenin ekspresyonu artmıştır. Doku RAAS'nin, kompanse kalp yetmezliğinde, dolaşan sistemin aktivitesinin nispeten normal olabildiği bir zamanda aktive olabileceği öne sürülmüştür. Anjiyotensin II'nin doku üretimi, ACE'ye bağımlı olmayan yolak (kimaz yolağı) tarafından gerçekleştirilebilir. Bu yolak miyokarda, özellikle renin ve anjiyotensin I seviyeleri ACE inhibitörü kullanımı nedeniyle arttığında ciddi öneme sahip olabilir. ACE bağlanma alanlarının yoğunluğu, idiyopatik kardiyomiyopati ile ilişkili son evre kalp yetmezliği hastalarının miyokard dokusunda artar(20). Damar yatağındaki baskın anjiyotensin reseptörü AT1'dir. Hem AT1 hem AT2 reseptör alt tipleri insan miyokardında baskın durumdadır. AT2/AT1 reseptör oranı 2/1'dir. AT1 ve AT2 reseptörlerinin sayısı, orta derece kalp yetmezliği hastalarında normaldir, fakat her ikisi de

son evre kalp yetmezliği hastalarında azalmıştır. Hem iskemik hem idiyopatik dilate kardiyomiyopati hastaların miyokard dokusunda AT1 alt tipinde azalma gözlenmiştir.

Aldosteron, renal sodyum tutulumunu artırma etkisinin ötesinde, hem damar yatağı hem miyokard üzerinde doğrudan olumsuz etkiler gösterebilir. Aldosteron böylece hipertrofiye ve fibroza yol açarak azalmış damar kompliyansına ve ventriküler diastolik disfonksiyona katkıda bulunur(21). Anjiyotensin II'den bağımsız olarak aldosteronun önemi, iki büyük klinik çalışmayla gösterilmiştir. Randomize aldactone değerlendirme çalışması (RALES), düşük doz spironolaktonun, sistolik disfonksiyonla ilişkili kronik kalp yetmezliği hastalarının sağkalımını iyileştirdiğini göstermiştir(22). Bu etki hacim veya elektrolit durumundaki değişikliklere bağlanamaz. EPlerenone's neuroHormonal Efficacy and SURvival Study (EPHESUS) çalışması da aynı şekilde selektif aldosteron reseptör antagonisti epleronun erken uygulanmasının miyokard infarktüsü sonrası sağkalım süresini uzattığını göstermiştir (23).

2.1.6.2.Natriüretik Peptidler

Üç natriüretik peptit tanımlanmıştır: Atriyal natriüretik peptit(ANP), brain natriüretik peptit (BNP) ve C-natriüretik peptit(CNP). ANP başlıca sağ atriyumda depolanır ve atriyal genişleme basıncındaki bir artışa yanıt olarak salınır. Bu peptit vazodilatasyona ve natriüreze neden olur. BNP başlıca kardiyak ventrikül miyokardında depolanır ve ventriküler dolum basınçlarındaki değişikliklerden sorumlu olabilir(ANP'den daha az seviyede). BNP, yapısal anlamda ANP ile yüksek seviyede benzerlik gösterir ve ANP gibi natriüreze ve vazodilatasyona neden olur. CNP başlıca damar yatağında yerleşiktir. Her ne kadar CNP'nin fizyolojik rolü henüz net olmasa da, RAAS sistemine bitişik yerleşimde önemli bir düzenleyici rol oynuyor gibi görünmektedir. Natriüretik peptitler için en az üç reseptör tanımlanmıştır: A, B ve C. A ve B reseptörleri, peptitlerin vazodilatatör ve natriüretik etkilerine aracılık ederler. C tipi reseptör, öncelikle nötral endopeptidaz ile birlikte peptitlerin seviyelerini düzenleyen bir klirens reseptörü olarak etki gösteriyor gibi görünmektedir(24).

Atriyal natriüretik peptit, yirmi sekiz aminoasit içerir, geni birinci kromozomdadır. Yüz yirmi altı aminoasit içeren pro-ANP'nin serin proteaz korin ile enzimatik yıkımı sonucu ANP oluşur. Çeşitli yayınlar pro-ANP'nin ANP gibi etkilerinin olduğunu bildirmektedir. Her iki parça da serumda tespit edilebilir. Normal kalpte kaynağı atriyumdur. ANP salınımı için en önemli uyarıcı atriyumun duvar geriliminin artmasıdır. ANP geninin aktivasyonu yavaştır. ANP hücre içi granüllerde depolanır ve salınımının uyarılmasını takiben hızla dolaşıma verilir. Egzersiz gibi uyarılarda bile dolaşıma salınabilir(25,26).

Brain natriüretik peptit geni birinci kromozomdadır. Yüz sekiz aminoasit içeren proBNP'nin serin proteaz furin ile yıkımı sonucu 32 aminoasit içeren aktif BNP ve 76 aminoasit içeren NT-proBNP oluşur. Herikisi de dolaşımda bulunabilir. BNP çok az miktarda depolanır. BNP gen aktivasyonu hızlıdır. Bunun anlamı akut değişikliklerde BNP'deki artışın ANP'deki artıştan daha önemli olduğudur. Normal atriyum hem BNP hem de ANP'nin kaynağıdır. Kronik kalp yetersizliği gibi kronik miyozit gerginliğinde ventriküllerde de natriüretik peptit yapılmaktadır. Bu BNP üretimi için daha önemlidir. Hatta bazı kaynaklarda BNP ventriküler hormon olarak adlandırılmaktadır. NT-proBNP'nin biyolojik öneminin olup olmadığı bilinmemektedir(27). BNP hem basınç hem de volüm yüküne cevap olarak salınır.

CNP tipi natriüretik peptit, santral sinir sistemi ve vasküler dokularda sentezlenen, aynı prokürsörden ayrılan 22 ve 53 aminoasit içeren iki ayrı peptittir. Dolaşımda ANP ve BNP'den çok daha az bulunmaları, lokal vazodilatatör ve santral sinir sisteminde nörotransmitter benzeri etkileri olduğunu düşündürmektedir(25).

Yapısal açıdan birbirine benzeyen ANP ve BNP miyositlerdeki gerilmeye yanıt olarak sentezlenirler, fakat farklı düzeylerde ve farklı şekilde kontrol edilirler. ANP, başlıca atriyumlarda duvar üzerindeki gerilimin artmasına yanıt olarak sentezlenir ve depo granüllerinden kontrollü olarak salınır; bu granüllerde önceden yapılmış ANP bulunabilir (28). BNP, daha çok ventriküler kardiyomiyositlerde anlık üretilir, depo edilmez ve gen transkripsiyonu düzeyinde denetlenir. BNP'nin salınımı, transmural basıncın ve hacmin artmasıyla tetiklenir(29). BNP'nin biyolojik eylemleri arasında vazodilatasyon, diürez, natriürez ve renin anjiyotensin aldosteron sistemi, sempatik sistem, arjinin-vazopressin ve endotelinin etkilerinin inhibisyonu sayılabilir(30). BNP düzeyi, kalp yetmezliği dışında yaşlılarda, kadınlarda, böbrek yetmezliği olan hastalarda, akciğer hastalığında, malignitelerde, beta bloker tedavisi alanlarda ve kalbin ventriküllerine binen yükü arttıran her durumda yükselir(31). Diğer taraftan BNP düzeyi, obez kişilerde ve ani pulmoner ödemi olan hastalarda yalancı bir düşüklük gösterir. Ani pulmoner ödemde, ventriküllerin BNP'yi üretip salarak bu peptidin dolaşımdaki düzeyini arttırmaya yetecek zamanı yoktur. Bu testin en yararlı olduğu hasta grubu, öykü, fizik muayene ve akciğer grafileri KY'yi düşündüren fakat tanı koydurucu olmayan hastalardır. BNP ve NT-proBNP düzeyleri, KY'nin şiddeti ile ilişkilidir (32). Plazma BNP ve/veya NT-proBNP düzeylerinin, hem akut hem de kronik KY'de toplam mortalite, kardiyovasküler mortalite ve KY'ye bağlı hastanede yatışlar için bağımsız bir öngördürücü olduğunu doğrulayan çok sayıda kanıt bulunmaktadır (33). Acil servise dispne ile başvuran hastalarda, başvuru anında ölçülen BNP düzeyleri, izleyen altı ay içindeki kardiyak olaylar için yüksek düzeyde öngördürücü bulunmuştur.

Kalp yetersizliğinin nörohormonal profilini değerlendirmede kullanılacak belirteçler arasında BNP en iyi adaydır. Çünkü diğer maddeler gibi egzersiz ve pozisyondan etkilenmez stabildir, ölçümü kolay olup geniş bir dağılım aralığı yoktur(25). Kalp yetersizliğinden ölen hastaların otopsilerinde kandaki ve dokulardaki BNP ve ANP düzeyleri karşılaştırıldığında kandaki BNP'nin dokulardaki BNP'yi çok iyi yansıttığı, ANP için ise böyle bir ilişkinin gösterilemediği belirtilmiştir(35). BNP'nin kandaki yarı ömrü yaklaşık 22 dakikadır ve son iki saat içinde pulmoner kapiller wedge basıncında meydana gelen değişiklikleri doğru olarak yansıtabilir. NT-proBNP'nin yarı ömrü ise 120 dakikadır ve NT-proBNP'nin ölçümüyle yaklaşık olarak son 12 saat içerisinde hemodinamik dengede meydana gelen anlamlı değişiklikler hakkında fikir sahibi olunabilir (36). Erişkinlerde yapılan çalışmalarda BNP'nin kadın cinsiyette yüksek olduğu, menapozdan sonra bu farklılığın azaldığı ve yaşla birlikte BNP'nin arttığı gözlenmiştir (37). Sağlıklı erişkin 767 gönüllüde yapılan çalışmada BNP'nin kadınlarda erkeklere göre %32 daha yüksek olduğu ve yaşla ilişkili olarak arttığı gösterilmiştir.

2.1.6.3.İnflamatuvar Sitokinler

Sitokinler, bir organdaki hücre içi iletişime aracılık eden küçük protein molekülleridir. Endokrin hormonların tersine özel salgı bezlerince değil, çeşitli doku ve hücreler tarafından üretilir. Etkilerini çoğunlukla komşu hücrelerde ya da üretici hücre üzerinde gösterirler ve baskın sistemik etkileri yoktur. Sitokinlerin çoğunluğu değişik dokular ve hücreler üzerinde çok çeşitli biyolojik etkilerde bulunur ve farklı sitokinler aynı hücre tipi üzerinde birbirine benzeyen etkiler ortaya çıkarabilir. Bugüne kadar yapısal olarak birbirine benzemeyen ve genetik açıdan da bağlantısız 100 ün üzerinde sitokin belirlenmiştir. Bu sitokinlerden birkaçı KY'nin patogenezindeki rolleri ve tedavi hedefi olmaları nedeniyle ilgi uyandırmıştır.

Proinflamatuvar sitokinler sol ventrikülün yeniden şekillenmesine öncülük etme, kontraktıl disfonksiyona yol açma ve miyokardiyal beta adrenarjik reseptörlerin azalması gibi değişik mekanizmalar yoluyla kardiyovasküler fonksiyonun değiştirilmesine katkıda bulunmaktadır(38,39). TNF endotoksine cevap olarak ortaya çıkan ana sitokindir. TNF'nin iki izoformu (TNF- α ve TNF- β) bulunmuştur. Bunlardan serumda daha fazla bulunanı ve kardiyak etkilerden sorumlu olanı TNF- α 'dır. TNF- α 'nın bir taraftan fibroblast ve mezenkimal hücre proliferasyonunu doğrudan veya büyüme faktörlerini arttırarak uyardığı, diğer taraftan da endotelyal hücrelere toksik etkiler gösterdiği proteaz, kollajenaz ve araşidonik asit metabolitleri gibi doku harabiyetine yol açan döngüyü harekete geçirdiği bildirilmiştir (40).

Kalp yetersizliği hastalarında proinflatuar bir sitokin olan TNF- α 'nın, dolaşımdaki seviyesinin artmış olduğu 1990 yılında Levine ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir(41). Kalp yetmezliğinin ileri evrelerinde TNF- α gibi proinflatuar sitokinlerin anormal miyokardiyal yapının ve fonksiyonunun düzenlemesinde çok önemli rol oynayabileceklerine ilişkin birçok çalışma ortaya çıkmıştır. Deneysel olarak TNF- α 'nın sürekli infüzyonu zamana bağımlı bir şekilde sol ventrikül fonksiyonunda azalmaya yol açar ve erişkin kardiyak miyositlerinde hipertrofik bir büyüme yanıtına neden olur(42). Çok miktarda üretim olduğunda, TNF- α dolaşıma çıkar ve endokrin bir hormon olarak etki göstermeye başlayıp metabolik yıkıma ve kaşeksiye yol açar. Fare modelinde TNF- α 'nın aşırı ekspresyonu kardiyomiyopati ile uyumlu bir fenotipe yol açar(43). İnterlökin-6 ve interlökin-1 β 'da TNF- α gibi kalp yetersizliğinde yüksek bulunmuştur. İnterlökin-1 β 'nın kardiyak miyosit hücre kültürlerinde hipertrofiyi ve apoptozisi uyardığı gösterilmiştir (44). İL-1 kalp kasılmasını baskılayıcı etkisini nitrik oksit üzerinden gerçekleştirir. İL-1 ve İL-6 gibi inflamatuvar sitokinler makrofaj ve lökositlerden salınır. Bu hücreler infektif kardiyomiyopatilerin yanı sıra miyokard infarktüsünden ve reperfüzyonundan sonra özellikle miyokarda bulunurlar. İnterlökinler fizyolojik konsantrasyonlarda yararlı adaptif etkiler gösterirken, aşırı düzeyleri adaptasyonu bozucu etkiye sahiptir (45).

Endotelin-1(ET-1), damar endotel hücrelerinden dolaşıma salınır. Bilinen üç endotelin vardır ve ET-1 en güçlü vazokonstriktördür. ET-1 salınımını NA, anjiyotensin II, trombin, interlökin-1(IL-1), tümör nekrozis faktör(TNF) gibi birçok madde uyarırken, hipoksi ve iskemi de direkt olarak ET-1 salınımına neden olur. Natriüretik peptitler ve prostoglandinler ET-1 üretimini inhibe eder. ET-1, etkisini iki ayrı reseptör üzerinden gösterir. ET-A reseptör, vazokonstriksiyon, hücrel proliferasyon ve hipertrofiye neden olur. ET-B reseptör, nitrik oksit aracılı vazodilatasyon yapar(46). ET-1'in kardiyak miyositlere toksik etkisinde hücre içi kalsiyum artışının da rol alabileceği ileri sürülmektedir. ET-1 kalp yetersizliğinde artmıştır ve artmış mortalite ile ilişkilidir. Kalp yetersizliğinde ET-1 düzeyindeki artış, sentezindeki artıştan daha çok akciğerlerdeki yıkımında azalmaya bağlıdır. Kalp yetersizliği olan hastalarda pulmoner hipertansiyon gelişiminde ET-1 aracılık eder(47).

2.1.7. FİZİK MUAYENE

İnspeksiyon: Anksiyete, ikter, siyanoz, boyun venlerinde dolgunluk, solukluk, çomak parmak, adrenerjik aktivasyon artışına bağlı soğukluk ve terleme, bacaklarda ve karında şişlik, dekübitüs ülserleri, kaşeksi, solunum dakika sayısında artış, Cheyne-Stokes solunumu.

Palpasyon: Kalp tepe atımının yer değiştirmesi, pretibial ödem, hepatojügüler reflü, hepatosplenomegali, asit, A-V fistüle bağlı trıl.

Perküsyon:Asit, plevral efüzyon, kardiyomegali.

Oskültasyon:S3, S4 varlığı, sistolik ve diyastolik üfürümler, aritmi-disritmi, perikardiyal sürtünme sesi, akciğerde ince ve kaba raller.

2.1.8.LABORATUVAR BULGULARI

2.1.8.1.Biyokimyasal Tetkikler:

Tam Kan Sayımı: Kan hemoglobin, hematokrit değerleri kalp yetmezliği veya semptomların sebebinin anemi olup olmadığını anlamada önemlidir. Kronik kalp yetmezliğinde sıklıkla görülebilen infeksiyon durumunda lökositoz varlığının belirlenmesi ve tedavi sonrası takipte de tam kan sayımı önemlidir.

Elektrolitler: Özellikle diüretik kullanımıyla meydana gelen elektrolit anomalileri aritmojenik eğilimde artışa neden olduğu için prognoz üzerine kötü etkilidir. Hiponatremi, hipopotasemi, hipomagnezemi, hipokalsemi, hipernatremi, hiperpotasemi görülebilecek elektrolit bozukluklarıdır.

Renal Fonksiyonların Değerlendirilmesi: Renal yetersizlik ve nefrotik sendrom, kalp yetmezliğine benzer semptomlarla neden olabilir. Ayrıca kronik kalp yetmezliği ve akut dekompanseasyonda hipoperfüzyona bağlı renal disfonksiyon gelişebilir. BUN, kreatin, tam idrar tetkiki, glomerüler filtrasyon hızı gibi parametreler kronik ACE-İ kullanan hastaların monitörizasyonunda önemlidir.

Karaciğer Fonksiyon Testleri: Konjestif karaciğer sirozu sonrasında kan bilirubin düzeylerinde ve karaciğer enzimlerinde artış görülebilir.

Endokrinolojik Değerlendirme: Atrial fibrilasyonu olan ve yaşlı hastalarda tiroid fonksiyon testleri önemlidir. Özellikle bayan hastalarda diyabet önemli bir kalp yetmezliği sebebidir. Dislipidemi de diyabet gibi koroner arter hastalığı risk faktörü olduğundan değerlendirilmelidir. Akut alevlenme ve dekompanseasyon durumlarında eritrosit sedimentasyon hızı, CRP, fibrinojen gibi akut faz reaktanları ve kalp yetmezliğindeki nörohormonal aktivasyonun markerleri olan atriyal natriüretik peptid, brain natriüretik peptid, N-terminal B tip natriüretik peptid, C-tip natriüretik peptid, endotelin-1, TNF-alfa, IL-1, IL-6, norepinefrin, renin ve anjiyotensin II gibi nörohormonların kan değerleri hastaların tedavi stratejilerinin seçiminde ve tedaviye yanıtı takipte önemli biyokimyasal parametrelerdir. Natriüretik peptidler kalp yetmezliği tanısında yardımcı olarak kullanılabilirler. Kalp yetmezliği tanısında önerilen değerler brain natriüretik peptid >100pg/ml, NT-proB tip natriüretik peptid>125pg/ml(<75 yaş), 450pg/ml(>75 yaş) dir. Natriüretik peptidlerin negatif prediktif değerleri daha anlamlıdır (%90'dan daha fazla). Bu nedenle dispne yakınmasıyla başvuran hastaların kardiyak sebepli olup olmadığının dışlanması çok daha değerlidir(1).

Kalp yetmezliğinde birtakım sitokinlerin over-ekspresyonu da önemli rol oynar. TNF- alfa ve IL1 seviyeleri artmıştır (48).

2.1.8.2.Akciğer Grafisi: Kardiyomegali, sol ventrikül diyastol sonu basıncı 15 mmHg'nın üzerinde olan hastaların %46'sında tespit edilen en sık radyolojik bulgudur. Pulmoner venlerin belirginleşmesi, intertisiyel gölgelerde belirginleşme, Kerley A ve B çizgileri, plevral efüzyon konjestif kalp yetmezliği'nin radyolojik bulgularıdır. Ayrıca PA akciğer grafisi dispnenin kardiyak veya pulmoner sebeplerinin ayırımında da önemlidir.

2.1.8.3.Elektrokardiyografi: Kalp yetmezliğinde altta yatan etiyolojik sebebi belirlemede önemlidir. EKG altta yatan iskemik kalp hastalığı, sol ventrikül hipertrofisi, sağ ventrikül hipertrofisi, perikardiyal efüzyon, infiltratif kalp hastalığı, intraventriküler ileti anomalileri ve taşiaritmileri belirlemede faydalıdır. İntraventriküler ileti gecikmeleri, QRS süresi, QT süresi, T dalgasının durumu prognozla ilişkili EKG bulgularıdır. Kaba ve ince dalgalı AF embolizasyon açısından medikal tedavi seçiminde önemlidir. Elektrolit bozukluğunda meydana gelecek EKG değişiklikleri tanı ve tedavinin takibinde faydalıdır.

2.1.8.4.Akciğer Fonksiyon Testleri: Kalp yetmezliği ve akciğer hastalıkları genelde birlikte seyrettiği için bu hasta grubunda rutin akciğer fonksiyon testleri önerilmemektedir. Ancak sol ventrikül sistolik fonksiyonları normal olan ve semptomların kardiyak kaynaklı olmadığı düşünülen hasta grubunda faydalıdır.

2.1.8.5.Egzersiz Testi: Egzersiz testi, pik egzersizde oksijen ihtiyacının tespiti, fonksiyonel kapasitesinin belirlenmesi ve EKG yanıtının değerlendirilmesi açısından önemlidir. Pik oksijen ihtiyacı 14 ml/kg/dak altında olan ve/veya yaşa göre beklenen egzersiz kapasitesi %50'nin altında olan hasta grubunda prognoz kötüdür ve kalp transplantasyonu için belirleyici olarak düşünülebilir.

2.1.8.6.Ekokardiyografi: Ekokardiyografik inceleme kalp yetmezliğinin teşhisinde ve takibinde yaygınlığı, kullanım kolaylığı, efektifliği ve zararsız ultrason dalgası teknolojilerinden temel alması nedeniyle şüphesiz en faydalı laboratuvar incelemesidir. İki boyutlu, M-mode, spektral ve renkli Doppler, 3-D ve doku Doppler incelemeler sonucunda kalp yetmezliğinin ciddiyeti, altta yatan etiyolojik faktörler ve prognozu hakkında önemli bilgiler sağlanmaktadır. Ventrikül duvar hareket bozuklukları, biventriküler hipertrofi, konjenital kalp hastalıkları, infiltratif kalp hastalıklarının belirlenmesi, kapak hastalıklarının tespiti, sağ ventrikül patolojilerinin belirlenmesi, perikardiyal efüzyon, diyastolik kalp yetmezliğinin teşhisi ve takibinde ekokardiyografik inceleme önemlidir. Dobutamin stres ekokardiyografi, hibernasyon ve bozulmuş sol ventrikül sistolik fonksiyonunun eşlik ettiği aort darlığının tanı ve tedavisi planlamasında faydalı bir tetkiktir.

2.1.8.7.Koroner Anjiyografi ve Kateterizasyon: Koroner arter hastalığı kalp yetmezliğinin en sık sebebidir. Etiyolojik faktörler arasında iskeminin tespiti önemlidir. Ventrikülografik incelemeyle ejeksiyon fraksiyonu tespiti ve kalp kateterizasyonu ile elde edilecek basınç ölçümleri ventrikül performansını ortaya koymaya yardımcı olur. Ayrıca akut miyokard infarktüsü komplikasyonlarının değerlendirilmesinde ve intrakardiyak şantların belirlenmesinde de ventrikülografi önemlidir. Kapak hastalarının teşhisinde hemodinamik inceleme ve transplantasyon düşünülen hastaların tespitinde koroner anjiyografi ve sağ / sol kalp kateterizasyonu önemlidir. Konjenital kalp hastalıklarında elde edilen hemodinamik veriler, şant oranları ve ek patoloji varlığının tespiti de bu hasta grubunda önemlidir.

2.1.8.8.Elektrofizyolojik Monitörizasyon: Senkop, presenkop ve resüsitasyondan geçen hasta grubunda aritmi tespiti açısından elektrofizyolojik tetkikler önemlidir. Kalp yetmezliği hastalarında ventriküler aritmiler çok sık olmakta ve bu hastaların %50'sinde ani kardiyak ölüm meydana gelmektedir. Özellikle holter monitörizasyonu ve elektrofizyolojik inceleme ile saptanan ventriküler aritmilerin tedavisinde ICD kullanılmasıyla prognozda sağlanan iyileşme ayrıca antiaritmik medikasyonun seçimi ve medikal tedavi altındaki hastaların takibi bu tür ileri incelemelerin önemini artırmaktadır.

2.1.8.9.Endomiyokardiyal Biyopsi: Sistemik hastalık nedenli kardiyomiyopatiden şüphelenilen hasta grubunda faydalıdır. Miyokarditte düşük diyagnostik kapasitesi nedeniyle rutin olarak önerilmemektedir. Transplantasyon hastalarında rejeksiyon takibinde önemlidir. Aritmi ve perforasyon gibi komplikasyonlara yol açabilir.

2.1.9.Prognoz:

Tüm kalp yetmezlikli hastalarda 5 yıllık yaşam beklentisi yaklaşık % 50 civarındadır. İleri dönem kalp yetmezliğinde ise yıllık mortalite % 30-40 oranındadır. Kalp yetmezliğinde ölümün %90'dan fazla sebebi kardiyovasküler kaynaklıdır. En önde gelen ölüm sebepleri ise kötüleşen kalp yetmezliği (dekompansasyon) ve ani kardiyak ölümdür. MERIT-HF fonksiyonel sınıfı NYHA sınıf II olan hastalar daha çok (%64) ani ölüm ile kaybedilirken fonksiyonel olarak NYHA sınıf IV olan hastaların ölüm nedeni daha çok (%33) pompa yetersizliğidir (49).

2.2.KARDİYOMİYOPATİ:

Kardiyomiyopatiler WHO(Dünya sağlık örgütü) tarafından kardiyak disfonksiyonla ilişkili miyokardiyal hastalıklar olarak tanımlanmıştır. Bu sınıflama kalp kası hastalıklarının patogeneze yönelik yeni elde edilen bilgileri de yansıtmaktadır.(tablo-3) Kardiyomiyopati ile gelen herhangi bir hastada etiyolojisinin belirlenmesi son derece önemlidir, çünkü spesifik

tedavi kardiyak disfonksiyon geriletebilir. Endomiyokardiyal biyopsi özellikle restriktif ve konstriktif kardiyomiyopati ayrımında ve antrasiklin toksisitesinin monitörizasyonunda olmak üzere spesifik hastalıkların tanısında yararlıdır.

Kardiyomiyopati etiyolojik faktörlere göre 6 alt grupta incelenebilir.

1-Dilate Kardiyomiyopati

İdiyopatik

Familiyal/Genetik

Viral ve/veya immün

Alkol/Toksik

Bazı spesifik Kardiyomiyopati

2-Hipertrofik Kardiyomiyopati

3-Restriktif Kardiyomiyopatiler

İdiyopatik miyokardiyal fibrozis

Endomiyokardiyal ve Löffler'in endokardiyal fibrozisi

4-Sağ Ventriküler Kardiyomiyopatiler

Aritmojenik Sağ Ventrikul Displazisi

Uhl anomalisi

5-Sınıflandırılmayan Kardiyomiyopatiler

Fibroelastozis

Noncompacted miyokardiyum

Sistolik disfonksiyon ve minimal dilatasyon

Mitokondriyal miyopatiler

6-Spesifik Kardiyomiyopatiler

Valvüler

Hipertansif

İnflamatuvar veya infeksiyöz

İskemik

Taşikardi sebepli

Metabolik

Genel sistemik hastalıklar

Nöromüsüler bozukluklar

Allerjik ve toksik reaksiyonlar

Peripartum

Tablo-3: Kardiyomiyopati sınıflaması (WHO 1996 sınıflaması)

Herbir alt grubun tedavi stratejisi etiyolojik faktörlere ve semptomatolojisine göre düzenlenir.

2.2.1.İSKEMİK KARDİYOMİYOPATİ:

İskemik kardiyomiyopati koroner arter hastalığı nedeniyle oluşan miyokardiyal duvar hareket anormallikleriyle birlikte EF %40 altında olarak tanımlamakta olup Amerika'daki en sık Kardiyomiyopati nedenidir. Önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Geçmişte 5 yıllık surveyi %40 olarak rapor edilmiştir.(49) Uygun aerobik solunumun sağlanabilmesi için miyokardın yeterli perfüzyonu gerekir. İskemi, skar ve hiberne miyokard dokusu canlılığını korumakta olup perfüzyon sağlandığında miyokard dokusunda iyileşmeler olabilir. Ayrım için PET, dobutamin stres echo ve miyokardiyal kontrast echo ve talyum-201 miyokard perfüzyon sintigrafisi gibi yöntemlerle yapılabilir.(50) Diffüz küçük damarlardaki ateroskleroz da kardiyak miyositlerde iskemi ile ilişkili disfonksiyon oluşturur. Diyabetik kardiyomiyopati epikardiyal damar hastalığı kadar kısmen küçük damarlardaki diffüz subendokardiyal aterosklerozla da ilişkilidir. İskemik ve non-iskemik kardiyomiyopati ayrımı son derece önemlidir. İKM hastalar her zaman olmasada sıklıkla göğüs ağrısı, miyokardiyal infarktüsü ve anormal EKG bulgularına sahiptirler. Yeterli perfüzyonun sağlanması klinik olarak kalp yetersizliğinin ilerlemesinin yavaşlatılmasında anahtar mekanizmadır. Anjiyografi sırasında kalbin perfüzyon viabilite ve fonksiyonel çalışmaları ile ilgili bilgiler iskemi, skar, hibernasyon ve preinfarkt stunningin kalp yetersizliğinin remodeling sürecine olan katkılarını ayırt edebilir.

2.2.1.1.İskemik/Noniskemik Kalp Yetersizliği:

Koroner arter hastalığı toplumda kalp yetersizliğinin en sık sebebidir. İskemi ve infarktüs sonucu sağ-sol, akut-kronik, sistolik veya diyastolik kalp yetersizlikleri meydana gelebilir. En önemli mekanizma miyokard infarktüsü ile oluşan miyokard nekrozudur. Koroner arter hastalarında stunning ve hiberne miyokard varlığının tespiti tedavi ile geri dönüşüm açısından önemlidir çünkü kardiyak miyositler canlı durumdadır ve reperfüzyonla fonksiyonel iyileşme göstermektedir. Stres-ekokardiyografi, Positron Emisyon Tomografi, miyokard sintigrafisi ayrımda yardımcı tetkiklerdir. Diğer bir mekanizma miyokard infarktüsü sonrası patolojik remodeling sonucu gelişen iskemik kardiyomiyopatidir. Ventrikülde anevrizma gelişimi, fibrozis, ventriküler ve atriyal aritmiler, papiller kas iskemisi veya anüler dilatasyon sonucu oluşan mitral yetersizliği ve nörohormonal aktivasyon gibi birçok faktör kardiyak dilatasyon ve kalp yetersizliğine doğru ilerlemeye sebep olur. İskemik

kardiyomiyopati büyük epikardiyal koroner damarların aterosklerotik daralması ile ilgilidir. Ancak diffüz küçük damar hastalığı da iskemiye yol açarak miyokard disfonksiyonuna sebep olabilir. Diyabetik hastalarda epikardiyal koroner arterlerde aterosklerotik daralma olabileceği gibi küçük damar hastalığı da olabilir. İskemik ve noniskemik kalp yetersizliği tedavideki farklar açısından birbirlerinden ayrılmalıdır. İskemik kalp yetersizliğinde sıklıkla geçirilmiş miyokard infarktüsü öyküsü, göğüs ağrısı, miyokard iskemisi ve infarktüsünün elektrokardiyografik bulguları, ekokardiyografik olarak tespit edilen duvar hareket bozuklukları ve anjiyografik olarak epikardiyal damarlarda daralma tespit edilir. Canlılık araştırması kılavuzluğunda yapılan reperfüzyon ve patolojik remodelingin önlenmesine yönelik tedavi stratejileriyle sağkalım oranları yükselmektedir. İleri dönem kalp yetersizliği dinamik dönem olarak nitelendirilir. Bu dinamik dönemde birçok mekanik, moleküler, immünolojik, iskemik, proaritmik, vasküler ve müsküloskeletal kuvvetlerin semptomatoloji ve bozulmayı hızlandırdığı bilinmektedir. Bu süreçlerin tanınması ve uygun tedavisi sonucunda miyokardiyal disfonksiyonun progresyonunun yavaşlaması belki de geri dönüşümü mümkün olabilmektedir(48). Dikkat edileceği üzere henüz hastalık semptom ve bulgularının ortaya çıkmadığı hatta kalpte yapısal değişikliklerin gözlenmediği ancak risk faktörlerinin olduğu ilk evreye işaret etmektedir.

2.2.1.2.Yeniden Yapılanma(Remodeling):

Kalp yetersizliği, remodeling olarak tanımlanan sürecin sonucu olarak meydana gelir. Remodeling, bölgesel veya global olabilir. Artmış ventriküler kitle ve volümleri, ventriküler şekil değişikliği ve intersitisyel proliferasyonla karakterizedir. Sistolik disfonksiyon sonucunda yeterli stroke volümü sağlamak amacıyla adaptif bir mekanizmayla ventrikül kavitesi genişlemekte ve sonuçta düşük kontraktıl fonksiyonla yeterli stroke volüm sağlanmaya çalışılmaktadır. Remodeling miyokardiyal ve intersitisyel kitle artışına sebep olur. Sol ventrikül duvar kalınlığının artışı duvar stresini artırarak Laplace kanunu gereği kontraktilitede artışa sebep olur. Remodeling hücresel seviyede miyosit hipertrofisi, miyosit kaybı ve intersitisyel fibrozis ile ortaya çıkmaktadır. Miyosit hipertrofisinin başlangıç stimülasyonu mekanik gerilme iken, fibrozis stimülasyonu humoral orijinlidir. İn vitro çalışmalarda anjiyotensin II'nin miyositlere toksik etkili olduğu ve kollajen depolanmasını artırdığı gösterilmiştir. Anjiyotensin II ve aldosteronun kültüre edilmiş kardiyak fibroblastlarda kollajen stimülasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Miyosit hipertrofisinde etkili diğer mediyatörler ise endotelin-1, anjiyotensin II, α -agonistler (norepinefrin) ve kardiyak büyüme faktörleridir(48).

2.2.1.3.Mekanik Etkenler:

Ventrikül çaplarında meydana gelen artış Laplace kanunu gereğince duvar stresini artırır. Artmış duvar stresi, duvar kalınlığının artırılması ile azaltılmaya çalışılır. Ancak bu durum ventrikülün sertliğini artırarak relaksasyon ve doluş kusuruna sebep olur. Frank-Starling yasasına göre çalışan kalpte istirahatte normal kardiyak debi ve normal ventriküler performans gözlenirken, egzersiz sırasında ileriye doğru kardiyak debide belirgin artış olmadan pulmoner basınçta ciddi artış ve pulmoner konjesyon meydana gelir. Kalp yetersizliğinin ileri döneminde ventrikül sferik bir şekil alır. Sferizasyon yüksek sistol sonu duvar stresi ve kas fibrillerinin anormal dağılımı sonucudur. Ventrikül sferisitesi arttıkça kontraktilite daha da bozulur. Fonksiyonel mitral yetersizliği, ileri dönem kalp yetersizliğinin sık karşılaşılan bulgusudur. Mitral anüler dilatasyon, papiller kas ve duvar hareket anomalileri ve artmış kavite sferisitesi nedeniyle meydana gelir. Sferisite artışı papiller kasların laterale deviasyonuna ve mitral leafletlerin koaptasyonunda bozulmaya sebep olur(48).

2.2.1.4.Subendokardiyal Koroner Arter Hastalığı:

Koroner arter hastalığı, infarktüs ile miyosit kaybı, miyokardiyal fibrozis ve remodeling, miyokardiyal ‘stunning’ ve ‘hibernasyon’ ile kalp yetersizliğine sebep olur. Miyokardiyal stunning, iskemik olay sonrasında koroner kan akımı sağlanmasına ve irreversibl hasar oluşmamasına rağmen miyokardiyal fonksiyonların gecikmiş toparlanması olarak tanımlanır. Hasarlanmanın serbest oksijen radikalleri ve artmış sitosolik kalsiyum sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Miyokardiyal toparlanma süresi iskemik periyodun süresi ile ilişkilidir. Hibernasyon, kronik stunning veya uzamış iskemi sonucunda gelişen ve potansiyel olarak dönüşümlü olduğu bilinen ventriküler disfonksiyonu tanımlar. Miyositler canlı kabul edilir ve revaskülarizasyon sonrası fonksiyonları dönüşümlüdür. Koroner kan akımının yetersizliği derecesinde kontraktıl disfonksiyon gözlenir. Kalp dokusu iskemiye yanıt olarak enerji gereksinimini azaltır ve fonksiyonel bir adaptasyon sürecine girer. Son zamanlarda hibernasyonun tekrarlayan stunning epizotları sonucunda oluştuğuna dair deliller artmaktadır. Vanoverschelde ve arkadaşları bu mekanizmayı ortaya koymuşlardır. Positron emisyon tomografi, talyum sintigrafisi ve stres ekokardiyografi tanıda yardımcı tetkiklerdir. Revaskülarizasyonla hiberne miyokardın fonksiyonları yerine gelmekte ve yaşam beklentisi artmaktadır(48).

2.2.1.5.İskemi:

Subendokardiyal bölgenin koroner perfüzyondaki azalma, bu bölgenin kontraksiyona katkısını azaltmaktadır. İleri dönem kalp yetersizliğinde taşikardi ve duvar stresindeki artış nedeniyle miyokardiyal oksijen ihtiyacı artmaktadır. İntramiyokardiyal basınç artışı etkisini

en çok subendokardiyal alanda gösterdiğinden en fazla duvar stresi ve en çok oksijen ihtiyacı bu alanda meydana gelir. Subendokardiyum düşük koroner akım durumunda kan akımı azalan ilk bölgedir. Taşikardi, hem miyokardiyal oksijen ihtiyacını artırır hem de diyastol süresini kısaltarak oksijen sunumunu azaltır. Artmış diyastolik doluş basınçları da subendokardiyal beslenmeyi olumsuz yönde etkiler. Subendokardiyal kan akımı azalmasına bağlı olarak fibrozis oluşur , laktat artar, kreatinin fosfat ve ATP azalır. Ventrikül çaplarının azaltılması, koroner perfüzyon basıncının artırılması, sol ventrikül end-diyastolik basıncının azaltılması ve kalp hızının azaltılması subendokardiyal perfüzyonu artırarak enerji ihtiyaç-sunum dengesini düzeltebilir(48).

2.2.1.6.Miyosit Kaybı:

Kalp yetersizliğinde nekrozis ve apoptozis ile miyosit kaybı olur. Norepinefrin salınımı ve anjiyotensin II ve aldosteron model sistemlerde miyosit nekrozuna sebep olmaktadır. Apoptozis hücrelerin kendi DNA'larının kendi enzimleriyle hasarlanması sonucu ölümüyle karakterize ve enerji gerektiren bir olaydır. Komşu hücrelerle yüzey bağlantısının kaybı, kromatin yoğunlaşması, kromozomal DNA'nın fragmentasyonu meydana gelir. Sonuç selüler dejenerasyon ve makrofajlar tarafından fagositozudur. Apoptozis fizyolojik olarak organ sistemlerinin maturasyonunda (embriyogenez) görülür. Ancak normal şartlarda olgunlaşmış hücrelerde gözlenmez. Kalp yetersizliğinde apoptozise sebep olan genlerde (p53) artış mevcuttur. TNF α da apoptozisi tetikleyen sitokinlerdendir.(48)

2.2.1.7.Aritmogenesis:

Ani ölüm, ACE-İ ile tedavi edilen ileri dönem kalp yetersizliği hastalarında %28-62 sıklıkta oluşur. Geniş infarkt alanları reentry sonucu malign aritmi oluşturmaya daha yatkın bölgelerdir. Tek başına iskemi de aritmiye sebep olabilir. Gerek iskemik gerekse noniskemik kardiyomiyopatide subendokardiyal iskemi zaten mevcuttur. Sol ventriküler hipertrofi, iskemik ve noniskemik kardiyomiyopati hastalarda artmış ani kardiyak ölüm riskini artırmaktadır. Aritmi mekanizmaları olarak azalmış istirahat membran potansiyeli, artmış eksitabilite, intersitisyel fibrozis sonucu ileti yavaşlaması ve anormal intraselüler kalsiyum tutulumu, sempatik tonusta artış, elektrolit dengesizlikleri (potasyum ve magnezyum gibi) sorumludur(48).

Noniskemik kalp yetersizliği, sebebi iskemik olmayan kardiyak disfonksiyon sonucu meydana gelen kalp yetersizliğini olarak tanımlanır.

2.2.1.8.Koruma

Koroner arter hastalığının kalp yetmezliğinin en sık sebebi olduğu düşünüldüğünde koroner arter hastalığı için yapılacak primer ve sekonder koruma kalp yetmezliğinin gelişme

sıklığını azaltacaktır. Bu amaçla kullanılan aspirin, statinler, ACE-İ, beta blokerler gibi ilaçlar, diyet ve yaşam stili modifikasyonu kalp yetmezliği görülme sıklığını azaltacaktır. Akut romatizmal ateş profilaksisi ve infektif endokardit profilaksisi gelişebilecek kapak disfonksiyonuna bağlı kalp yetmezliği ve akut mekanik komplikasyonları önlemede önemlidir.

2.2.2.DİLATE KARDİYOMİYOPATİ

Dilate kardiyomiyopati(DKM) kalp boşluklarının genişlemesine sebep olan ventriküler yeniden yapılanma (remodeling), normal veya azalmış duvar kalınlığı ve azalmış sistolik fonksiyonla karakterize bir hastalıktır. Sistolik fonksiyonda azalma (EF %40'ın altında) sol ve/veya sağ ventrikülde görülebilir. Eksantrik hipertrofi nedeniyle kalbin total kitlesinde artış mevcuttur. Miyokardiyal remodeling, azalmış EF ve stroke volüm, artmış kavite volümü ve artmış kavite basınçlarıyla birlikte hemodinamik bozulmaya yol açar. Bu durum norö hormonal aktivasyonu tetikler(9). Dilate kardiyomiyopati insidansı yıllık popülasyonda 100.000'de 5-8 olgu olarak bildirilmektedir ve giderek artış göstermektedir. Ancak hafif ve asemptomatik olguların bildirilmemesi nedeniyle gerçek rakam muhtemelen daha fazladır(51). DKM kadınlar ve beyazlarla karşılaştırıldığında siyahlarda ve erkeklerde yaklaşık üç kat daha sık ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle siyahlarda ve erkeklerdeki sağkalım oranları daha kötü gibi görünmektedir(52). Hastalığa spesifik kardiyak ve ekstra kardiyak semptom ve bulgular kardiyomyopatinin etiyolojisi hakkında fikir verebilir. DKM, kardiyomiyopatiler arasında en sık karşılaşılandır. 75 ten fazla kalp kası hastalığı klinik DKM belirtileri gösterir.

2.2.2.1.Patofizyoloji:

IDKM sol ventrikül sistol sonu ve diastol sonu volüm artışı ve ejeksiyon fraksiyonunda azalmayla karakterizedir. Sol ventrikül kitle-volüm indeksi tüm kardiyomiyopatilerde olduğu gibi artmıştır. Kalp ağırlığı artmış olsa da hipertrofi dilatasyona göre beklenenden daha azdır(53). Anatomik olarak kalp kapakları normaldir. Koroner arterler genellikle normaldir. Mikroskopik olarak myositlerde atrofi, hipertrofi, nekroz miyosit çekirdek büyüluğünde artış, büyük yuvarlak hücre infiltrasyonu, intersitisyel fibrozis, miyoflament kaybı, intersitisyel T lenfositlerde ve makrofajlarda artış, golgi cisimcikleri görülebilir(54).

IDKM etiyopatogenezi üzerindeki araştırmalar dört mekanizma üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlar;

- 1-Familyal ve genetik faktörler,
- 2-Viral miyokardit ve kardiyak hasarlanma,
- 3-Anormal immün yanıt
- 4-Metabolik, enerjetik ve kontraktil anomalilerdir.

Eksojen hasarlanma ve myosit değişiklikleri hücrelerin genetik programlarında değişikliklere neden olabilir. Hücrelerin fetal genetik programa dönüşü, hipertrofi ve malformasyonla sonuçlanır. Bu durum da ventrikül kavitesinde dilatasyona sebep olur. Hücrelerin alkol veya doksorubisin ile hasarlanması miyokardiyal remodeling sebebidir. IDKM'de tetikleyici faktörler bilinmemektedir. Familyal IDKM olarak tanımlanan hastalar %5-10 oranında ailesel hikayeye sahip olan gruptur. IDKM grubunda birtakım gen ekspresyonları tespit edilmiştir. Örnek olarak ACE (DD) genotip, HLA Class II DR4 ve Dqw4 antijeni ve distrofin geninin Xp21 lokusu gösterilebilir(55). Mitokandriyal DNA'yı tutan mutasyonlarda bildirilmiştir(56).

Viral miyokardit çoğu zaman kendiliğinden iyileşirken aberan bir immün cevap ve süregelen inflamatuvar miyokardit sonucu DKM tablosuyla sonuçlanabilir. Ancak IDKM sebebinin viral miyokardit olma ihtimali kanıt gerektirir. Açık olarak Miyokardda viral genomik parçacıklar tespit edilmemiştir. Viral miyokarditin etyolojisinde mikrovasküler spazm da rol oynayabilir. Verapamil ve prazosin mikrovasküler spazmı engelleyerek Hamster kardiyomiyopatisi ve Chagas kardiyomiyopatisini gerilettikleri gösterilmiştir(57). IDKM'de immün sistem anomalisini gösteren hücrel ve humoral birtakım değişiklikler tanımlanmıştır. T lenfositlerinin aktivitesinde azalma ve CD4(T-helper) CD8(süpressor lenfosit) oranında bozukluk bulunmuştur. Çeşitli kardiyak antijenlerle(aktin, miyosin,tropomiyosin,ADP/ATP, kardiyak reseptörü gibi) etkileşen otoantikörlerin seviyelerinde artış gözlenmiştir. Ancak bu değişikliklerin patolojinin sebebi veya disfonksiyonun sonucu olup olmadığı açık değildir. Hücrel enerji metabolizmasında, kalsiyum alımında, guanin nükleotid bağlayıcı regülatuar proteinlerde, beta adrenerjik reseptörlerde kalp yetmezliğini kötüleştiren ve belki de hastalığın sonucu olarak ortaya çıkan birçok bozukluklar mevcuttur. Dilate kardiyomiyopati hastalarının koroner arterlerinde endotel disfonksiyonu gösterilmiştir. TNF α salınımı nitrik oksitin stimüle edilmiş salınımını azaltırken nitrik oksit sentaz enzimini (iNOS) ise artırır. ACE ise bradikiniyi yıkarak bu mekanizmaya katkıda bulunur. Ayrıca endotelin seviyesindeki artış da endotel disfonksiyonu sebebidir. Artmış iNOS aktivitesi nedeniyle bazal nitrik oksit seviyelerindeki artış istihatte kronik vazokonstrüksiyondan koruyucu mekanizma olabilir.

2.2.2.2.Klinik ve Tedavi:

Hastaların çoğu düşük kardiyak output ve sıvı retansiyonu semptom ve bulgularıyla başvurur. EKG’de pseudoinfarkt olarak tanımlanan Q dalgaları görülebilir. Genellikle hem sağ hem de sol taraflı konjesyon semptomları mevcuttur. Aritmi ve ani ölüm sıktır. Antikoagülasyon yapılmayan vakalarda yılda %1-6 oranında pulmoner ve sistemik tromboembolizm görülür. Ortalama 5 yıllık survi %50 oranındadır.

ACE inhibitorleri, beta blokerler ve diğer medikasyonların agresif kullanımıyla yaşam beklentisi artmaktadır(9). Tedavisinde destek tedavi (diyet, sıvı-tuz kısıtlaması , toksinlerden uzak durma, egzersiz), medikal (diüretikler, digoksin, beta blokerler, ACE-İ, AT-II reseptör blokeri, pozitif inotropik ajanlar, antikoagülanlar, antiaritmikler), kalıcı pace-maker implantasyonu (kardiyak resenkronizasyon tedavisi), intrakardiyak defibrilatorler, ventriküler asist devices ve cerrahi prosedürler kardiyomyoplasti, mitral ve triküspit kapak onarımı ve parsiyel sol ventrikülektomi, kardiyak transplantasyon) uygulanabilir. kötü Prognozla İlişkili Parametreler (tablo 4) gösterilmiştir.

Sol ventrikül end-diyastolik volümde artma
Sağ ventrikül end-diyastolik volümde artma
Ejeksiyon Fraksiyonunda azalma
Ventrikül kitle/volüm oranında azalma
Sol ventrikül global duvar hareket anomalisi
NHYA Class IV semptomları
İleri yaş(55 yaş üzeri)
Erkek cinsiyet
Senkop atağı öyküsü
Sağ kalp yetersizliği semptomları
Persistan S3
Semptomatik ventriküler taşikardi
Hiponatremi
Norepinefrin seviyesinde artma
Atriyal natriüretik peptid seviyelerinde artma
Brain natriüretik peptid seviyelerinde artma
Hiperreninemi
PCWP>20 mmHg
Kardiyak index<2.5/l/dak/m²
Sistemik hipotansiyon
Pulmoner hipertansiyon
Santral venöz basınçta artma
PA Akciğer garfisinde kardiyotorasik oranda artma
EKG’de I veya II derece A-V blok, sol dal bloğu
Stres test-MVO₂<10-12 ml/kg
Endomiyokardiyal biyopside intraselüler miyofilament kaybı

Tablo 4: Prognozla ilişkili parametreler

2.2.2.3.IDKM’de Ekokardiyografik Bulgular:

IDKM’li hastalar azalmış sol ventrikül kontraksiyonu, düşük kardiyak output’un ekokardiyografik bulguları ve yüksek intrakardiyak basınçlarla karakterizedir. En fazla genişleme sol ventrikülde olmasına rağmen kalbin dört boşluğu da genişlemiştir. Duvar kalınlığı genellikle normaldir ve global sistolik disfonksiyon gözlenir. İki boyutlu ve M-mode

görüntülemelerde artiyoventriküler kapaklar ve subvalvüler yapı anatomik olarak normaldir. Kapak kalınlıkları ve hareketleri normal olarak izlenir. Artmış sol ventrikül doluş basıncı ve fonksiyonel mitral yetersizliği sol atriyal dilatasyona katkıda bulunur. Dilatasyon daha çok kalbin kısa ekseninde olduğu için sol ventrikül sferik olarak görülür. Diyastolik disfonksiyon olan grupta mitral inflow akımlarında değişkenlik görülür. Sinüs ritmindeki hastalarda relaksasyon uzaması, pseudonormalizasyon ve restriktif patern görülebilir. İzovolümetrik relaksasyon enerji gerektiren bir olaydır ve diyastolik disfonksiyonda sol ventrikül relaksasyonunda bozulma meydana gelir. İleri diyastolik disfonksiyonda (restriktif patern) izovolümetrik relaksasyon zamanı (İVRZ) kısalmıştır. Özellikle sol ventrikül ve sol atriyum içinde spontan ekokontrast veya mural trombus görülebilir. IDKM’de bir grup hastada segment hareket kusuru izleneceğinden iskemik kardiyomiyopati ile karışabilir. Bir diğer sık bulgu ise mitral kapak anüler dilatasyonu veya papiller kas disfonksiyonuna bağlı oluşan mitral yetersizliğidir. Dilate kardiyomiyopatide fonksiyonel mitral yetersizliği varlığının mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. IDKM de pulmoner yatakta meydana gelen basınç artışı nedeniyle oluşan fonksiyonel triküspit kapak yetersizliği sık tespit edilen ekokardiyografik bir patolojidir. Fonksiyonel triküspit yetersizliği jetinde “continuous wave Dopplerle elde edilen akım paterninden pulmoner arter sistolik basınçları hesaplanabilir. Pulmoner hipertansiyon sebebiyle pulmoner arter çapında genişleme ve pulmoner akselerasyon zamanında kısalma tespit edilir. Sağ ventrikülü tutan kardiyomiyopatilerde ventriküler volüm yüklenmesi görülür. Masif sağ ventrikül dilatasyonu gözlenir. Bu hastalarda pulmoner kapağın diyastolik açılımı ve gecikmiş triküspit kapak kapanması gözlenebilir. Sağ ventrikül sistolik disfonksiyonu sol kalp yetersizliğinin ileri döneminde veya sağ ventrikülün inotropik fonksiyonunu bozan patolojiler sonrasında meydana gelir. Sağ ventrikül end-sistolik ve end-diyastolik çaplarında artış ve sistolik fonksiyonlarında azalma tespit edilir. Doku Doppler inceleme ile bölgesel duvar hareket amplitüdlerinde azalma tespit edilmesi global hipokinetik hareketin varlığı ve mitral annuler bölge hareketlerinde azalma önemlidir.

2.2.2.4. IDKM’de Koroner Anjiyografi ve Kardiyak Kateterizasyon Bulguları:

IDKM’yi kalp yetersizliğinin en sık sebebi olan koroner arter hastalığından ayırmada en önemli özellik büyük epikerdiyal arterlerin normal olmasıdır. IDKM’li hastalardaki bulgular, koroner anotominin normal olması, sol ventrikül global sistolik disfonksiyonu ve sağ ve sol kalp basınçlarında yükselmedir. Sol ventrikülografide, kardiyomegali, ve global hipokinezi tespit edilir. Gerekli hallerde kateterizasyon sonrası etiyolojiyi belirlemek amacıyla kardiyak biyopsi örnekleri alınabilir. Kardiyak output

azalmasına bağı renal perfüzyonda azalma olduğundan, kontrast madde dikkatli kullanılmalıdır. Sağ ve sol kalp kateterizasyonu sırasında geçici dal blokları ve aritmiler meydana gelebilir ancak genellikle iyi seyirlidir.

2.2.3. KALP YETMEZLİĞİNİN TEDAVİSİ:

Geçen 10 yıl boyunca kalp yetmezliğine yaklaşımda önemli değişiklikler olmuştur. Güncel tedavi sadece semptomatik düzelme ile ilgilenmez, asemptomatik kardiyak disfonksiyonun semptomatik kalp yetmezliğine ilerlemesini önlemeye, kalp yetmezliğinin progresyonunu düzenlemeye ve mortaliteyi azaltmaya odaklanmaktadır. Progresyonu yavaşlatmak için yeni önleyici tedaviler bir süre sonra belirgin hale gelir. Oysa saf semptomatik tedaviler genellikle daha hızlı etkilidir. Bu nedenle kısa süreli ve uzun süreli amaçlar her hasta için belirlenmelidir. Önemli tedavi hedefleri kardiyak remodeling, nöroendokrin ve sitokin aktivasyonu, sıvı retansiyonu ve renal disfonksiyonu kapsar(58).

2.2.3.1. Tedavinin anahtarları:

1. Hastanın kalp yetmezliği olduğunu saptamak
2. Prezente özellikleri saptamak; pulmoner ödem, egzersiz dispnesi, yorgunluk, periferik ödem
3. Semptomların şiddetini ölçmek
4. Kalp yetmezliğinin etiyolojisini belirlemek
5. Presipite eden, alevlendiren faktörleri ve diğer hastalıkları saptamak
6. Kalp yetmezliği ve tedavisi ile ilişkili eşzamanlı diğer hastalıkları saptamak
7. Prognozu tahmin etmek
8. Komplikasyonlar için önlem almak
9. Hasta ve akrabalarına tavsiyeler
10. Uygun tedaviyi seçmek
11. Progresyonu izlemek ve uygun şekilde tedavi etmek

Miyokard disfonksiyonu mevcut olduğunda ilk amaç mümkün ise altta yatan ventriküler disfonksiyonu (iskemi, toksik maddeler, alkol, ilaçlar, tiroid hastalığı) kaldırılmalıdır. İkinci amaç asemptomatik sol ventriküler disfonksiyonunda kalp yetmezliğine progresyonu modüle etmektir (58).

Tedavi seçenekleri;

1. Non-farmakolojik tedavi
2. Farmakolojik tedavi
3. Aletler ve cerrahi

- Revaskülarizasyon (kateter girişim ve cerrahi), diğer cerrahi formlar
- Pacemakerlar
- İmplant edilebilen kardiyoverter defibrilatörler (İCD)
- Kalp transplantasyonu, ventriküler destek aletleri, yapay kalp
- Ultrafiltrasyon, hemodiyaliz

2.2.3.2. Farmakojik olmayan tedavi

Genel tavsiye ve ölçümler, hastanın ve ailesinin eğitimi gibi konuları içerir. Kilo kontrolü, hastalara düzenli aralıklarla kendilerini tartmaları, 3 günde 2 kilodan fazla kilo artması gibi beklenmedik kilo alımında konsülte edilmeli, diüretik dozu ayarlanmalıdır.

Besinsel ölçümler-Sodyum: Sodyum tuzu yerine başka şeyler kullanılmalı fakat bunların potasyum içerebileceği hakkında uyarılmalıdır (58).

Sıvılar:İleri kalp yetmezliği olanlarda hiponatremi olsun ya da olmasın sıvı alımı kısıtlanmalıdır. Sıvı kısıtlanmasının tam miktarı halen net değildir. İleri evre kalp yetmezliğinde 1,5 - 2 lt sıvı kısıtlaması önerilir (59).

Alkol:Orta düzeyde alkol alımına izin verilir. Alkolik kardiyomiyopatiden şüphelenilen olgularda alkol tüketimi engellenmelidir(59).

Obesite:Kronik kalp yetmezliğinin tedavisi aşırı kilolu ve obeslerde kilo vermeyi de kapsar(60).

Anormal kilo kaybı:İleri evre kalp yetmezliği olan hastaların yaklaşık % 50'sinde klinik ya da subklinik malnütrisyon mevcuttur. Total vücut yağının kaybı ve zayıf beden kütlesi kardiyak kaseksi olarak adlandırılan kilo kaybına eşlik eder. Kardiyak kaseksi, azalmış yaşam süresi için önemli bir göstergedir. Bulantı, dispne veya şişkinlik hissi nedeniyle azalmış gıda alımı olduğunda az , sık yemekler endikedir.

Sigara İçme: Sigaradan her zaman yasaklanmalıdır. Sigarayı bırakma konusunda yardım kullanma için desteklenmelidir, bu destekler arasında nikotin replasman terapisi de olabilir (61).

Seyahat Etme:Fazla yükseklik veya çok sıcak ya da nemli yerlerden uzak durulmalıdır. Uzun uçak uçuşları problemlere dehidratasyon, ekstremitelerde aşırı ödem, derin ven trombozuna neden olabilir, hastalar uyarılmalıdır. Diüretiklerin ve vazodilatatörlerin kullanımı sıcak nemli iklimlerde aşırı sodyum ve sıvı kaybı olgularına neden olabilir (61).

Cinsel Aktivite:Eğer uygunsa cinsel aktiviteden önce dilaltı nitratların kullanımı ve major duygusallıktan kaçınılması tavsiye edilmelidir. NYHA sınıf 2 olan hastalar orta risk altındadır. Sınıf 3-4 cinsel aktivite ile tetiklenen kardiyak dekompanseasyon için yüksek risklidir (61).

Aşı Hakkında Tavsiye: Kalp yetmezliği olan hastalarda aşının etkilerinin dökümanate kanıtı yoktur. Pnömonokok ve influenza aşıları kalp yetmezliğini kötüleştirebilen solunum yolu enfeksiyonlarının insidansını azaltabilir(62).

Diğer İlaç Tavsiyesi: Bütün ilaçların istenilen etkileri ve yan etkileri açıklanmalıdır. Kullanılmaması ya da dikkat edilmesi gereken başlıca ilaçlar şunlardır: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, sınıf 1 antiaritmikler, kalsiyum kanal blokerleri, trisiklik antidepresanlar, lityum.

İstirahat: Stabil kronik kalp yetmezliğinde istirahat mutlak değildir. Hastanın klinik durumu düzeldikçe aktif mobilizasyon yapılabilir.

Egzersiz: Zorlu izometrik egzersizler, yarışmacı, zor sporlardan uzak durulmalıdır. Eğer hasta çalışıyorsa değerlendirilmeli ve devamı hakkında tavsiye verilmelidir. Pekçok klinik ve mekanik çalışmalar bazı randomize araştırmalar düzenli egzersizin fiziksel aktiviteyi %15-25 artırabildiğini semptomları ve stabil sınıf 2 ve 3 kalp yetmezliği hastalarının yaşam kalitesi algılarını artırdığını göstermiştir (63).

2.2.3.3.Farmokolojik Tedavi:

Birçok hastada konjestif kalp yetmezliğinin spesifik bir tedavisi yoktur. Tedavi semptomları iyileştirme ve hayat beklentisini artırmaya yönelik olmalıdır (64). Aterosklerotik koroner arter hastalığı kalp yetmezliğinin en sık sebebidir. Birincil ve ikincil korunmada koroner arter hastalığına karşı alınan önlemler önem kazanır. Kalp yetersizliğinde mortalite ve morbidite üzerindeki etkileri kanıtlanmış tedavi yöntemlerinin daha yaygın olarak kullanılması gerekmektedir. Yapılan araştırmalarda kalp yetmezliği olan hasta grubunun 1/3'ü ACE-İ (anjiotensin converting enzim inhibitörü), 2/3'ü ise beta bloker kullanmamaktadır. ACE-İ'leri semptomatik ve asemptomatik hastalarda ilk seçenektir. Özellikle doku ACE inhibisyon gücü fazla olan ajanlar (kinapril, ramipril gibi) kullanımı daha faydalı olabilir. Anjiyotensin reseptör blokerleri ACE-İ'lerine üstünlüğü yoktur ancak ACE-I lerinin kullanılmadığı durumda tercih edilebilir(65). Spesifik kontrendikasyon yoksa tüm özellikle NYHA sınıf II-III hastalarına ve konjesyon olmayan sınıf IV hastalara beta-bloker tedavi önerilmektedir (66,67).

Deneyimler beta-1 selektif antagonistlerin (metoprolol, bisoprolol) veya vasodilatör etkili non selektif antagonistlerin (carvedilol, bucindolol) tedavide yeri vardır. Özellikle BNP (NT-proBNP'yi değil) seviyelerini azaltan ve diüretik etkisi olan intravenoz ajan olan nesiritid seçilmiş vakalarda kullanılabilir (65). Yine intraselüler kalsiyum kullanımını arttıran levosimendan akut dekompanseasyon durumunda kullanılabilecek yeni kuşak ilaçlardır. Digoksin oral kullanılan tek inotropik ajandır. Beta adrenoreseptör agonistleri (Xamaterol,

pirbüterol, ve devamlı dobutamin infüzyonu) ve fosfodiesteraz inhibitörleri (milrinon, amrinon, enoximone, pimabendan, flosequinon) düzenli kullanımda olmayan ilaçlardır. Bu ilaçlar cAMP artışıyla hücre içi kalsiyumu artırıp kontraktıl cevaba sebep olurlar. Ancak bütün bu ajanlarla yapılan çalışmalarda ani kardiyak ölüm riskinde artış gözlenmiştir. Ayrıca bu ajanlarla akut hemodinamik düzelme gözlenmesine rağmen kronik olumlu etkiler elde edilememiştir. Uzun dönemli tedavilerde edinilen olumsuz deneyimler klinisyenleri kısa önemli aralıklı inotropik tedavi uygulamaya yöneltmiştir. Bu uygulama özellikle dekompanse kalp yetmezliğinde ve düşük kardiyak output nedeniyle renal fonksiyonları bozulan kardiyorenal sendromlu hasta grubunda faydalı olabilir. Ancak bu tedavi şeklinin de mortaliteyi artırdığına dair iki küçük çalışma da bildirilmiştir(64). Antikoagülasyon kronik ve paroksizmal atriyal fibrilasyon hastalarında rutin olarak önerilse de sinüs ritmindeki hastalarda bunu destekleyen bilgi bulunmamaktadır. Bu yüzden kronik antikoagülasyon atriyal fibrilasyon veya flutter olan, geçirilmiş embolik olay öyküsü bulunan ve trombüs varlığı tespit edilen hasta grubunda önerilebilir(64,65). Nörohormonal mediyatörler, sitokinler ve oksidatif stres blokerlerinin geliştirilmesi ve tedavide kullanıma girmeleri ile ek faydalar sağlanacaktır. İleri dönem kalp yetmezliğinde mekanik destek tedavisi yönündeki araştırmaların sonuçları prognoz üzerine olumlu etkiler getirebilir. Artifisiyal kalp ve Xenotransplantasyon çalışmaları, irreversibl kalp yetmezliğinde, uzun dönemde çözüm olabilecek bir yöntem olarak görülmektedir. Kardiyak resenkronizasyon için biventriküler kalp pili hem semptomatik hemde remodeling üzerine ve belki de mortalite üzerine faydalı etkileri nedeniyle uygun hasta grubuna kullanılabilir. Miyosit ve gen replasman tedavisi ufuktaki umut verici tedavi yöntemleridir (68).

2.2.3.4.Kronik Kalp Yetersizlikli Hastaların Tedavisinde Kullanılan İlaçlar:

1-Diüretikler:Tiyazidler,loop diüretikleri, potasyum tutucu ajanlar

2-Renin-anjiyotensin-aldosteron sistem inhibitörleri :ACE inhibitörleri,AT reseptör blokerleri, Aldosteron antagonistleri

3-Beta adrenerjik reseptör blokerleri: Kardiyoselektif beta blokerler, Nonselektif beta blokerler

4-Dijital glikozidler

5-Direkt vazodilatatörler : Nitratlar, Hidralazin, Kalsiyum kanal blokerleri ,vazodilatatör prostaglandinler,natriüretik peptidler,fosfodiesteraz inhibitörleri

6-Diğer: Dopamin, dobutamin, nesiritid, levosimendan, sitokin inhibitörleri, endotelin antagonistleri, nötral endopeptidaz inhibitörleri ,TNF-alfa inhibitörleri, antitrombotik ajanlar, antiaritmik ilaçlar

2.2.3.4.1.ACE-İ (Angiotensin Converting Enzim İnhibitörleri):

Kronik sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu, kalp yetmezliği sendromunun ilerlemesinde nörohumoral aktivasyonun önemli rolü vardır. Başlangıçtaki sempatik tonus artışı ve parasempatik tonusta azalmadan sonra renin- anjiotensin sistemi aktive olur. Böbreklerden salınan renin ile kanda dolaşan anjiotensinojen inaktif anjiotensine o da damar çeperlerinde yaygın olarak bulunan bir dönüştürücü enzim ile hayli aktif olan anjiotensin 2'ye dönüştürülür. Anjiotensin 2, adrenallerde sodyum tutulumuna yol açan aldosteron salınımına ve belirgin arteriyolar konstrüksiyona ve periferik direnç artışına neden olur. Her iki olay da ventrikül preload ve afterload artırarak KKY tablosuna katkıda bulunurlar. Bunlar yanında anjiotensin 2 bir büyüme faktörü olarak etki edip miyokardiyal hipertrofi ve fibroza katkıda bulunur. Aynı zamanda apoptozisi artırarak miyosit kaybına da yol açabilir(69). Dökümante sol ventriküler disfonksiyonu olan hastalar uzun süreli ACE inhibitörleri tedavisinden faydalanır. Veriler SOLVD, SAVE ve TRACE çalışmalarında asemptomatik olan sol ventriküler disfonksiyonlu hastalarda semptomatik kalp yetmezliği ve kalp yetmezliği için hastaneye yatış oranlarının daha az olduğu gösterilmiştir(70) .

Sol ventriküler disfonksiyona bağlı semptomatik kalp yetmezliği olan bütün hastalar ACE inhibitörü kullanmalıdır. ACE inhibisyonu sağkalımı belirgin olarak uzatır, orta ve şiddetli kalp yetmezliği ve sol ventriküler sistolik disfonksiyonunda hastaneye yatışı azaltır. Sıvı retansiyonu olmadığında ilk olarak ACE inhibitörleri verilmelidir. Sol ventriküler disfonksiyon ve / veya kalp yetmezliği olan 12763 hasta ile toplam 5 kontrollü çalışmanın (üçünde miyokard infarktüsünden hemen sonra) meta-analizinde ACE inhibitörlerinin mortaliteyi, kalp yetmezliği ve re-enfarktüs için hastaneye başvuru yaşı, cinsiyet, başlangıçta diüretik, aspirin veya beta bloker kullanımından bağımsız olarak anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (71). ACE inhibitörleri uzun süreli mortalite ve morbiditeyi azaltmak için eğer tolere edilirse geniş çalışmalarda kullanılan hedef dozlara kadar yükseltilmelidir. ACE inhibitörlerinin başlanması için mutlak kontrendikasyonlar bilateral renal arter stenozu , gebelerde,ACE inhibitör tedavisi öncesinde anjiyoödem, anüri saptanan hastalardır (72). Anjiotensin 2 resptör antagonistleri (ARB) semptomatik tedavi için ACE inhibitörlerini tolere edemeyen hastalarda düşünülebilir.Yan etkiler ve özellikle öksürük ACE inhibitörlerinden belirgin olarak daha azdır.

2.2.3.4.2.Diüretikler:

Diüretiklerin sağkalım üzerine etkileri kontrollü, randomize çalışmalarda araştırılmamış olmasına rağmen sıvı retansiyonu olduğunda ya da pulmoner konjesyon, periferik ödem geliştiğinde bu ajanların kullanımı gereklidir. Diüretiklerin kullanımı dispne ve hızlı düzelme ve egzersiz toleransında hızlı düzelme ile sonuçlanır(73). Diüretikler mümkün olduğunca ACE inhibitörleri ile kombinasyonda kullanılmalıdır(74). Hafif kalp yetmezliği tiazid diüretiklerle tedavi edilebilir ama kalp yetmezliği arttıkça loop diüretikler genellikle gerekli olur. Eş dozlarda bütün loop diüretikleri idrar çıkışında benzer artış sağlar. Şiddetli kalp yetmezliği olan hastalar genellikle loop diüretiklerinin dozunda artış gerektirir. Bu, böbrek fonksiyonlarının kötüleşmesi ya da furosemidin gastrointestinal emiliminin azalması nedeniyle olabilir. İleri evre kalp yetmezliğinde tiazidler loop diüretikler ile sinerjik etki gösterebilir ve kombinasyonda kullanılabilir. Bu kombinasyonun etkisi loop diüretiklerin dozunun artmasıyla oluşan etkinlik ve yan etkiler açısından değerlendirildiğinde daha üstündür (75). Aldosteron antagonisti olan spironolakton ileri evre kalp yetmezliğinde (NYHA III-IV) önerilmektedir. ACE inhibisyonu ve diüretiklere ek olarak sağ kalım ve morbiditeyi artırır(76).

2.2.3.4.3.Kardiyak Glikozidler:

Kardiyak glikozidler atrial fibrilasyon ve sol ventriküler disfonksiyona bağlı olan ya da olmayan herhangi bir derecedeki semptomatik kalp yetmezliğinde ventriküler hızı yavaşlatmak amacıyla ve böylece fonksiyon ve semptomları düzeltmek için endikedir (77). Sinüs ritminde, ACE inhibitörü ve diüretik tedavisine rağmen sol ventrikül sistolik disfonksiyona bağlı persistan kalp yetmezliği semptomları olan hastaların klinik durumlarını iyileştirmek için digoksin önerilir (78). Kardiyak glikozidlerin kullanımının kontrendikasyonu bradikardi, ikinci ya da üçüncü derece AV blok, hasta sinüs sendromu, Wolff-Parkinson-White sendromu, hipertrofik obstruktif kardiyomiyopati, hipokalemi ve hiperkalsemidir (79).

2.2.3.4.4.Hidralazin-İzosorbid Dinitrat:

Vazodilatör ajanlar kalp yetmezliğinin tedavisinde ek terapi olarak kullanılabilir. Yüksek doz hidralazin (300 mg kadar) ACE inhibisyonu olmadan yüksek doz izosorbid dinitrat ile kombinasyonun (160 mg'a kadar) mortaliteye bazı olumlu etkileri olabilir, ama kalp yetmezliği için hastaneye yatışa etkisi yoktur.

2.2.3.4.5.Alfa Adrenerjik Blokerler:

Kalp yetmezliğinde alfa adrenerjik ilaçların kullanımını destekleyen kanıt yoktur. (80,81).

2.2.3.4.6.Kalsiyum Antagonistleri

Genel olarak sistolik disfonksiyona bağlı kalp yetmezliğinde kalsiyum antogonistleri önerilmez. Diltiazem ve verapamil tipi kalsiyum antogonistleri sistolik disfonksiyona bağlı kalp yetmezliğinde önerilmez ve beta blokerler ile kombinasyonu kontrendikedir. ACE inhibitörleri ve diüretikleri içeren başlangıç tedavisine ek olarak yeni kalsiyum antogonistlerinin (felodipin, amlodipin) kullanılması sağkalım üzerinde plaseboda daha iyi etki göstermez. Felodipin ve amlodipin ile uzun süreli güvenlik verileri sağkalıma nötral etki gösterir, eşzamanlı arteriyel hipertansiyon veya angina da ek tedavi olarak düşünülebilir (80,81).

2.2.3.4.7.Pozitif İnotropik Ajanlar:

İnotropik ajanlar yaygın olarak kalp yetmezliği epizodlarının şiddetini sınırlamada ya da terminal evre kalp yetmezliğinde kalp transplantasyonu için köprü olarak kullanılmaktadır. Ancak tedavi ile ilişkili komplikasyonlar olabilir ve bunların prognoza etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Oral inotropik ajanlar ile tekrarlayan ya da uzun süreli tedavi mortaliteyi artırır. İntravenöz inotropik ajanlar kötüleşen kalp yetmezliğinin şiddetli epizodlarının hemodinamik bozukluklarını düzeltmede kullanılmaktadır. Bu nedenle en sık kullanılan ajan dobutamindir. Diğer ilaçlar amrinon, milniron ve levosimendandır.

2.2.3.4.8.Antitrombotik Ajanlar:

Antitrombotik tedavinin kalp yetmezliği olan hastalarda atriyal fibrilasyondan başka antikoagülasyonun kesin olarak endike olduğu vasküler olayları veya ölüm riskini modifiye ettiğini gösteren az kanıt vardır. Atriyal fibrilasyonu olan kalp yetmezliği hastalarında oral antikoagülanlar inme riskini azaltır. Kalp yetmezliği olan ve yatak istirahatindeki hastalar düşük moleküler ağırlıklı heparinleri kullanmalıdır (82).

2.2.3.4.1.Beta Bloker İlaçlar:

Kronik kalp yetmezliğinde artan kardiyak adrenerjik etki miyokard rezervinin tükenmesine ve kalp yetmezliğinin karakteristik özelliği olan sol ventrikül disfonksiyonuna yol açar. Kalp yetmezliğinde kronik olarak artmış olan adrenerjik aktivitenin iki istenmeyen etkisi vardır; uyarı iletiminde desensitizasyon ve kardiyak miyositler üzerinde istenmeyen biyolojik etkilerdir (83-86). Uzamış kardiyak adrenerjik aktivasyonun birinci tip zararlı etkisi beta adrenerjik uyarı iletiminin desensitize olmasıdır. Bu kronik yetmezlik bulunan insan kalbinde kronik adrenerjik uyarının tespit edilen ilk istenmeyen etkisidir. Uyarı iletimindeki azalmanın klinik sonuçları kalp yetmezliğinin klinik semptomlarını tanımlamaya yarayan miyokard rezervinde azalma ve maksimum egzersiz cevabındaki bozulmalar gibi değişikliklerdir (87,88). Kronik olarak artmış kardiyak adrenerjik uyarının zararlı etkilerinin

görülmemesinin ikinci nedenide kardiyak myositler üzerindeki istenmeyen etkisidir. Bu etkinin klinik onlanımı ilerleyici LV disfonksiyonudur. Yetmezlik bulunan kalp üzerindeki uzun süreli beta adrenerjik uyarının ilerleyici LV disfonksiyonuna yol açması, norepinefrinin yüksek orandaki sempatik etkinliğinin insan myokard fonksiyonu üzerine olan etkisi ve kronik kalp yetmezliğinde beta adrenerjik blokerlerin LV fonksiyonunu düzeltmesiyle kanıtlanmıştır (89,90).

Akut uygulamada beta bloker ajanlar adrenerjik olarak kontrol edilen inotropik ve kronotropik etkilerin çekilmesine sekonder olarak ortaya çıkan farmakolojik etki ile miyokard fonksiyonlarını baskırlar. Tersine, uzun süreli uygulamalarda (>1 ay) primer veya sekonder dilate kardiyomiyopatik insanlarda miyokard fonksiyonlarındaki bozulmayı ve yeniden yapılanmayı engellerler. İntrensik sistolik fonksiyon üzerindeki biyolojik etki ile miyokard fonksiyonunu iyileştirir, yeniden yapılanmayı (remodeling) düzeltir. Hipertrofiyi geriletir ve ventrikül geometrisi düzelir (91-95). Kronik kalp yetmezliğinde beta bloker ajanların etki mekanizması adrenerjik nedenli intrensik miyokard disfonksiyonunun ve remodelingin önlenmesidir. Bu, direkt veya dolaylı yoldan hücrel kontraktıl disfonksiyon ve remodelinge neden olan faktörlerin zamana bağımlı etkilerle inhibe edilmesidir. Bloker ajanların disfonksiyonu ve remodelingi engelleme etkisi ACE inhibitörlerine benzer fakat bu anomalileri geriye döndürme etkisi benzersizdir. Dahası, β adrenerjik blokaj miyokard yetmezliği ve remodeling oluşumuna neden olan temel mekanizmaları düzeltebilen yegane tedavidir. Karvedilol, non-selektif bir beta-blokerdir ve yakın zamandaki klinik çalışmalarda mortalitede açıkça bir azalma sağladığı gösterilmiş olan beta-blokerdir. Diğer beta-blokerlerle karşılaştırıldığında, karvedilolün kalp yetmezliğinde ek olarak avantajlı etkilerinin olduğu ve kalp yetmezliğinin rutin tedavisinin bir bölümü olarak düşünülmesi gerektiği ileri sürülmektedir. Yakın zamanda beta-bloker ajanların etkilerine dair, geniş randomize çalışmalar bildirilmiştir. Beta-bloker karvedilol ile yürütülen sadece bir çalışma, mortalitede açıkça bir azalma göstermiştir (96,97). Karvedilol kalp yetmezliğinde araştırılmış olan diğer beta-blokerlerden farklıdır. Karvedilol selektif olmayan bir beta blokerdir. Beta2-blokajı hem kardiyak miyositi aşırı katekolaminlerden korumada hem de katekolamin ile tetiklenen hipokalemi de avantajlı olabilir. Beta1 selektivitesinin teorik avantajı bu ajanların enfarktüs sonrası uzun süreli dönemde major morbidite ve mortaliteyi azalttığına dair güçlü kanıtların olmaması nedeniyle düşünülmelidir. Alfa-blokerler kalp yetmezliğinin tedavisinde çok başarılı olmamasına rağmen bu sempatik aktivasyonun uyarılmasına bağılı olabilir. Alfa blokaj ile sağlanan vazodilatasyon, kalbin refleks sempatik aktivasyondan korunmasında avantaj

olabilir (98,99). Karvedilol aynı zamanda güçlü bir antioksidandır ve metabolitlerinden biri E vitamininden 100 kat fazla anti-oksidan güçtedir.

2.2.3.5.Kalp Yetmezliği Progresyonun Engellenmesi ve Yaşam Süresinin Uzatılması:

Son 20 yılda konjestif kalp yetmezliği tedavisindeki en önemli ilerleme sol ventrikül disfonksiyonu ve dilatasyonunun, remodeling süreciyle ilerlemesini engelleyen ilaçların bulunmasıyla gerçekleşmiştir. Anjiyotensin II, aldosteron, katekolaminler, endotelin ve proinflamatuvar sitokinlerin kanda anormal seviyelerde dolaşmasının miyokard kaybını ve disfonksiyonunu ve interstisyel fibrozisi artırdığı bilinmektedir. Bunun sonucunda ise progressif sol ventriküler dilatasyonu, patolojik hipertrofi ve ileri sistolik ve diastolik disfonksiyon meydana gelmektedir. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi inhibitörleri, beta blokerler ve fibrozisi engelleyen ilaçlar bu kötü yönlü remodelingi engelleyerek daha ileri bozulma ve ventriküler disfonksiyonun önüne geçmektedir. ACE inhibitörleri, Beta blokerler (metoprolol, carvedilol, bisoprolol) ve spironolakton ile yaşam süresinde artış kanıtlanmıştır. Ancak konjestif kalp yetersizliğinde mortalitenin %40-50 oranında sebebi ani kardiyak ölümdür. Ani ölümün ventriküler fibrilasyon nedeniyle olduğu düşünülse de miyokard infarktüsü, sinüs nod ve ileti anomalilerine veya hemodinamik anomalilere yanıtla bağlı bradikardiler de ani ölüm sebebi olabilir. Beta blokerler bu mekanizmaları etkileyerek ani ölüm insidansını %40-50 oranında azaltmaktadır. Antiaritmik ilaçlar proaritmik etkileri nedeniyle etkili bir tedavi seçeneği olamamaktadır. Seçilmiş hasta gruplarında koroner revaskülarizasyon, intrakardiyak defibrilatörler, biventriküler pacing, kalp transplantasyonu ile sürvi artırılabilir.

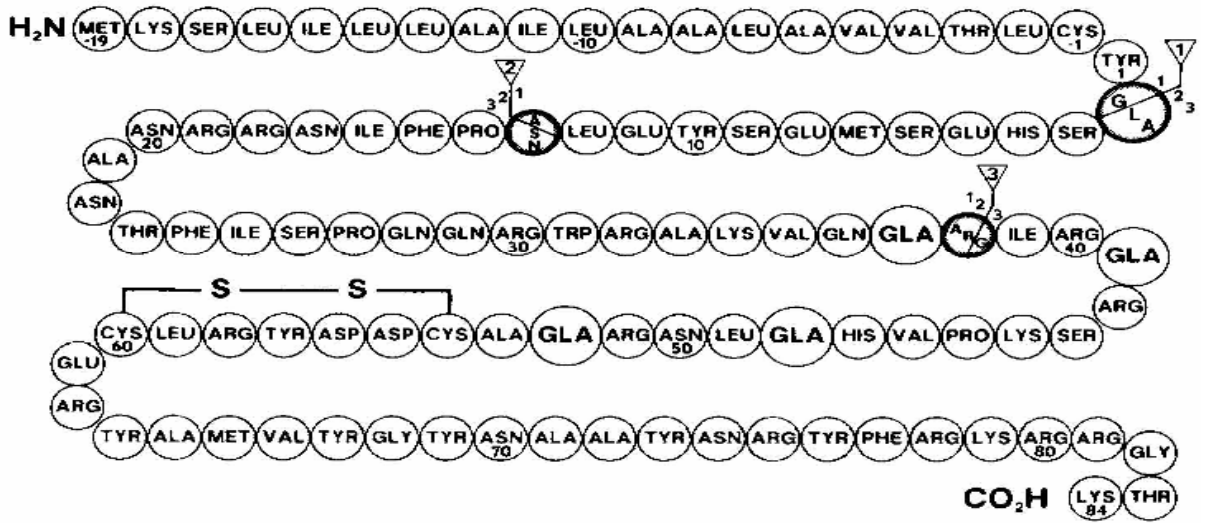
2.3.MATRİKS GLA PROTEİNİ

Arter kalsifikasyonu ile ilgili proteinlerden matriks Gla proteini (MGP) geniş bir doku dağılımına sahip önemli bir hücre dışı matriks proteindir(100). İlk kez 1983 yılında sığır kemiği ekstraktından izole edilen MGP ardından ratlarda (1986), insanda (1988), fare (1991), köpek balığı (1994) ve tavuklarda (1998) protein ya da mRNA düzeyinde tanımlanmıştır(101).

2.3.1. Yapısı

Moleküler ağırlığı 10 kDa olan olgun MGP proteini 84 aminoasitten oluşmaktadır. 19 Aminoasitlik zarlar arası bölge ileti peptidi, gama-karboksilasyon tanıma bölgesi, Gla domaini, 11 aminoasit'lik işlevi bilinmeyen bir peptidi içermektedir. MGP bilinen vitamin K bağımlı proteinler içerisinde propeptid formu olmayan tek proteindir(102).

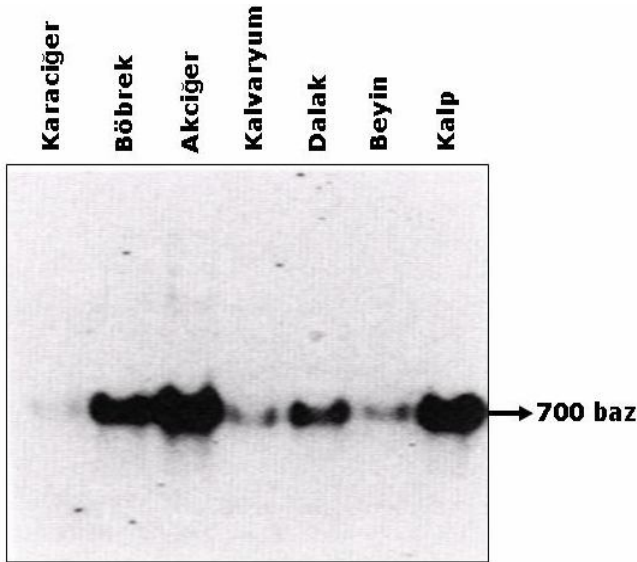
Sahip olduğu glutamik asit birimlerinin 5 tanesi sentez sonrası vitamin K ve bikarbonat iyonlarını gerektiren bir reaksiyonla gama-karboksilasyona uğrayarak gama karboksi glutamik asite dönüşür(103). Bu Gla birimleri Ca^{+2} , fosfat, hidroksiapatit kristalleri için yüksek bağlanma affinitesi oluşturur(105). Ca^{+2} iyonları Gla ünitelerinde yapısal değişiklikleri teşvik etmekte ve proteinin uygun katlanmayı gerçekleştirmesini kolaylaştırmaktadır(102). Yapısında ayrıca 3 adet fosfoserin aminoasidi ve 1 adet sülfat bağı içermektedir(102). Çok sayıda hidrofilik ünitelerden oluşmasına rağmen çözünürlüğü oldukça düşüktür($10 \mu\text{g/ml}$) (101).



Şekil 1. Matriks Gla Protein: Olgun proteinin ilk aminoasidi +1 olarak alınmıştır. Negatif sayılar pre-peptid bölgesini (-1 ile -19 arası) göstermektedir. 5 adet Gla birimi büyük daireler içinde koyu harflerle belirtilmektedir. Protein dizisindeki üç intronun konumu üçgenlerin yanında yer alan rakamlarla işaret edilmektedir. Aminoasitlere bitişik olan rakamlar kodonların yerleşimini gösterir. 54. ve 60. sistein aminoasitleri arasında kurulan disülfid bağı da şekilde görülmektedir(102).

2.3.2. Vücuttaki Dağılımı

En çok akciğer ve kalpte sentezlenmekle beraber kemik ve böbreklerde de sentezi yapılmaktadır (100).



Şekil 2. Sıçan dokularındaki MGP mRNA seviyelerinin Northern Blot Analizi(100).

DOKU	MGP
	ug/g doku
Yumuşak doku	
Akciğer	10.9
Kalp	5.9
Böbrek	1.4
Dalak	<0.4
Kemik	
Tibia	410
Epifiz	570
Kıkırdak	
Vertebral disk	330
Büyüme plağı	320

Tablo 5. Sıçan dokularında MGP ifadesinin seviyeleri (101).

2.3.3. İşlevi

Yüksek düzeyde ifade edildiği gelişmekte olan kemik ve kıkırdak dokularında hücre dışı matriksin kalsifikasyonunu düzenler(105,106). Kemik, kalp, akciğer ve aort gibi yumuşak dokularda da düşük miktarda sentez edilmekle birlikte bu dokulardaki işlevi tam olarak bilinmemektedir(100).

MGP fonksiyonunun moleküler mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen derlenen bilgiler onun major rolünün yumuşak doku kalsifikasyonunun inhibisyonu olduğunu ortaya çıkarmıştır. MGP'nin yumuşak doku kalsifikasyonunu inhibe ettiğini gösteren ilk bulgular K-vitamin antagonisti olan warfarin ile tedavi edilen ratlarla yapılan çalışmalardan geldi(107). Bu hayvanlarda masif kıkırdak kalsifikasyonu özellikle epifizlerde ve yüz kemiklerinde gelişti(108). MGP kıkırdakta tanımlandıktan sonra kıkırdak kalsifikasyonunun MGP fonksiyonlarındaki kayıp ile alakalı olduğu söylendi(109). Keşfinden sonra yıllarca MGP'nin öneminin kemik ve kıkırdak metabolizmasıyla kısıtlı olduğu düşünülüyordu. Ancak

farelerde MGP geninin hedeflenen delesyonu ile rolü daha açık hale geldi. MGP'nin asıl fonksiyonunun arterlerin mediyal kalsifikasyonunun inhibisyonu olduğu tespit edildi. MGP defektli olan hayvanlar 6-8 hafta içinde tunica medyadaki elastik lamelin kalsifikasyonuna bağlı gelişen büyük arterlerin rüptürü sonucu öldü(110).

MGP'siz farelerde hidroksiapatite benzer oranlarda kalsiyum-fosfat çökmesine bağlı arteryel kalsifikasyon mevcuttu. Böylece kemik mineralizasyonunu taklit edecek seviyedeydi. Histokimyasal teknikler kullanarak araştırmacılar arteryel kalsifikasyonun vasküler düz kas hücrelerinin kondrosit benzeri hücrelere değişimiyle beraber olduğunu göstermişlerdir. MGP'nin kalsifikasyonu inhibe edici aktivitesinin mekanizmasını Price açıklamıştır. MGP'nin kristal nukleusa sıkıca bağlandığını böylece daha fazla büyümesini engellediğini öngörmüştür(111). Vasküler düz kas hücrelerinin, kondrosit ve osteoblast benzeri hücrelere dönüşümünü inhibe etmesi MGP'nin belki de ikinci fonksiyonudur(112). Bu inhibe edici özellik daha sonra Shanahan ve arkadaşları tarafından da kanıtlanmıştır. Onlar Mönckeberg's sklerozlu diabetik hastaların arterlerinin mediasında normal damarlara göre daha az MGP ekspresyonunun mevcut olduğunu göstermişlerdir(113).

Sistemik MGP düzeylerinin arteryel kalsifikasyon üzerinde etkisi bulunmamaktadır. Bu, MGP'nin kalsifikasyonu inhibe edici etkisinin sistemik değil lokal olduğu anlamına gelebilir. İnsanlarda MGP'yi kodlayan genlerde mutasyon olması fonksiyonel olmayan bir proteini öngörür. Bu da Keutel sendromuna yol açar(114). Bu hastalık anormal kıkırdak kalsifikasyonu ve pulmoner stenozla karakterize olup nadir bir hastalıktır. Postmortem Keutel sendromlu genç bir hastada aşırı arteryel kalsifikasyon tespit edilmiştir(115).

Bir dekat öncesine kadar arter kalsifikasyonun pasif bir süreç olduğu düşünülüyordu. Oysa son senelerde açık hale gelmiştir ki vasküler kalsifikasyon aktif bir süreç olup kardiyovasküler mortalite ve morbidite ile güçlü bir ilişkisi olan bağımsız bir patolojidir(116-118). Klinik olarak vasküler kalsifikasyon damar duvarında sertleşmeye yol açar ve bu arteryel kompliansın azalmasına neden olarak sol ventrikül hipertrofisi gelişmesine neden olur. Koroner perfüzyonun azalmasına yol açıp fatal komplikasyonların artışına sebep olur(119,120). Kalsifikasyon yaşlı popülasyonda ve kronik böbrek yetersizliği, diyabet, aort stenozu ve ateroskleroza olan hastalarda genelde bulunur(121). Bu nedenle damarlardaki kalsifikasyonu azaltma veya tersine çevirmeye yönelik bir sürü çaba gösterilmiştir. Hayvan modellerinde arteryel kalsifikasyonu reversibil olduğu gösterilmiştir(122-125). Aynı zamanda regresyon sürecinin aktif olarak regüle edilen bir süreç olduğu gösterilmiştir.

KBY hastaları en yüksek arteryel kalsifikasyon insidansına sahiptirler ve kardiyovasküler mortaliteleri normal insanlara göre 20 kat daha fazladır (126,127).

Üstelik hemodiyalize girenlerin %60-80'inde orta-ağır vasküler kalsifikasyon tespit edilmiştir(128,129).

İmmünohistokimyasal çalışmalarda gösterilmiştir ki sağlıklı damarlarda MGP düşük oranlarda sentez edilmektedir. Çünkü kalsifikasyon inhibisyonuna ihtiyaç azdır. Kalsifiye arterlerde yüksek düzeyde MGP tespit edilmiştir. Bu durum artmış MGP sentezinden kaynaklanıyor olabilir. Ancak artmış olan MGP'nin daha çok inaktif form olan ankarboksile MGP olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Hem medial hem de intimal arteriyel kalsifikasyonda raporlanmıştır(130-131).

Yapı spesifik antikorların gelişmesiyle aktif, karboksile MGP ve inaktif, ankarboksile MGP (cMGP ve ucMGP)'nin tespiti mümkün olmuştur. Özellikle ucMGP aterosklerotik ve kalsifiye arterlerde toplanmaktadır(132-134). cMGP ise bu arterlerde hemen hemen mevcut değildir. Sweatt ve arkadaşları yaşlı ratların kalsifiye arteriyel lezyonlarının yüksek düzeyde MGP içerdiğini ve bunların ankarboksile yapıda olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada warfarin ile tedavi edildiği sırada ratların arterlerinde hızlıca gelişen kalsifiye lezyonların çevresinde masif ucMGP birikimi tespit edilmiştir(124).

Vasküler kalsifikasyon, kardiyovasküler mortalite için önemli bir etkidir ve güncel bilgiler MGP'nin kalsifikasyonun asıl inhibitörlerinden biri olduğunu göstermektedir. Vasküler kalsifikasyonun kötü kardiyovasküler sonuçlarla birlikte olmasına rağmen Huang et al. postmortem olarak koroner arterlerdeki masif kalsifikasyonun plak stresine ilişkisi olmadığını göstermiştir(135). İnsan aterosklerotik lezyonların inspeksiyonu, plak rüptürü ile intimal kalsiyum depozitleri arasındaki ilişkinin küçük hücre membran fragmanlarından orjin alabileceğini ortaya çıkarmıştır(136). Kalsifikasyon aktif regüle edilen bir süreç olmasına rağmen masif arteriyel kalsifikasyon kendini end-stage bir süreç olarak gösterir. Hem kardiyovasküler kalsifikasyon hem de MGP aktivitesi direk olarak vitamin K alımıyla koreledir(124,137,138). Sağlıklı popülasyonda çoğu kalsifikasyona karşı optimal olarak koruyucu değildir. Çünkü mevcut olan MGP'nin bir kısmı ankarboksile, inaktif form olmaktadır(133,139).

2.3.4.MGP Geni

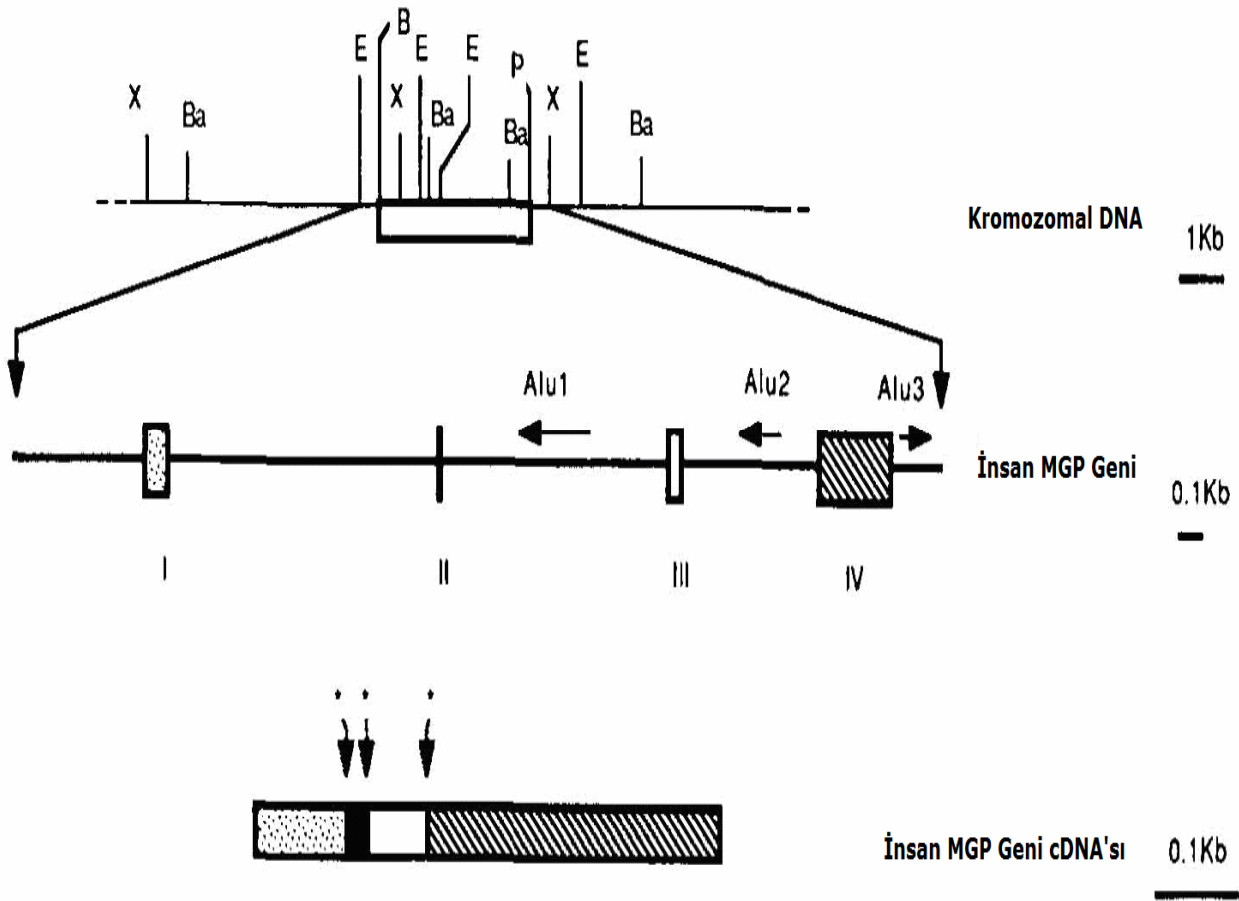
İnsanda 12p13.1-p12.3 kromozomal yerleşimine sahip MGP geni genomda tek kopya halinde bulunur, 3937 baz çifti(bç) uzunluğundaki yapısal gen bölgesi 4 ekzondan ve genin % 85'ini oluşturan 3 büyük intronik diziden oluşmaktadır. Özendirici (promoter) bölge ise 3398 baz çiftinden oluşmaktadır (103).

Tablo 6’da İnsan MGP geninin intron-ekzon yapısı. Genin ekzonlarının uçlarında yer alan nükleotid dizileri tipik ökaryot genlerindeki gibidir. Gene ait 3 intron da 5’-(GT) ve 3’-(AG) kaynaşma uyuşum dizileriyle sınırlanır (103).

Ekzon	Ekzon Uzunluğu	3' Vericisi	İntron No ve Uzunluğu	5' Alıcısı
1	163	TATG/GTGAGA	1 (1544)	C(T)10ATTTCAG/ AATC
2	33	CTTA /GTAAGT	2 (1165)	(T)4CTGTTCTAAG/ ATCC
3	76	AGAG/GTCAGT	3 (691)	CTTCCAC (T)3CTAG/GATC
4	389			

Tablo 6: MGP geni

İnsan MGP geni ile proteinin yapısı incelendiğinde her bir ekzonun proteinin her biri ayrı işleve sahip farklı bir alt birimine karşılık geldiğini göstermektedir. Buna göre ekzon 1; 5’ translasyona uğramayan bölge ile zarlararası bölge ileti peptidini, ekzon 2; olgun proteinin 2–12. aminoasiti arasında yer alan alfa-helikal alt üniteyi kodlamaktadır. Bu bölgenin ne gibi bir işlevi olduğu bilinmemektedir. Ekzon 3 ve 4 sırasıyla gama karboksilaz tanıma bölgesi ile Gla içeren üniteyi kodlar (103).



Şekil 3. MGP geninin intron-ekzon organizasyonu ve enzim haritası. En üstteki çizgi MGP lokusunun kısmi restriksiyon enzim haritasını göstermektedir. Daha aşağıda MGP geni, intron ekzonlarının organizasyonu ve Alu tekrarlarının yerleşimi görülmektedir. Her bir ekzon proteinin farklı bir birimini kodlamaktadır. Buna göre I; 5' translasyona uğramayan bölgeyi ve proteinin pre-domainini, II; alfa-helikol üniteyi, III; gama karboksilaz tanıma bölgesi, IV; Gla içeren alt birimi ve 3' translasyona uğramayan bölgeyi kodlamaktadır. Şeklin alt kısmında insan MGP cDNA'sının yapısı görülmektedir. Yıldızlar ve oklarla işaret edilen bölgeler intron-ekzon kaynaşma bölgeleridir (103). (X, XbaI; Ba, BarnHI; E, EcoRV; B, BglI; P, PstI).

AAATAAGCTAGTACTTCTGGGCCTGATGGTGTAGTGAACACCTGTGCTTGAGGATACATT
 ACAGTGAAAGAGCAAAGTGAATAGTAAGTAGCTATTACTTACCTCCTTAGGGAGGTGTGTT ^{enh} -879
 TGTGTTGCTGTACATCCCCACAGCAGCTAGCACAGTACCTTGCATCTCACCTGCCACTC
 ACTAAAAAGTCTATCAAGTTAGTTAATTATCGAGACAACGCCCTCAGAAATGAGAGAACA -759
 GTACCCCTCTTATCCTTGCTGCACTTCCAGCACTGATACGUTGCCCTAAAAGAGGACTAGG
 GCACAGGTTTGAATTAATGTCAAAAACCTGGATGGGCAAGTTACACGGGTGTTGATTAAG -639
 GAAACAGAACTCATGGGGCACCAGATATCTCCATCCTGATGAACCTTGGAAAAATGCCA
 AAGATGCATATCCCCAGGCAAAATGCCCTGATTAGTCTGGCATTGATAGATTGGCTCTAGCAT -519
 TCAGCCCTACTGGGAAGATGTCTAAATTATAATCAGTGTAGAAAAGCGAAGTTCTCCTAGA
 AGAAGAGGCAAAAGGTTAAAAAGAAGAAAAGAAAAGAAAGTGAAGTCTTTCTCCCCAAA -399
 ACCTCTCATCAATCAATCAGGGTAACAAACAGAACACTAGGGCTCTGTCTGTGGACCAAA
 CCCAAAGCCCTGCGGTCAGGGCCAGGAGGGTAGATCATGTGTTTGTGGCAACTTCTCT -279
 GTGGGCTTTTGGCCAGGCTCTCTCCCCAAGCATACGATGGCCAAAACCTTCTGCACCAGAGC
 AGCATCCTGTGTAAACACAGTCCAGGTCCAGCAGTTAGGGAAAACCTGCCCACTCAGAGTAGA -159
 TAATATCTGGAAGGAATGACTGTTTGGGAAAAGTTCAATGCTAGTTTCACTGCCAACCCCT
 TCCCCACCTTCTCCAGCTCTCTCCCCACTGGTTTCTCCCCCTCTCAACTGCTCTGGTTCTTA -39
 TAAAAACCTCACAGCCTTCCACTAACATCCCATAGGAGCCTCTCTCCCTACTGCTGCTAC
 (-19)
 ACAAGACCCCTGAGACTGACCTGCAGGACGAAACCATCAAGAGCCTGATCCTTCTTGCCAT
 (-10) (-1) (1)
 eLeuAlaAlaLeuAlaValValThrLeuCysTyrG
 CCTGGCCGCTTAGCGGTAGTAACCTTTGTGTTATGGTGAGAACTTTTCTCCCATTTCTC
 TGTGTTTACITTTCTGCGCTCTGACTTTGGCTTACTTCTATTTTCTCTCCCTCCTCCTC
 TTCTTCCCTCTTTCTCTGTTTATAATCTTAAAGTACCATTACTTTTACATTTCCAGTCTC
 CGCAGAAAC TGATCTGTTCTATTAAGTCTTTTTTATATCTTAAATATCCAGAGTCTTATG
 CAACTTAACAGGCAAAACCCGTTCAAGTGGTAAGTCTCTGTATATCTAGAAACTCATATTTT
 AGAAAGAAGATACCAANTTCCAGCCCCCTGCATCTCTCATTTTAAAGGATATTTATTTAG
 ACTTTGGTATCAATGGGTTAAGGTTATTTGTTTAAACCACTTGCCTTTGAGAAAATCCATT
 TTTATGTGAAGTATTAAGTATAGCCCTTTCTAGGGACTGGACAATCTCATGAACCTACTA
 TGTGTTTCACTTAATTAATTTTAAATAAAGTTTACATCAAAAAGATTTTGAAGAAAGA
 ATCATTTTCATAACTCCTGTGTGTCAGAAAATAAATTTTGCCTGTTTCTATATGTCTATTA
 AATATACCTGCATTTGTTCAAAGCTTATAAAAGGAAATCTGAAGCAAAGTTATTTACTTA
 TTTCACTCTTTTGTTCATTTACCTAGATATTTTCAATTGTTTTTAAATTTAAATTACATT
 AACACCATAAAGATTATGCTTCTCACTCTTGTATTTACAAATTTTCTGTATTAGAGGAT
 TTGATTTCTTCACCTCCTTTTTAAGTTTTGAAGAAAATTCACCTTCTGGCAATATTAAT
 AGAAGCTTCTTATTTCAAAATTTATCTGCTGTGCTCAGGAGAGTGGCAGAAAGAAAGAAA
 CTTGGGCTTTGATATCGTTTCAGTTCTCTCTGAACTGGCATCGTGGCCAGGGTGAGCT
 GTCAGCTGGAGCTAGTGGTTTCTGTGGCTGCCAATTTAACACAGGTTCTTAAGAGGCTTT
 CGGAACCCCTCTTAGAAACCTGCCCTAGTAAGCCAGCAGAGCAACTGCCCTGTAGTTCTC
 TTGCCCTGGAGAAACCTGGCTGCTTTCTGGATCTTCTTAATCCTCTTTGACCCTGTTCTC
 AAACAGGCTCTGAATAAATAGAGAAAGGTTCTCTGGAGACTTCTGTACAGCACTTAA
 AGTGTCTTATTTTGTCTGTAAGACGTCATAGCCCTTGGGAAATTTTAGCTGAAAATG
 GCCACTCCCTCCTTCAACATCAGAGAACTAAATATAGAGATATCCACAGCAAGGCCAG
 AGCTAGAGAAAAACCTCATAAATCCTAAATTCCTGAAATTTCTAATAACCACTGCTAA
 ATATATCTTCTCATGTTTTTAGACTCTTTCTCTCTTCCATCCTGTATTTAAACTATCA
 CAGTGTCTAAATTGATAAATAAATAAATGAATCATGGATAAATATTGATATAATGAA
 (10)
 LuSerHisGluSerMetGluSerTyrGluLeuA
 TCTTTTTTTTTTAAATTTTCAAAATCCCTTGCATTAAGAACCTCTTCTTATTTTAAATA
 AATAATTTAACTTCTTTATTTCAAAATCCCTTGCATTAAGAACCTCTTCTTATTTTAAATA
 AACAGATGGAAAGATATATAACAGGGAGGGGAAAGGGGCTCTTTTGAAAACCTAAAG
 TAAATTTTTAAATCTAATGACTATATAAATTTGCCAAAGGAGCAATTTTAAAGTTTGAAG
 TAGTGCAATATGGGATTTAAGCTACAGGCGACATATTTAGAAGCCATAAATCTCATTTG
 GAAATTTTTAAATTTGGCACCACGTCACCTGCACAGATGGAAAACGAGGAGTAATGACAAAT
 GGTAAAGCACAGAGCTGGACGCCAAGTCAGCTGGGAGACCACAGGCGCCACGTTAAGCTG -2002

<u>ACTCTGTCGCCCCAGGCTAGAGTGCAGTGGTGTGATCTCGGCTCGCCGCAACCTCCACCTC</u>	-2122
<u>CCAGGTTTCAGGCAATTCTCATGCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGCCCATGA</u>	-2242
<u>CATCATGCCCTGGCTAATTTTIGTATTTTITAGTAGAGATGGGGTTTCACCATGTTGTCCAG</u>	-2362
<u>GCTGGTCTCGAACTCCTGGCCTCAAGTGATCCACCCACCACAGCCTCCCAAAGTGCCGGG</u>	
<u>ATTACAGGCATGAGCCACCACACCCAGCCAGCTGATTGCTGTTGAATAGCTGGATTTATA</u>	
AAGACTGAGCATAGGAGGAAATGGCACATCACTCTCATTTTTAAATTATTTCATTATTTTT	-2482
ATAGTGTTTAAACTGTTTCATGTATCGGCAATCTAGTTATGCTTCATAAATCCTCAGGACA	
GAGAATTTCTCCTCAAAAGGAATTTAAATCTACCAAGTAGAAATACAGAAATTAAGAAA	+2602
GGCAAAGTGATCGTCCAACTCAAAACCAACAAAGCCTATATGACAAGTCTCTAAGACAC	
ATGGATTGATTACTGATTTCATTTTGATCAGGAAGTTAATGAAATCTACTTTATACTCTCC	+2722
TTTAATTTTGGCAATCTCCGTTTATATGAGTTGCATAAGTTAAGGCACTTTCAAATATA	
TTTGTGTCAAGGAATATTTCACGGAAATATTTTCAGCTATGTGTGCTAAAACGCAATTA	(20)
snProPheIleAsnArgArgAsnAlaAsnThrPheIleSerP	-2842
TTTATTTTCTGTTCTAAGATCCCTTCATTAACAGGAGAAATGCAAATACCTTCATATCCC	(30)
roGlnGlnArgTrpArgAlaLysValGlnGluAr	
CTCAGCAGAGATGGAGAGCTAAAGTCCAAGAGAGGTCAAGTAACAAAACCTTCATGAGGAGT	
GGTCATTTTTCAGTGTAGATCACAGATCTGAATTGGAGTGGGAAACAGCTTTTTCATC	-2962
ATATACATTATTTCTAATTGTATCTTAAATCAAAAAACTTAAAGCAATATTCAGAAA	
ACAACTGAATTATTAGAAAATTATTTGGGGAAAGATCCGGAAAGGAGAAGGAAGGAGGAG	+3082
AGAAAGGAGGACAGAAAGAAAACCTTCTATTTTCATTAAAAAAAAAAAAAAAAAATCTCCTGT	
TCTGCCCTTCCCTCCCTGGTTTTTTTTTTGGTTGGTTGGTTGGTTTCTGAGACAGAGTC	+3202
TCACTCTGTTGCCCAGACTGGATTATAGTGGCACTATCTCGTGCCTCAGCCTCCCAAGTA	
GCTGGGATTATAGGCACGTGCTACCATGTCCAGCTATTTTTCGATTTTTTGTAGAGACGG	+3322
GGTTTTTGTTCATGTTGGCCAGGCTAGTCTTGAACCTCTGACCTCAGTGATCCACCCACCT	+3442
CAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCCTGAGGCCACCGCACCCAGCCTCTCCCTGTTT	
TTTAAATATCTCTTAATATAGGGGGGCATGGAGAGAAAGTCTCTCCAATATTTCTTCTT	+3562
CTTTTCCATTTTGTATTTTCCACTTTATCCTTCTCAATTTTGGCCTCTTCTTCCACTT	(40)
gIleArgGluArgSerLysProValHisGluLeuAsnArgGluAlaCysAspAsp	(50)
TCTAGGATCCGAGAACGCTCTAAGCCTGTCCACGAGCTCAATAGGGAAGCCTGTGATGAC	(60)
TyrArgLeuCysGluArgTyrAlaMetValTyrGlyTyrAsnAlaAlaTyrAsnArgTyr	(84)
TACAGACTTTGCGAACGCTACGCCATGGTTTATGGATACAATGCTGCCTATAATCGCTAC	(180)
PheArgLysArgArgGlyThrLys***	
TTCAGGAAGCGCCGAGGGACCAAATGAGACTGAGGGAAGAAAAAATCTCTTTTTTTCT	
GGAGGCTGGCACCTGATTTTGTATCCCCCTGTAGCAGCATTACTGAATACATAGGCTTA	+3802
TATACAAATGCTTTCTTCTGTATATTCTCTGTCTGGCTGCAOCCCTTTTCCCGCCCCC	
AGATTGATAAGTAATGAAAGTGCACCTGCAGTGAGGGTCAAAGGAGAGTCAACATATGTGA	+3922
TTGTTCCATAATAAACTTCTGTGTGTGATACTTTCATCTTGTAATCTGCTTTCTTTGGG	
AAGATATTGAGATATTTAAATCATGGCCACCTTACCCAAAATAGGAGATTCTGTTTCATC	+4042
TCATATCTAGTATTAATTAGABAAAATAACTACATAAAAAAGGAAGCTAAGAAGGCAC	
CACTCAGCCATAAATCTCTAABACCCTCTCTACCTTGGGAATCGTGAATGGAATCTGGTA	+4162
TGTTTTTTGCAGGATTTTCCCTATTGTAAATTGTGGCAABTACAGGGCTCCCTTCATTG	
TTTTCATCTCTTATGCATCAAAGTCAAAAACATTTCTGAATCAAGATAATCTAGA	+4277

Şekil 4. İnsan MGP geninin nükleotid dizisi. Şekilde MGP geninin tüm nükleotid dizisi ve 5'-3' uç DNA dizileri yer almaktadır. mRNA işlenmesi esnasında guanin kapağın takıldığı şapka (CAP) bölgesi +1 olarak kabul edilmiş, ayrıca 2 ayrı olası transkripsiyon başlama bölgesindeki nükleotidler koyu harflerle gösterilmiştir. CAP bölgesinin yukarıdaki diziler negatif 3' ucundaki dizilerse pozitif sayılarla gösterilmektedir. Olgun proteinin ilk aminoasidine göre olası protein dizisi numaralandırılmıştır. Dur kodonu yıldız işareti (*) ile gösterilmektedir. 2 ve 3 numaralı intronlar ile 3' uç dizide yer alan Alu tekrarlarının ve çoklu adenilasyon bölgesinin altı çizilerek gösterilmektedir. Yine özendirici bölge (-1 ile -3398 arası)'de yer alan düzenleyici elementlerin bağlanma dizilerinin altı çizilerek gösterilmiştir. TATA, CAT, BGP ve GAGA kutusu, artırıcı element benzeri faktör (enh.core), metal cevap

elementleri (MRE), hormon cevap elementleri (HRE1= vitamin D cevap elementi ve HRE2= retinoik asit cevap elementi), AP1(Aktive edici protein 1), AP2 ve cAMP'ye bağı transkripsiyon faktörleri ilgili dizilerin üstünde belirtilmektedir (103).

2.3.5.Özendirici Bölgede Yer Alan Düzenleyici Elementler

MGP geninin 5' ucundaki genomik dizisi RNA polimeraz II tarafından transkribe edilen genlerle benzer elemanlar içerir(103). Transkripsiyon başlama bölgesinin hemen yukarısında -33. pozisyonda TATA uyuşum dizileri (TTATAAAAA) yer almaktadır(140). Biri -119'da (CCAAT) diğeri -527'de (ATTGG-ters dizi motifi) yer alan iki CAT kutusu bulunmaktadır(141). Özendirici bölge iyi tanınan düzenleyici faktörlerin etkileştiği çok sayıda dizi motifini içermektedir. AP1 (TGACTCA)(142), AP2 (CCAGGC)(143), cAMP'ye bağımlı transkripsiyon faktörleri için olası bağlanma bölgesi (TGACGTCA)(144), metal cevap elementi (TGCA/GCT/CC)(145) bunlar arasındadır.

Daha önce BGP geninin özendirici bölgesinde tanımlanan vitamin D reseptörünün bağlanma bölgesinde yer alan dizi motiflerine MGP geninde de rastlanmaktadır. Bunlar 819 ile -832 arasında iki kez tekrar ederken CCACT ters dizi motifi ile -2095 ile -2112 arasında yine iki kez yer alan GGTGA direkt dizi tekrarıdır. Bu tekrarlardan ikincisi retinoik asit reseptör beta geninde tanımlanan retinoik asit cevap elementiyle benzerlik göstermektedir (146). Bu dizilerin hormon cevap elementi olup olmadığı halen araştırılmaktadır.

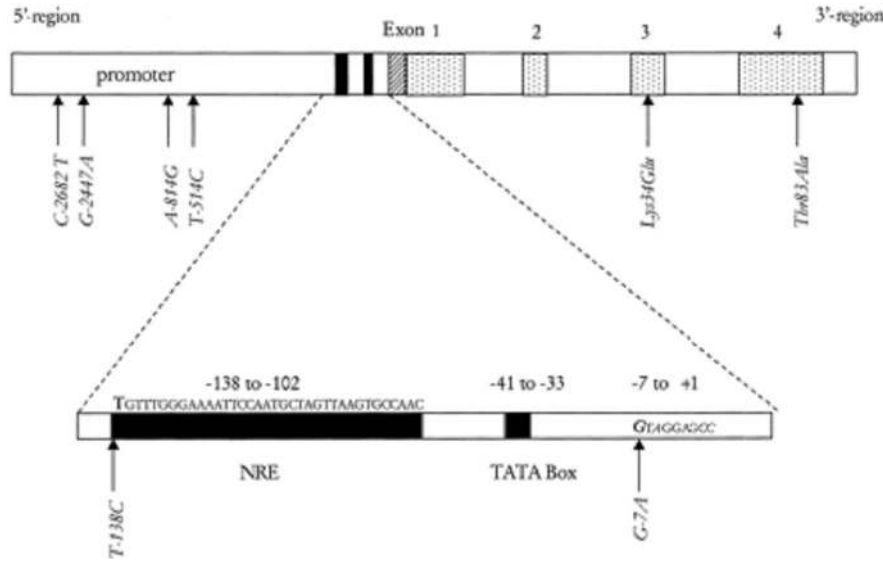
Daha önce BGP(Bone Gla Protein) geni özendirici bölgesinde tanımlanan BGP kutusu ile ilk defa osteonektin ve sıçan BGP genlerinde tanımlanan GAGA kutusu MGP geninin özendirici bölgesinde yer alan diğeri dizi motifleridir(103).

2.3.6.MGP Gen İfadesinin Düzenlenimi

MGP geni ifadesi deride, kemik ve kıkırdakta retinoik asit beta alıcı proteiniyle düzenlenmektedir(147). Retinoik asit beta genindeki retinoik asit cevap elementi insan MGP geninin düzenleyici bölgesinde de bulunmaktadır(146). Bu element, D vitamini ve steroid hormon alıcı proteinleri için de yardımcı transkripsiyon elemanıdır(148). Vitamin D3 insan osteoklastlarında, sıçan kondrositleri, osteoblast ve osteosarkom hücrelerinde MGP ifadesini arttırıcı role sahiptir. Kemikte ve enflamasyon bölgelerinde hücre dışı sıvı yüksek seviyede iyonik kalsiyum içerdiklerinden kalsiyum kristallerinin oluşma ihtimali artmaktadır. Kondrosit ve vasküler düz kas hücreleri sahip olduğu kalsiyum duyu almaçları ile hücre dışındaki kalsiyum seviyesi değişimlerini algılayabilmekte ve bu değişime MGP ifadesini ve salınımını arttırarak yanıt vermektedir. Böylelikle hücre dışı kalsiyum, kristal oluşumunu teşvik ederken MGP sentezini de uyarak kalsifikasyonun düzenlenmesini sağlayan bir mesaj rolü üstlenmektedir(149).

2.3.7.MGP Geninde Bilinen Çeşitlilikler Ve Bu Çeşitliliklerin Fenotipe Yansıması:

MGP geninde ikisi ekzonlarda, altısı genin özendirici (promoter) bölgesinde olmak üzere gen polimorfizmini gösteren 8 farklı bölge tanımlanmıştır(150).



Şekil 5. İnsan MGP geninin moleküler çeşitlilikleri (150)

Promotor bölge: G-7A, T-138C, C-514T, A-814G, G-2447A, C-2682T Ekzonlarda: Lys34Glu, Thr83Ala

MGP gen polimorfizmi; G-7A ve T-138C izoformlarının daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Yapılan transfeksiyon çalışmaları her iki nükleotid değişiminin de in vitro özendirici bölgenin aktivitesinde önemli etkiye sahip olduğunu göstermiştir(150). Ferzaneh-Far ve ark. (2001) T-138C gen polimorfizmi genin transkripsiyonu için kritik bir bölgede yer aldığını ve 270 ile -102. nükleotidler arasında kalan bölgenin kaybedilmesiyle transkripsiyonun da önemli ölçüde azaldığını belirlemiştir. Bu değişim genin transkripsiyonunun forbol esterlerine bağlı uyarılmasına aracılık eden ve -142 ile -136. nükleotidler arasındaki bölgeye bağlanan aktive edici protein (AP-1 = pc-Jun, JunB, Fra-1, Fra-2 ve FosB) bileşeninin, ilgili uyuşum dizisine bağlanma ilgisini değiştirmekte buna bağlı olarak genin ifadesini ve proteinin serum değerlerini etkilemektedir. İlgili değişimin özendirici bölge aktivitesi ve gen ifadesi üzerine etkisini değerlendirmeye yönelik in vitro analizlerde farklı hücre hatları test edilmiştir.

Ferzaneh-Far ve ark. (2001) primer yetişkin sıçan vasküler düz kas hücrelerini kullanarak gerçekleştirdikleri ekspresyon çalışmasında -138C moleküler çeşidinin -138T 'den 4 kat daha fazla etkin olduğunu ve -138CC homozigotlarının MGP'nin % 30 oranında daha

yüksek serum değerlerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulguya dayanarak -138C allelinin doku kalsifikasyonuna karşı koruma sağlayabileceğini ileri sürmüştür (151). Hermann ve ark. (2000) ise -138C allelinin fare vasküler düz kas hücrelerinde özendirici bölgenin etkinliğinin %20, insan fibroblast hücre hattında ise %50 oranında azalttığını belirlemiştir (150). Wang ve ark. (2004) 204 kişilik bir böbrek hastası grubunda yaptığı çalışmada -138CC homozigot genotipin kardiyovasküler mortalite riskinin bu hastalarda daha yüksek olmasıyla ilişkili olduğunu bulmuştur(152). Ferzaneh-Far ve ark. G-7A nükleotid değişiminin in vitroda genin ifadesinde önemli bir farklılığa yol açmadığını belirtirken, Hermann ve ark. (2000) -7A allelik formunun miyokardiyal enfarktüs geçiren hastalarda daha yaygın olduğunu ve femoral arterosklerotik kalsifikasyonun -7A alleleline sahip bireyler arasında daha sık görüldüğünü bildirmektedir (150,151).

Brencaccio ve ark. (2005) T-138C ve G-7A MGP gen polimorfizminin kronik böbrek hastaları (KBH) ile hemodiyaliz (HD) hastalarında normal popülasyondan farklı bir dağılım gösterdiğini tespit etmiştir. Araştırmanın bulgularına göre -138 TT genotipinin görülme sıklığının HD grubunda, -7 AA genotipinin ise HD ve KBH gruplarının her ikisinde de kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ve KBH'lı -7A alleli taşıyıcılarında kalsifikasyon ve kardiyovasküler hastalık riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir(153). Genin 4. ekzonunda saptanan diğer bir nükleotid değişimi 83. pozisyonda yer alan polar bir aminoasit olan treonin (Thr)'in nonpolar bir aminoasit olan alanin (Ala)'e dönüşmesine neden olmaktadır. İnsan MGP cDNA'sı 84 aminoasitlik MGP proteinine karşılık gelmektedir. Ancak MGP'nin insan kemik ekstraktında tanımlanan bir formu 77 aminoasite sahip olup karboksil ucunda daha az aminoasit içermektedir. Bu kısalmış MGP formu karboksil ucunun işlenmesiyle oluşmaktadır. Karboksil ucundaki aminoasit değişimleri MGP'nin translasyon sonrası uğrayacağı değişimleri etkileyebilir. Buna bağlı olarak MGP molekülünün yükünün ya da sterik düzenleniminin değişmesiyle proteinin işlevselliği de değişebilir(154). MGP 'nin karboksil ucundaki 2.aminoasiti etkileyen bu değişim proteinin Ca^{+2} 'ya bağlanma kapasitesini azaltarak serbest kalsiyumun birikmesini hızlandıracağı düşünülmektedir (150) .

3-GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Grupların oluşturulması ve kan örneklerinin eldesi:

Bu çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 29.01.2009 tarihli 642 numaralı onay kararı referans alınarak çalışmaya başlandı. 30.01.2009- 01.01.2010 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji ve/veya koroner yoğun bakım ünitesine yatan ve rutin uygulamaları tamamlanan ve çalışma protokolünü kabul eden 123 hasta çalışmaya alındı. Koroner anjiyografide bir ve ya daha fazla koroner arterde %50 ve üzeri darlık olan 49 İKM hastası çalışma grubuna alındı. Koroner arterleri normal olan (koroner anjiyografide darlık saptanmayanlar) 74 DKM hastası kontrol grubunu oluşturdu.

Her iki gruptaki bireylerden, DNA eldesi için kullanılmak üzere EDTA'lı tüpe 5'er ml kan alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanlar DNA eldesine kadar geçen süre içerisinde -20 °C'de saklandı.

3.1.1. Çalışmaya Alınma Kriterleri

1. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği'ne ve/veya koroner yoğun bakım ünitesine yatan ve rutin uygulamaları (Fizik muayene, Elektrokardiyografi, Arteriyel Tansiyon ölçümü, Rutin biyokimya ölçümleri, Doppler-Ekokardiyografi, Koroner anjiyografi) sonucunda İKM tanısı konmuş olan hastalar çalışma grubuna dahil edilmiştir.
2. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği'ne ve/veya koroner yoğun bakım ünitesine yatan ve koroner arter hastalığı olmadığı belirlenmiş DKM hastaları kontrol grubuna dahil edilmiştir.
3. Bilgilendirilmiş onay formunu okuyup çalışma protokolünü kabul edenler çalışmaya alınmıştır.

3.1.2. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

- 1.Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği'ne ve/veya koroner yoğun bakım ünitesine yatan ve İKM olarak belirlenmiş ancak rutin uygulamaları tamamlanamayan veya eksik kalan hastalar,
2. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği'ne ve/veya koroner yoğun bakım ünitesine yatan ve DKM hastası olarak belirlenmiş bulunan ancak rutin uygulamaları tamamlanamamış veya eksik kalan hastalar,
- 3.Bilgilendirilmiş onay formunu okuyup çalışma protokolünü kabul etmeyen hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. GEREÇLER

Santrifüj (Ependorf, Hamburg, Almanya), mikropipet (Ependorf, Hamburg, Almanya), derin dondurucu (Bosch, Almanya), manyetik karıştırıcı (VelpScientifica, İtalya), vorteks (Velp Scientifica, İtalya), biyolojik emniyet kabini (Bilser, İstanbul, Türkiye), inkübatör (Uniequip, Martinsried, Almanya), düşük basınçlı kurutucu (Biometra, Almanya), mikrosantrifüj (Ependorf, Hamburg, Almanya), PZT aleti (MJ Research, Amerika), güç kaynağı (Consort, Belçika), mikrodalga fırın (Arçelik, İsviçre), yatay elektroforez tankı (EC), hassas terazi (Shimadzu, Japonya), otoklav (Nüve, Ankara), rotor (Selecta, İspanya), görüntüleme cihazı (VilberLourmat, Torcy).

3.2.1. Kimyasal Maddeler:

NaCl (Merck, Darmstadt, Almanya), Na₂HPO₄ (Merck, Darmstadt, Almanya), Üre (Merck, Darmstadt, Almanya), Proteinaz K (Sigma, St Louis, Amerika), sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma, St Louis, Amerika), Etil alkol (Tekel, İstanbul, Türkiye), mono bazik sodyum fosfat (NaHPO₄) (Merck, Darmstadt, Almanya), Tris-HCl (Merck, Darmstadt, Almanya), Kloroform (Merck, Darmstadt, Almanya), Agaroz (Prona, Madrid, İspanya), EDTA (Merck, Darmstadt, Almanya), dNTP (Fermentas, Vilnius, Litvanya), Taq DNA polimeraz (Fermentas, Vilnius, Litvanya), 10X Amonyum sülfatlı PZT tamponu (Fermentas, Vilnius, Litvanya), MgCl₂ (Fermentas, Vilnius, Litvanya), Ksilen Siyanol (Sigma, St Louis, Amerika), Bromofenol Mavis (Merck, Darmstadt, Almanya), pUC 19 MspI DNA belirteci (Fermentas, Vilnius, Litvanya), NcoI RE (Fermentas, Vilnius, Litvanya), HaeIII RE (Fermentas, Vilnius, Litvanya), BseNI RE (Fermentas, Vilnius, Litvanya), 10X RE tamponu (Fermentas, Vilnius, Litvanya).

3.2.2. Çözeltiler:

10X TBE (108 g tris, 55 g borik asit, 8,3 EDTA), parçalama çözeltisi (300 mM NaCl, 10 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl), üreli parçalama çözeltisi (4,2 g üre, 10 mL su, 1 mL parçalama çözeltisi), NaCl (5M), Proteinaz K (10mg/ml), EDTA (0.5 M), SDS (200g/l) (155).

3.3. DNA ELDESİ:

I. gün

EDTA'lı tüpe alınan kanların oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra üzerlerine hacimleri kadar saf su eklendi. İyice altüst edildikten sonra 4000 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edildi ve üstteki sıvı kısım atıldı. Bu işlem üç kez tekrar edildi. Üçüncü santrifüjün ardından, atılan sıvı kısmın yerine her bir tüpe 3 mL üreli parçalama çözeltisi eklendi ve çökeleğin iyice çözünmesi sağlandı. Ardından 400 µL %20'lik SDS ve 100 µL 10mg/mL proteinaz K eklenerek 37 oC'de 1 gece için inkübasyona bırakıldı (155).

II. gün

İnkübasyondan çıkarılan örneklerle 2 mL 5M NaCl eklendi ve 10-15 dakika altüst edildi. Ardından, üzerlerine 8 mL kloroform konularak 4000 devir/dakika'da 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan 3 kısımdan üstteki kısım temiz bir tüpe alınarak, üzerine hacmi kadar soğuk %96'lık etil alkol eklendi. Alkol ilavesi ile çöken DNA'lar pipet ucu ile 1,5 mL'lik santrifüj tüpüne alınarak üzerlerine 1000 µL %70'lik etil alkol eklendi. Tüpler 13000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilerek DNA'ların tüpün dibine yapışması sağlandı. Bu işlem 3 kez tekrar edildi. En son santrifüj işleminden sonra, alkol dikkatli bir şekilde döküldü. Tüplerin dibine yapışması sağlanan DNA'lar vakumlu kurutucuda yarım saat bekletildi ve üzerlerine gerekli miktarlarda deiyonize steril su eklendi. Bir gün +4°C'de bekletilerek çözünmesi sağlanan DNA'lar saklanmak üzere -20°C'lik derin dondurucuya kaldırıldı (155).

3.4. DNA ANALİZ YÖNTEMİ

Bu çalışmada DNA analizi için kullanılan PZT (Polimeraz Zincir Tepkimesi) tekniği, ilgilenilen gen bölgesinin canlı dışı ortamda çoğaltılmasına dayanan, pratikliği ve güvenilirliği ile günümüzde moleküler biyolojik çalışmalarda en sık kullanılan tekniklerden biridir (155). MGP geninin ilgili bölgelerinin çoğaltılması işlemi in-house türü MJ Research PTC-200 PZT cihazı ile gerçekleştirildi. PZT için gerekli karışımların tümü otoklavlanmış malzemeler kullanılarak biyolojik sağlık kabiniinde hazırlandı.

3.4.1. PZT ile İlgili Dizilerin Çoğaltılması:

Nükleotid değişimi	Primer uzunluğu (nükleotid)	Nükleotid dizisi	Ürün (baz çifti)	Referans
T-138C	27 nt	5'- AAGCATACGATGGCCAAAACCTTCTGCA - 3'	142	(159)
	27 nt	5'- GAACTAGCATTGGAACCTTTTCCCAACC-3'		
Thr83Ala 3760A→G	20 nt	5'- CACGAGCTCAATAGGGAAGC-3'	188	(159)
	20 nt	5'- GCTGCTACAGGGGGATACAA- 3'		

Tablo 7. MGP geni gen polimorfizmi incelenmesinde kullanılan primerler ve büyüklükleri

Bu tezde kullanılan primerleri tasarlamak maksadıyla referans dizilim olarak NCBI veri tabanındaki; matriks gla proteinin yapısal gen bölgesi için NT_009714 kontig numaralı bölge içerisindeki gi:37543832 numaralı dizilim, özendirici gen bölge için ise AF067176 erişim numaralı bölge içerisindeki gi:3172535 nolu dizilim esas alındı.

Matriks Gla protein geni yapısal bölgesinde yer alan değişimin incelenmesinde kullanılan primer çifti <http://workbench.sdsc.edu/> adresindeki online primer tasarım programı kullanılarak tasarlandı. Özendirici gen bölgesine ait primerler Farzaneh-Far ve ark. (2001) çalışmasından alınmıştır (151).

3.5.2. PZT Karışımının Hazırlanışı:

Polimeraz zincir tepkimesinde kullanılan primer çiftlerinin en verimli çalışabilecekleri erime sıcaklıklarının tespit edilmesi ve tepkime koşullarının iyileştirilmesi amacı ile ilk olarak örnekler içerisinde seçilen 1 DNA örneği ile 3 çift primer takımı için iyileştirme ve gradient PZT yapıldı. Seçilen örnek için 10 µl'lik hacimde gerçekleştirilen gradient PZT neticesinde Tablo 9'da verilen erime sıcaklıkları elde edildi. Uygun erime sıcaklıkları belirlendikten sonra Tablo 8'de verilen miktarlar kullanılarak reaksiyon hacmi 20 µl'ye çıkarıldı ve çalışmaya dahil edilen örneklerin ilgili bölgeleri çoğaltıldı.

Eklenen kimyasal madde	Miktarı (µl)
Distile su	13,9
10X Taq buffer	2.4
25mM MgCl ₂	1,2
2mM dNTP mix	1.6
100 mM Primer F	0,16
100 mM Primer R	0,16
Taq polimeraz (5u/µl)	0,08
DNA	0.5
Toplam	20

Tablo 8. Toplam hacim 20 µL olacak şekilde tepkime karışım oranları.

PRİMER ADI	ERİME SICAKLIĞI (T_m)
T-138C	59 °C
Thr83Ala	59 °C

Tablo 9. Primerlere ait optimize edilmiş erime sıcaklıkları

Tepkime koşullarına ait değişkenler primerlere ait erime sıcaklıkları haricinde tüm tepkimelerde aynı tutulmuştur (Tablo 10). Elde edilen ürünler Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi ile polimorfizm yönünden araştırıldı.

Basamak	Sıcaklık	Süre
İlk denatürasyon	94 °C	5 dakika
Denatürasyon	94 °C	30 saniye
Bağlanma	Tablo ' deki değerler	30 saniye
Uzama	72 °C	1 dakika
	35 tekrar	
Son uzama	72 °C	5 dakika

Tablo 10. Polimeraz zincir tepkimesi koşulları.

3.5. Agaroz Jel Elektroforezi:

Agaroz jel elektroforezi PZT verimli çalışıp çalışmadığının kontrolünde kullanıldı. Örnekler % 1 oranında hazırlanmış olan agaroz jelde 90 voltta 40 dakika kadar (37–501 bç aralığında) pUC19 MspI kesimi DNA belirleyici eşliğinde yürütüldü ve etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülendi.

3.6. Restriksiyon Enzimi (RE) İle Kesim:

0.2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine 10 µ PZT ürünü konuldu. Tablo 11'de belirtilen ölçülerde hazırlanan karışımdan PZT ürününü ihtiva eden her tüpe 5 µl konuldu.

İçerik	Miktarlar (µl)
Distile su (dH2O)	3,4
10X RE tamponu	1,5
RE [BseNI, HaeIII, NcoI (10 u/µl)]	0,1
PZT ürünü	10
Toplam	15

Tablo11. Enzim Kesim Protokolü

Hazırlanan karışımı içeren tüpler tablo 11'deki koşullarda kesim işlemine tabi tutulur.

Enzim	Tanıma dizisi	Enzimin çalışma koşulları	Enzimin durdurulması
BseNI (Bacillus species N)	5'... A C T G G N/...3' 3'... T G A C/C N...5'	65 °C, 16 saat	80 °C, 20 dakika
NcoI (Nocardia corallina)	5'...C/CATGG...3'. 3'...GGTAC/C...5'	37 °C, 16 saat	65 °C, 20 dakika
HaeIII (Haemophilus aegypticus)	5'...GG/CC...3' 3'...CC/GG...5'	37 °C, 16 saat	80 °C, 20 dakika

Tablo 12. Restriksiyon enzimlerinin tanıma dizileri ve tepkime koşulları

Kesim ürününün değerlendirilmesi için inkübasyondan sonra örnekler agaroz jel elektroforezine tabi tutuldu. Örnekler, % 3 oranında hazırlanmış olan agaroz jelde 90 voltta 40 dakika kadar (37-501 bç aralığında) pUC19 MspI kesimi DNA belirleyici eşliğinde yürütüldü, etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülendi. Elde edilen bantlar incelenerek her bir örneğin genotipi tayin edildi.

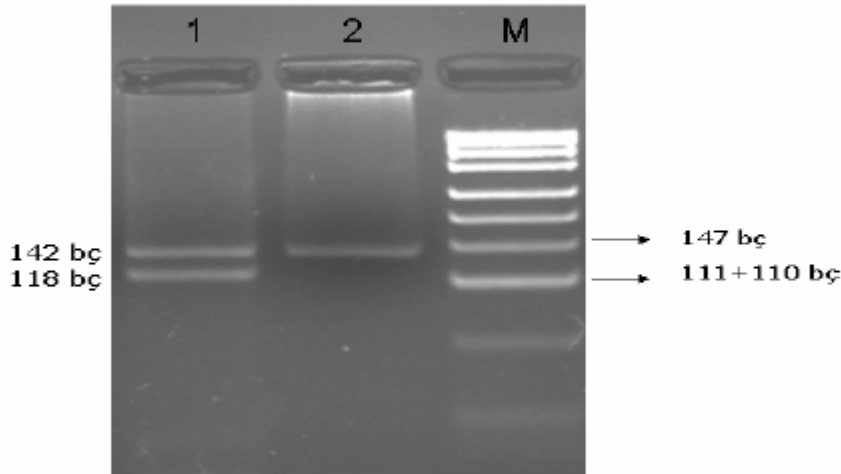
3.7. Sonuçların İstatistikî Yöntemlerle Analizi:

Elde edilen bulgular Ki-kare testi ile değerlendirmeye tabi tutuldu.

4- BULGULAR VE SONUÇLAR

Bu çalışmada; İKM'li 49 hasta ve DKM'li 74 hastadan alınan DNA örnekleri kullanılmıştır. Matriks Gla protein geni yapısal ve özendirici gen bölgesinde tespit edilen gen polimorfizmi ve bu yapıların gruplardaki dağılımı RFLP yöntemiyle analiz edilmiştir.

4.1. T-138C GEN POLİMORFİZMİ ANALİZİ



Şekil 6. T-138C nükleotid değişiminin RFLP yöntemiyle analiziyle elde edilen bant görüntüsü: PZT sonrası elde edilen 142 bç büyüklüğündeki ürün BseNI kesimine tabi tutularak % 3'lük agaroz jelde elektroforez edildi. -138 Nüleotidin C olması durumunda enzim 142 bç'lik parçaya uygun tanıma bölgesi bulamazken, aynı pozisyonda T nükleotidinin bulunması ile enzim kesim işlemini gerçekleştirebilmektedir. Kesim sonrası 118 ve 24 bç uzunluğunda 2 DNA parçası elde edilmektedir. Buna göre 1 numaralı örnek TC, 2 numara CC genotipine sahiptir. M= DNA belirteci (pUC19 MspI kesimi)

Bu bölge için İKM’li 49 hastanın ve DKM’li 74 hastanın DNA’ları analiz edilmiştir. Çalışmada C/C genotipler arasında Ki-kare testi kullanılarak yapılan istatistiksel analizde anlamlı bulundu ($p=0.019$). Ayrıca hasta ve kontrol grubunda alleller arasında Ki-kare testi kullanılarak yapılan istatistiksel analizde anlamlı olarak bulundu($p=0.011$). (Tablo 13).

Tablo 13. T-138C gen polimorfizmi için genotiplerin ve allelerin gruplara göre dağılımı

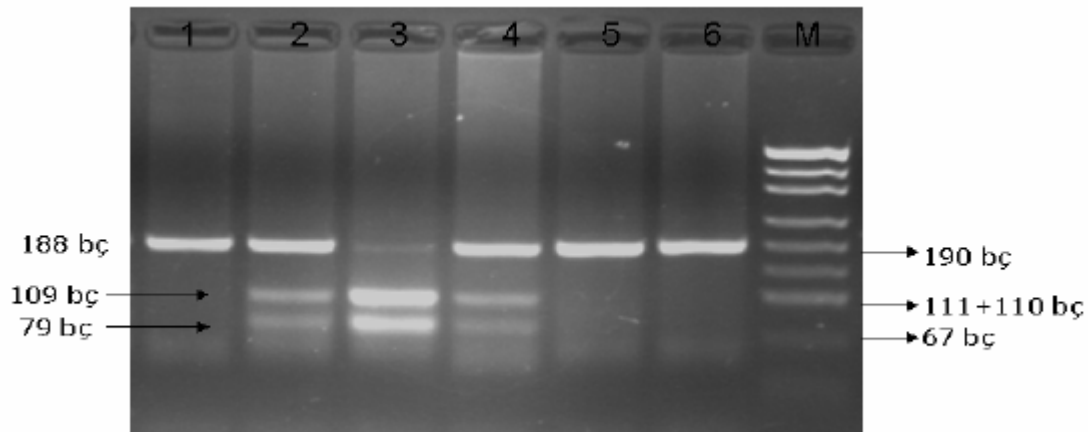
Genotypes/ Alleles	Controls ($n=74$) n (%)	Cases ($n=49$) n (%)	P	OR (95% CI)
T/T	37 (50.0)	20 (40.8)		
T/C	24 (32.4)	9 (18.4)	0.491*	0.694 (0.271-1.776)
C/C	13 (17.6)	20 (40.8)	0.019⁺	2.846 (1.174-6.899)
T	98 (66.2)	49 (50.0)		
C	50 (33.8)	49 (50.0)	0.011⁺	1.960 (1.162-3.305)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı

⁺Ki-kare testi

*Fisher’s Exact Test

4.2. Thr83Ala GEN POLİMORFİZMİ ANALİZİ



Şekil 7. Thr83Ala aminoasit değişimine neden olan A→G nükleotid değişiminin RFLP yöntemiyle analizi sonucu oluşan bant görüntüleri: PZT sonrası elde edilen 188 bp büyüklüğündeki ürün HaeIII enzim kesimine tabi tutularak % 3'lük agaroz jelde elektroforez

edildi. İlgili pozisyonda A nükleotidinin bulunması ile HaeIII enzimi uygun kesim bölgesi bulamazken, A→G nükleotid değişimiyle yeni enzim kesim bölgesi oluşmasıyla 109 bp ve 79 bp uzunluğunda 2 DNA parçası oluşmaktadır. Treonin aminoasidini kodlayan ACC kodonunda meydana gelen bu değişim Alanin aminoasidini kodlayan GCC kodonunun oluşmasına yol açmaktadır. Buna göre 1 ve 5 numaralı örnekler AA alleleline sahip olup proteinin 83. pozisyonunda Thr/Thr aminoasidini bulundururken, 2, 3 ve 4 numaralı örnekler sahip GA allelini taşımakta ve Thr/Ala aminoasitlerini ilgili pozisyonda bulundurmaktadır. 6 numaralı örnek enzim kesimine tabi tutulmayıp negatif kontrol olarak kullanıldı. M= DNA belirteci (pUC19 MspI kesimi)

İlgili bölge için İKM’li 49 hastanın ve DKM’li 74 hastanın DNA’ları analiz edilmiştir. A/G genotipi ve G/G genotipi kontrol grubunda daha fazla bulunmaktaydı. A ve G alleleri kontrol grubunda daha fazlaydı. Ancak gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Elde edilen genotipik ve allelik dağılım **Tablo 14’de** görüldüğü gibidir.

Tablo 14. Thr83Ala gen polimorfizmi için genotiplerin ve allelerin gruplara göre dağılımı

Genotypes/ Alleles	Controls (n=74) n (%)	Cases (n=49) n (%)	P	OR (95% CI)
A/A	34 (45.9)	17 (34.7)		
A/G	29 (39.2)	27 (55.1)	0.118 ⁺	1.862 (0.851-4.077)
G/G	11 (14.9)	5 (10.2)	1.000 [*]	0.909 (0.272-3.040)
A	97 (65.5)	61 (62.2)		
G	51 (34.5)	37 (37.8)	0.596 ⁺	1.154 (0.678-1.962)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı

⁺Ki-kare testi

^{*}Fisher’s Exact Test

İki farklı grupta genotipik ve allelik dağılımları incelenen gen polimorfizmi için elde edilen sonuçlar Ki-kare testi ile değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Buna göre gruplar arasında T-138C gen polimorfizmi için genotiplerin ve allelerin genotipik çalışmada C/C genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (p=0.019). Ayrıca alleler arasında da istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulundu.(p=0.011) (Tablo 13).

5.TARTIŞMA

İskemik kardiyomiyopati koroner arter hastalığı nedeniyle oluşan miyokardiyal duvar hareket anormallikleriyle birlikte EF %40 altında olarak tanımlamakta olup Amerika'daki en sık DKM nedenidir. Önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Geçmişte 5 yıllık surveyi %40 olarak rapor edilmiştir(49).

Uygun aerobik solunumun sağlanabilmesi için miyokardın yeterli perfüzyonu gerekir. İskemi, skar ve hiberne miyokard dokusu canlılığını korumakta olup perfüzyon sağlandığında miyokard dokusunda iyileşmeler olabilir. Koroner arter hastalığı toplumda kalp yetersizliğinin en sık sebebidir. İskemi ve infarktüs sonucu kalp yetersizlikleri meydana gelebilir. En önemli mekanizma miyokard infarktüsü ile oluşan miyokard nekrozudur.

Koroner arter hastalığının temel etyolojik nedeni ateroskleroz, endotelyal disfonksiyon, vasküler inflamasyon ve intima tabakasında lipid ve inflamatuvar hücre birikimi ile karakterize bir patolojidir(134). Aterosklerozun gelişmesinde ve progresyonunda hiperlipidemi, sigara içimi, diabetes mellitus ve hipertansiyon gibi klasik risk faktörleriyle birlikte özellikle genç hastalarda genetik risk faktörleri önemi rol oynayabilmektedir. Genetik faktörlerin KAH gelişiminde rolü %20-60'dır(109). KAH'lı hastaların bir bölümünün herhangi bir ön belirti olmadan akut miyokard infarktüsü veya ani kardiyak ölüm gibi tablolarla karşımıza çıkması, KAH'nın erken tanı ve tedavisinin önemini ortaya koymaktadır. Bu noktada kardiyovasküler hastalıklar için risk profili belirlenmesi ve uygun korunma programına başlanması oldukça önem kazanmaktadır.

Günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan ve geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerini (yaş,sigara,hiperlipidemi vs.) içeren korunma algoritmaları kişinin risk profilini belirlemede yetersiz kalabilmektedir. Son zamanlarda koroner arter kalsiyum (KAK) skrolama gibi yöntemler üzerinde giderek artan sıklıkta durulmaktadır. KAK skrolama, koroner ateroskleroz varlığını gösteren tekniklerden biridir. KAK, arteryel kalsifikasyonun göstergesidir(1). Koroner arterlerde duvar kalsifikasyonu ile KAH arasında çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır(156). Subklinik aterosklerozun bir göstergesi olan KAK yükünün, kişinin kardiyovasküler riski yönünden konvansiyonel risk faktörlerinden bağımsız olarak prognostik bilgi verdiği birçok çalışma ile kanıtlanmıştır(1).

Arterlerde kalsifikasyonu engelleyen en önemli proteinlerden biri MGP'dir. MGP'nin bir kalsifikasyon önleyicisi olduğu MGP geni işlevsel olmayan fare modelleriyle açıkça ortaya konmuştur. Doğumda normal olan farelerde birkaç hafta içinde kıkırdak ve büyüme plaklarında aşırı mineral birikimi ve ana arterlerde şiddetli kalsifikasyonun neden olduğu

damar yırtılmaları gözlenmiştir. Doğumdan sonra 8 hafta içinde ise torasik ve abdominal aorttaki hasarlar nedeniyle kaybedilmişlerdir(157). Normal yapısında kalsifiye olmayan bir hücre dışı matrikse sahip iki hücre tipinde (vasküler düz kas hücreleri ve kondrositler) MGP eksikliğinde şiddetli kalsifikasyonun gözlenmesi MGP'nin doku kalsifikasyonunu önleyici bir makromolekül olduğunu göstermektedir(106). Bununla birlikte MGP ifadesinin yeniden kazandırılmasıyla arteriyel kalsifikasyonun önlendiğini görülmüştür(158).

Laboratuvar ortamında MGP geninde oluşturulan mutasyonlarla MGP'nin kalsifikasyon engelleyicisi olarak etkinlik gösterebilmesinde Gla ünitelerinin büyük öneme sahip olduğu belirlenmiştir. Gama karboksi glutamik asit (Gla); kalsiyum, hidroksi apatit gibi iyonlar için yüksek bağlanma ilgisi oluşturmaktadır. Gla üniteleri sentez sonrası glutamil karboksilaz enzimi, vitamin K ve bikarbonat iyonlarını gerektiren bir reaksiyonla sentez edilirler. Matriks Gla proteininde karboksilasyon tanıma bölgesi olgun protein dizisi içinde yer almaktadır. Bu bölgedeki aminoasitler vitamin K bağımlı karboksilaza doğrudan bağlanabilmektedir. Bu dizide meydana gelecek mutasyonlar gama karboksilasyonun gerçekleşmesini engellemekte ya da etkinliğini değiştirmektedir(159).

Schurgers ve ark. (2005) yapısal özgünlük gösteren antibodyler kullanarak sağlıklı ve aterosklerotik damar çeperinde Gla ve Glu- MGP'nin yerleşimini incelediği çalışmasında sağlıklı damar duvarında MGP'nin Gla şekline rastlanırken, Glu-MGP'nin aterosklerotik plakların kalsifikasyon oluşan kısımlarında bulunduğu belirlenmiştir. Bu dağılım aterosklerotik plaklarda MGP'nin gama karboksilasyon dönüşümünün yetersiz ya da etkisiz olduğunu ve bu bölgelerde MGP ifadesinde artışın uyarılamadığını göstermektedir(160). MGP, yapısında fosforile olmuş serin aminoasitlerini de bulundurmaktadır. Ancak bu fosfoserin ünitelerinin MGP aktivitesinde ne derece önemli olduğu henüz bilinmemektedir (102).

Bu çalışmada; arteriyel kalsifikasyonu önleyici role sahip MGP proteininin yapısal ve özendirici gen bölgesinde daha önceden bilinen ve genin ifadesini etkilediği belirlenen tek nükleotid değişimlerinin İKM'li hastalar ile ilişkisi araştırılmıştır. Farklı hücre tiplerinde MGP ifadesine etkileri incelenen bu tek nükleotid değişimlerinin koroner arterlerdeki MGP ifadesini ve proteinin işlevini ne yönde etkilediği henüz bilinmemektedir. İlgili değişimler için koroner arter hastalarında yaygın görülen genotipin ve allelin belirlenmesiyle, MGP genindeki bu değişimlerin İKM hastalar için bir yatkınlık oluşturup oluşturmadığı saptanmış olacaktır.

Bu çalışma matriks Gla proteininin işlevinin anlaşılmasına yardımcı olmasının yanında İKM hastalığının moleküler tanısı için kullanılabilecek olası allelik belirleyicilerin tespiti amaçlanmıştır. Bu çalışma kapsamında MGP geni yapısal gen bölgesinde ve özendirici

bölgede yer alan 2 gen polimorfizmi incelemeye alınmıştır. Bunlar AP-1 transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesi içinde yer alan T-138C ve genin 4. Ekzonunda yer alan A→G değişiminin neden olduğu Thr83Ala gen polimorfizmi hedef bölgeler olarak seçilmiştir. İskemik kardiyomiyopati ile dilate kardiyomiyopatili olan hastaların MGP genlerinde kıyaslamalı olarak yapılan bu araştırmada, gruplar arasında ortaya çıkan genotipik ve allelik dağılım Ki-kare testi ile analiz edildiğinde; T-138C gen polimorfizmi için genotipler arasındaki analizde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu ($p=0.019$). Ayrıca alleller arasında Ki-kare testi kullanılarak yapılan analizde istatistiksel farklılık bulundu($p=0.011$). (Tablo 13). Ancak Thr83Ala gen polimorfizmi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilemedi.

Çalışmamızda T-138C gen polimorfizmi C/C genotipler ve T ve C alleller arasında genetik polimorfizmin belirlendiği gözlenmiştir. Daha çok sayıda hastada yapılacak genetik çalışma toplumumuzda MGP gen polimorfizmiyle ateroskleroz ve İKM hastalar arasındaki ilişkinin tam olarak ortaya konulmasında yardımcı olacaktır.

6-ÖZET

Kalp yetmezliği günümüzün; önemli sağlık problemlerinden birini oluşturmakta ve prevelansı giderek artış göstermektedir. İskemik kardiyomiyopati koroner arter hastalığı nedeniyle oluşan miyokardiyal duvar hareket anormallikleriyle birlikte EF %40 altında olarak tanımlamakta olup Önemli morbidite ve mortalite nedenidir. İskemik kalp hastalığının temelinde Ateroskleroz yatmaktadır.

Koroner arter kalsifikasyonu (KAK) ,koroner ateroskleroz varlığı ile ilişkilidir. Koroner arterlerde duvar kalsifikasyonu ile koroner arter hastalığı(KAH) arasında çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Subklinik aterosklerozun bir göstergesi olan KAK yükünün ,kişinin kardiyovasküler riski yönünden konvansiyonel risk faktörlerinden bağımsız olarak prognostik bilgi verdiği birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. MGP (Matriks Gla protein)'nin arteryel kalsifikasyonun önlenmesinde oldukça etkin olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden kalsifikasyon inhibitörü olan MGP son zamanlardaki çalışmalarda daha da önem kazanmıştır.

Matriks Gla Protein geninin yapısal ve özendirici gen bölgelerinde saptanan nükleotid değişimlerinin İKM ve DKM'li hastalar arasındaki dağılımının belirlenmesi için bu çalışma planlanmıştır.

Çalışmaya İKM'li olan 49 hasta ile DKM'si olan 74 kontrol hastasından olmak üzere toplam 123 hastadan DNA analizi yapmak amacıyla kan örneği alındı. Elde edilen DNA'lar, MGP geninin kodlayıcı ve özendirici (promoter) bölgesindeki çeşitli nükleotid değişimlerini kapsayan, 2 çift primer seti kullanılarak Polimeraz Zincir Tepkimesi'ne (PZT) tabi tutuldu. Çoğaltılan gen bölgeleri RFLP yöntemi ile gen polymorfismi yönünden analiz edildi.

MGP geni özendirici bölgesinde yer alan T-138C ve 4. ekzonunda rastlanan Thr83Ala değişiminin incelendiği çalışmamızda her 2 gen polimorfizminin de gruplar arasındaki dağılımları belirlenmiştir. T-138C gen polimorfizmi için genotipler arasındaki analizde istatistiksel anlamlı farklılık bulundu ($p=0.019$). Ayrıca alleler arasında Ki-kare testi kullanılarak yapılan analizde istatistiksel farklılık bulundu($p=0.011$).

Bu çalışmanın sonucunda T-138C gen polimorfizmi ile İKM arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İskemik Kardiyomiyopati, Dilate Kardiyomiyopati, Koroner Arter Hastalığı, MGP Gen Polimorfizmi

7-SUMMARY

Heart failure is an important health problem in the world, its prevalence on the increases. Ischemic cardiomyopathy is defined as $EF < 40\%$ with myocardial wall motion abnormality due to coronary artery disease. It is an important cause of morbidity and mortality. Atherosclerosis is the most common reason of Ischemic heart disease, Coronary artery calcification (CAC) is associated with coronary atherosclerosis. There is a significant relation between coronary artery wall calcification and coronary artery disease (CAD). The measure of coronary artery calcification is an indicator of subclinical atherosclerosis. In some studies it has been showed that independent from conventional cardiovascular risks, coronary artery calcification suggests data about prognosis. Matrix Gla protein (MGP) appears to be an important protective modulator against calcification since it is a potential inhibitor of tissue calcification. Therefore, MGP as an inhibitor of calcification recently has been more important in studies. In this respect, it is aimed to establish the relationship between the distributions of nucleotide alterations found in promoter and coding regions of MGP gene in ICM patients and DCM patients. DNA samples were obtained from 49 patients with ICM and 74 patients with DCM (Totally from 123 patients). The DNA samples obtained were analyzed by Polymerase Chain Reaction (PCR) method using the 2 sets of primer pairs which cover the coding (Thr83Ala in exon 4) and promoter regions (T-138C) of MGP gene. Amplified regions were analyzed by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) method for possible polymorphisms.

In the chi-square analysis for T-138C gene polymorphism there is a statistical significant difference between genotypes ($p=0,019$) and alleles ($p=0,011$). But in analyses for Thr83Ala gene polymorphism there is not difference between groups.

The results of this study demonstrated that there is a significant relation between the T-138C gene polymorphism and ICM.

Keywords: Ischemic Cardiomyopathy, Dilate Cardiomyopathy, Coronary Artery Disease, MGP Gene Polymorphism

8-KAYNAKLAR

- 1-Değertekin M. Koroner Kalsiyum Skoru Tayininin Geleneksel Risk Faktörlerine Katkısı Türk Kardiyoloji Arşivi 2008;36(5):352-354
- 2-Zieman SJ, et al. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 932–943
- 3-Ndrepepa G, Braun S, Beckerath Nv, Mehilli J, Gorchakova O, Vogt W. Oxidized low density lipoproteins, statin therapy and severity of coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta*. 2005;360:178-186.
- 4-Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*. 1997;272:20963-6.
- 5-Herrmann SM, Whatling C, Brand E, Nicaud V, Gariepy J, Simon A, Evans A, Ruidavets JB, Arveiler D, Luc G, Tiret L, Henney A, Cambien F. Polymorphisms of the human matrix gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:2386 –2393.
- 6-Scheid CR, Cao LC, Honeyman T, Jonassen JA. How elevated oxalate can promote kidney stone disease: changes at the surface and in the cytosol of renal cells that promote crystal adherence and growth, *Frontiers in bioscience* 2004 Jan 1;9, 797–808.
- 7-Proudfoot D, Skepper JN, Shanahan CM, Weissberg PL. Calcification of human vascular cells in vitro is correlated with high levels of matrix Gla protein and low levels of osteopontin expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:379 –388.
- 8- Worcester EM. Inhibitors of stone formation. *Semin Nephrol* 1996;16,474–486.
- 9-Textbook of Cardiovascular Medicine Eric J. Topol Lippincott Williams and Wilkins 1998 Section VI Heart Failure and Transplantation Page 2179 2327 Manual of Cardiovascular Medicine E.J. Topol Lippincott Williams and Wilkins 2004 second edition Heart Failure and Transplantation Page 101-175
- 10-Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine 7th Edition Eugene Braunwald, Douglas P. Zipes, Peter Libby, Robert O. Bonow Chapter 19-26 Page 457-652
- 11-Dickstein K, Kjekshus J. Effects of losartan and captopril on mortality and morbidity in high-risk patients after acute myocardial infarction: the OPTIMAAL randomised trial. *Lancet*, 2002;360:752-760.
- 12-Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation*, 1991;83:1849-1865.
- 13-E. Braunwald, Congestive Heart Failure: A Half Century Perspective *European Heart Journal* 2001;22:825-836

- 14-Crawford MH, DiMarco JP. Crawford Kardiyoloji 1. baskı. İstanbul, And yayıncılık, 2003;5:1.10.
- 15-Opie LH. Heart failure: Neurohumoral responses. In: Opie LH, editors. Heart Physiology. From cell to circulation. 4 th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004:485-522.
- 16-Francis GS, Gassler JP, Sonnenblick EH. Heart Failure. In: Fuster C, Alexander RW, O'Rourke RA, editors. The Heart. 10 th ed. International Edition: McGraw-Hill; 2001:653-685.
- 17-Colucci WS, Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. Heart Disease: A textbook of cardiovascular medicine. 6 th ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2001:500-533.
- 18-Jefferies JL, Chang AC. The neurohormonal axis and biochemical markers of heart failure. Cardiol Young, 2005;15:333-344.
- 19-James N, Smith M. Treatment of heart failure in children. Current Paediatrics, 2005;15:539-548.
- 20-Zipes PD, Libby P, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease 7th edition Philadelphia. Elsevier Saunders, 2005:531-532.
- 21-Weber KT. Aldosterone in congestive heart failure. NEJM, 2001;345:1689- 1697
- 22-Pitt B, Zannand F, Remme WJ. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. NEJM, 1999;341:709-717
- 23-Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, et al: Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. NEJM, 2003;348:1309-21
- 24-Zipes PD, Libby P, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease 7th edition Philadelphia. Elsevier Saunders, 2005:533.
- 25-Jefferies JL, Chang AC. The neurohormonal axis and biochemical markers of heart failure. Cardiol Young, 2005;15:333-344.
- 26-Valderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. Eur J Heart Fail, 2004;6:261-268.
- 27-Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. Eur J Heart Fail, 2004;6:257-260.
- 28-Pucci A, Wharton J, Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, Needleman P. Localization of brain and atrial natriuretic peptide in human and porcine heart. Int J Cardiol, 1992;34:237-47.

- 29-Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation*, 1995;92(6):1558-64.
- 30-Woods RL. Cardioprotective functions of atrial natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide: a brief review. *CEPP*, 2004;31(11):791-4.
- 31-McKie PM, Burnett JC, Jr. B-type natriuretic peptide as a biomarker beyond heart failure: speculations and opportunities. *Mayo Clin Proc*, 2005;80:1029-36.
- 32-Jourdain P, Funck F, Bellorini M, Guillard N, Loiret J, Thebault B. Bedside B type natriuretic peptide and functional capacity in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, 2003;5(2):155-60.
- 33-Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, Latini R, Masson S, Maggioni AP. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation*, 2003;107(9):1278-83.
- 34-Harrison A, Morrison LK, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Dao Q. B type natriuretic peptide predicts future cardiac events in patients presenting to the emergency department with dyspnea. *Ann Emerg Med*, 2002;39(2):131-8.
- 35-Prahash A, Lynch T. B-type natriuretic peptide: A diagnostic, prognostic and therapeutic tool in heart failure. *Am J Crit Care*, 2004;13:46-53.
- 36-McCullough PA, Omland T, Maisel AS. B-type natriuretic peptides: a diagnostic breakthrough for clinicians. *Rev Cardiovasc Med*, 2003;4:72-80.
- 37-Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem*, 2004;50:33- 50.
- 38-Pagani FD, Baker LS, Hsi C, Knox M, Fink MP, Visner MS. Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor- α in conscious dogs. *J Clin Invest*, 1992;90:389-98.
- 39-Desval A, Petersen NJ, Feldman AM, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: An Analysis of the Cytokine Database from the Vesnarinone Trial (VEST). *Circulation*, 2001;103:2055-9.
- 40-Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor. *Lancet*, 1989;1:1122-6.
- 41-Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor receptors in severe chronic heart failure. *NEJM*, 1990;323(4):236-41.
- 42-Bristow MR. Tumor necrosis factor- α and cardiomyopathy. *Circulation*, 1998;97:1340-1343.

- 43-Bryant D, Becker L, Richardson J, Shelton J, Franco F, Peshock R. Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor- α . *Circulation*, 1998;97:1375-81.
- 44-Colucci WS, Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: A textbook of cardiovascular medicine*. 6 th ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2001:500-533.
- 45-Opie LH. Heart failure:Neurohumoral responses. In: Opie LH, editors. *Heart Physiology. From cell to circulation*. 4 th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004:485-522.
- 46-Colucci WS, Braunwald E. Pathophysiology of heart failure. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: A textbook of cardiovascular medicine*. 6 th ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2001:500-533.
- 47-Opie LH. Heart failure:Neurohumoral responses. In: Opie LH, editors. *Heart Physiology. From cell to circulation*. 4 th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004:485-522.
- 48- Baig K, Mahon N, McKenna W. The Pathophysiology Advanced Heart Failure *Am Heart J* 1998; 135:216-30.
- 49- Manley JC, King JF, Zeft HJ, Johnson WD. The "bad" left ventricle. Results of coronary surgery and effect on late survival.*J Thorac Cardiovasc Surg*. 1976 Dec;72(6):841-8.
- 50- Nagueh SF, Vaduganathan P, Ali N, Blaustein A, Verani MS, Winters WL Jr, Zoghbi WA. Identification of hibernating myocardium: comparative accuracy of myocardial contrast echocardiography, rest-redistribution thallium-201 tomography and dobutamine echocardiography. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Apr;29(5):985-93.
- 51- Braunwald E, Bristow MR: Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation*. 2000 Nov 14;102(20 Suppl 4):IV14-23.
- 52-Dries DL, Exner DV, Gersh BJ, Cooper HA, Carson PE, Domanski MJ. Racial differences in the outcome of left ventricular dysfunction.*N Engl J Med*. 1999 Feb 25;340(8):609-16.
- 53-Dec GW Fuster V. Medical progress: Idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1994 Dec 8;331(23):1564-75
- 54-Rowan R, Maeske MA, Billingham ME. Ultrastructural morphometric analysis of endomyocardial biopsies. *Am J Cardiovasc Pathol* 1988;2:137-44
- 55-Cardiology Michael H. Crawford, John P. DiMarco Mosby 2001 Section V Heart Failure and Cardiomyopathy Page 1.1 - 18.10

- 56-Arbustini E, Diegoli M, Fasani R, Grasso M, Morbini P, Banchieri N, Bellini O, Dal Bello B, Pilotto A, Magrini G, Campana C, Fortina P, Gavazzi A, Narula J, Viganò M. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial abnormalities in dilated cardiomyopathy. *Am J Pathol*. 1998 Nov;153(5):1501-10.
- 57-Kapoor AS: The spectrum of cardiomyopathies. In:Kapoor AS, Laks H, Schoeder JS, Yacoub MH. *Cardiomyopathies and Heart-Lung Transplantation* New York: McGraw Hill, 1991;11
- 58-Good CB, McDermott L, McCloskey B. Diet and serum potassium in patients on ACE inhibitors. *JAMA* 1995; 274: 538.
- 59-Cooper HA, Exner DV, Domanski MJ. Light-to moderate alcohol consumption and prognosis in patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1753-9.
- 60-Anker SD, Chua TP, Ponikvarski P, et al. Hormonal changes and catabolic / anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia. *Circulation* 1997; 96: 526-34.
- 61-DeBusk R, Drory Y, Goldstein I, et al. Management of sexual dysfunction in patients with cardiovascular disease: recommendations of The Princeton Consensus Panel. *Am J Cardiol* 2000; 86: 175-81.
- 62-Feenstra J, Grobbee DE, Remme WJ, Stricker BH. Drug induced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1152-62.
- 63-Working Group on Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology. Recommendations for Exercise Testing in Chronic Heart Failure patients. *Eur Heart J* 2001; 22: 125-35.
- 64-Cardiology Michael H. Crawford, John P. DiMarco Mosby 2001 Section V Heart Failure and Cardiomyopathy Page 1.1-18.10.
- 65- Textbook of Cardiovascular Medicine Eric J. Topol Lippincott Williams and Wilkins 1998 Section VI Heart Failure and Transplantation Page 2179 2327 Manual of Cardiovascular Medicine E.J. Topol Lippincott Williams and Wilkins 2004 second edition Heart Failure and Transplantation Page 101-175
- 66-CIBIS-II investigators and committees. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II. A randomized trial. *Lancet* 1999; 353: 9.
- 67-MERIT-HF Study group. Effect of Metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure.*Lancet* 1999;353:2001.

- 68-E. Braunwald. Congestive Heart Failure: A Half Century Perspective European Heart J 2001; 22: 825-36.
- 69-Kajotuna J, Cipola E, Malhotna A, et al. Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes in vitro. J Moll Cell Cardiol 1997; 25: 859-70.
- 70-Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, et al. For the Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. Effects on mortality by trandolapril after myocardial infarction. N Eng J Med 1995; 333:1670-6.
- 71-Flather M, Yusuf S, Kober L, et al. Long-term ACE inhibitor therapy in patients with heart failure or left ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. ACE-Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. Lancet 2000; 355: 1575-81.
- 72-Ljungman S, Kjekshus J, Swedberg K. Renal function in severe congestive heart failure during treatment with enalapril (The Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study –CONSENSUS- Trial. Am J Cardiol 1992; 70: 479-87.
- 73-Kaddoura S, Patel D, Parameshwar J et al. Objective assessment of the response to treatment of severe heart failure using a 9-minute walk test on a patient-powered treadmill. J Card Fail 1996; 2: 133-9.
- 74-Vargo DL, Kramer WG, Black PK, Smith WB, Serpas T, Brater DC. Bioavailability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of torasemide and furosemide in patients with congestive heart failure. Clin Pharmacol Ther 1995; 57: 601-9.
- 75-Channer K.S, McLean KA, Lawson-Matthew P, Richardson M. Combination diuretic treatment in severe heart failure: a randomised controlled trial. Br Heart J 1994; 71: 146-50.
- 76-Wang W. Chronic administration of aldosterone depresses baroreceptor reflex function in the dog. Hypertension 1994; 24: 571-5.
- 77- Khand AU, Rankin AC, Kaye GC, Cleland JG. Systematic review of the management of atrial fibrillation in patients with heart failure. Eur Heart J 2000; 2: 614-12.
- 78-The Digitalis Investigation Group. The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. N Engl J Med 1997; 336: 525-33.
- 79- Cohn JN, Johnson G, Ziesche S et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. N Engl J Med 1991; 325: 303-10.
- 80-Cohn JN, Ziesche S, Smith R et al. Effect of the calcium antagonist felodipine as supplementary vasodilator therapy in patients with chronic heart failure treated with enalapril: V-HeFT III. Vasodilator-Heart Failure Trial (V-HeFT) Study Group. Circulation 1997; 96: 856-63.

- 81-Thackray S, Witte K, Clark AL, Cleland JG. Clinical trials update: OPTIME-CHF, PRAISE-2, ALL-HAT. *Eur J Heart Fail* 2000; 2: 209-12.
- 82- Cleland JG, Cowburn PJ, Falk RH. Should all patients with atrial fibrillation receive warfarin? Evidence from randomized clinical trials. *Eur Heart J* 1996; 17: 674-81.
- 83- Bristow MR, Ginsburg R, Minobe WA, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, Billingham ME, Harrison DC, Stinson EB. Decreased catecholamine sensitivity and beta adrenergic receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med* 1982;307:205-211.
- 84- Bristow MR, Kantrowitz NE, Ginsburg R, Fowler MB. Beta adrenergic function in heart muscle disease and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17(suppl 2):41-52.
- 85- Bristow MR. Pathophysiologic and pharmacologic rationales for clinical management of chronic heart failure with beta-blocking agents. *Am J Cardiol* 1993;71:12C-22C.
- 86-Eichhorn EJ, Bristow MR. Medical therapy can improve the biologic properties of the chronically failing heart: a new era in the treatment of heart failure. *Circulation* 1996;94:2285-2296.
- 87- Fowler MB, Laser JA, Hopkins GL, Minobe W, Bristow MR. Assessment of The beta adrenergic receptor pathway in the intact failing human heart: progressive receptor down-regulation and subsensitivity to agonist response. *Circulation* 1986;74:1290-1302.
- 88-White M, Yanowitz F, Gilbert EM, Larrabee P, O'Connell JB, Anderson JL, Renlund D, Mealey P, Abraham WT, Bristow MR. Role of beta-adrenergic receptor downregulation in the peak exercise response of patients with heart failure due to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1995;76:1271-1276.
- 89- White M, Wiechmann RJ, Roden RL, Hagan MB, Wollmering MM, Port JD, Hammond E, Abraham WT, Wolfel EE, Lindenfeld J, Fullerton D, Bristow MR. Cardiac beta adrenergic neuroeffector systems in acute myocardial dysfunction related to brain injury: evidence for catecholamine-mediated myocardial damage. *Circulation* 1995;92:2183-2189.
- 90- Imperato-McGinley J, Gautier T, Ehlers K, Zullo MA, Goldstein DS, Vaughan ED Jr. Reversibility of catecholamine-induced dilated cardiomyopathy in a child with a pheochromocytoma. *N Engl J Med* 1987;316:793-797.
- 91- Waagstem F, Caidahl K, Wallentin I, Bergh CH, Hjalmarson A. Long-Term beta blockade in dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1989;80:551- 563.
- 92-Quaife RA, Gilbert EM, Christian PE, Dalz FL, Mealey PC, Volkman K, Olsen SL, Bristow MR. Effects of carvedilol on systolic and diastolic left ventricular performance in idiopathic dilated cardiomyopathy or ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1996;78:779-734.

- 93-Hall SA, Cigarroa CG, Marcoux L, Risser RC, Graybum PA, Eichhorri EJ Time course of improvement in left ventricular function, mass, and geometry in patients with congestive heart failure treated with β -adrenergic blockade. *J Am Coll Cardiol* 1995;5,25:1154 -1161.
- 94-Lowes BD, Gill EA, Rodriguez-Larrain J, Abraham WT, Bristow MR, Gilbert EM. Carvedilol is associated with a reversal of remodeling in chronic heart failure. (Abstr) *Circulation* 1996;94(suppl 1):1-407.
- 95-Gilbert EM, Abraham WT, Olsen S, Hattler B, White M, Mealy P, Larrabee P, Bristow MR. Comparative hemodynamic, LV functional, and antiadrenergic effects of chronic treatment with metoprolol vs carvedilol in the failing heart. *Circulation* 1996;94:2817-2825.
- 96-Cleland JGF, Swedberg K (1996) Carvedilol for heart failure, with care. *Lancet* 347:1199-201
- 97-Packer M, Bristow MR, Cohn JN et al for the US carvedilol study group (1996) The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med* 334:1349-55.
- 98-Cleland JGF, Bristow M, Erdmann E, Remme WJ, Swedberg K, Waagstein F (1996) Beta-blocking agents in heart failure. Should they be used and how? *Eur Heart J* 17:1629-39.
- 99-Cleland JGF, Ray SG, McMurray JJV (1994) Prevention Strategies after Myocardial Infarction. Science Press, London.
- 100-Fraser JD, Price PA. Lung, heart and kidney express high level of mRNA for the possible functions of matrix Gla protein and for the tissue distribution of the γ -carboxylase. *J Biol Chem* 1988; 263:11033.
- 101-Hale JE, Fraser JD, Price PA. The identification of matrix Gla protein in cartilage, *J Biol Chem* 1988; 263,5820–5824.
- 102-Hackeng TM, Rosing J, Spronk HMH, Vermeer C. Total chemical synthesis of human matrix Gla protein, *Protein Sci* 2001; 10, 864–870.
- 103-Cancela L, Hsieh CL, Francke U, Price PA. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene. *J Biol Chem* 1990; 265, 15040–15048.
- 104-Price, PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new γ -carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 117, 765–771.
- 105-Luo G, D'souza R, Jogue D, Karsenty G. The matrix Gla protein gene is a marker of the chondrogenesis cell lineage during development. *J Bone Miner Res* 1995; 10, 325–334,

- 106-Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997; 386:78–81.
- 107-Crawford MH, DiMarco JP. Crawford Kardiyoloji. Editör: Dursun AN, 1. Baskı, AND Yayıncılık, İstanbul, 2003;1:2-14.
- 108-Libby P. The Vascular Biology of Atherosclerosis. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease. 7 th Edition. Elsevier Saunders. 2005;35:921-939.
- 109-Napoli C, Glass CK, Witztum JL, Deutsch R, Palinski W. Influence of maternal hypercholesterolaemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *Lancet*. 1999;354:1234-1241.
- 110-Kaş Y, Şahin M. Ateroskleroz, Aterotromboz ve Kardiyovasküler Korunma, İstanbul: Avantis Pharma Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi. 2003.
- 111-Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glasgov S, Insuull WJr, Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis prone regions. *Circulation*. 1992;85:391-405.
- 112-Schwartz SM, Helmark RL, Majesky MW. Developmental mechanisms underlying pathology of arteries. *Physiol Rev*. 1990;70:1177-209.
- 113-Nagai M, Kamide K, Rakugi H, Takiuchi S, Imai M, Kida I. Role of Endothelin-1 Induced by Insulin in the Regulation of Vascular Cell Growth. *Am JHypertens*. 2003;16:223-228.
- 114-Wheatcroft SB, Kearney MT, Shah AM, Grieve DJ, Williams IL, Miell JP, et al. Vascular Endothelial Function and Blood Pressure Homeostasis in Mice Overexpressing IGF Binding Protein-1. *Diabetes*. 2003;52:2075-82.
- 115-Navab M, Berliner JA, Watson AD, et al. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arteriosclerosis Thrombosis Vase Biol*. 1996;16:831-42.
- 116-Cybulsky ML, Gimbrone MA. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherosclerosis. *Science*. 1991;251:788-91.
- 117-Young IS, McEneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*. 2001;29(2):358-362.
- 118-Weinbrenner T, Cladellas M, Covas MI, Fito M, Tomas M, Senti M. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 2003;168:99-106.

- 119-Ndrepepa G, Braun S, Beckerath Nv, Mehilli J, Gorchakova O, Vogt W. Oxidized low density lipoproteins, statin therapy and severity of coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta*. 2005;360:178-186.
- 120-Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*. 1997;272:20963-6.
- 121-Krieger M, Acton S, Ashkenas J, Pearson A, Penman M, Resnick D. Molecular flypaper, host defense, and atherosclerosis. *J Biol Chem*. 1993;268:4569-72.
- 122-Crawford MH, DiMarco JP. Crawford Kardiyoloji 1. baskı. İstanbul, And Yayıncılık, 2003;1:1-8.
- 123-Bayram AA. Tanısı yeni konulmuş hipertansiyon, Hiperlipidemi ile hipertansiyon ve hiperlipidemisi birlikte bulunan bireylerin diyet yağ asidi örüntüsü ve beslenme alışkanlıklarının değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Diyetetik Prog. Ankara. 2006.
- 124-Crawford MH, DiMarco JP. Crawford Kardiyoloji 1. baskı. İstanbul, And Yayıncılık, 2003;1:2-7.
- 125-Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith SJr, Fuster V. Assesment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assesment equations: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation*. 1999;100:1481-
- 126-Flavahan NA. Atherosclerosis or lipoprotein induced endothelial dysfunction: Potential mechanisms underlying reduction in EDRF/nitric oxide activity. *Circulation*. 1992;85:1927-1938.
- 127-National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106:3143–3421.
- 128-Mannien V, Huttunen JK, Heinonen OP, Tenkanen L, Frick MH. Relation between baseline lipid and lipoprotein values and the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Am J Cardiol*. 1989;63:42-47.
- 129-Genest JJr, Martin-Munley SS, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner J, Myers RH. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation*. 1992;85:2025-2033.

- 130-Değertekin M. Koroner Kalsiyum Skoru Tayininin Geleneksel Risk Faktörlerine Katkısı Türk Kardiyoloji Arşivi 2008;36(5):352-354
- 131-Ridker PM, Libby P. Risk Factors for Atherothrombotic Disease. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease. 7 th Edition. Elsevier Saunders. 2005;36:939-959.
- 132-Hale JE, Fraser JD, Price PA. The identification of matrix Gla protein in cartilage, J Bio Chern 1988; 263,5820–5824.
- 133-Wilhelmsson C, Elmfeldt D, Elmfeldt D, Tibblin G, Wilhelmsen L. Smoking and myocardial infarction. Lancet. 1975;1:415-419.
- 134-Ross R.the pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s,Nature 1993; 362:801 -809.
- 135-Cranenburg EC, et al. The circulating inactive form of Matrix Gla Protein (ucMGP) as a biomarker for cardiovascular calcification. J Vasc Res 2008; 45: 427–436.
- 136-Benoist C, O'Hare K, Breathnach R, Chambon P. The ovalbumin genesequene of putative control regions. Nucleic Acids Res 1980 Jan 11;8(1):127–142.
- 137-Blacher J, et al. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. Hypertension 2001; 38: 938–942.
- 138-Crawford MH, DiMarco JP, Asplund K, Carabello BA, Drexler H, Falk E, et al. Crawford Kardiyoloji. Ülker T (Çeviren). 1. Baskı, İstanbul: AND,2003.
- 139-Hoeg JM, Feuerstein IM, Tucker EE Detection and quantitation of calcific atherosclerosis by ultrafast computed tomography in children and young adults with homozygous familial hypercholesterolemia. Arterioscler Thromb. 1994 Jul;14(7):1066–74.
- 140-Corden J, Wasylyk B, Buchwalder A, Sassone-Corsi P, Kedinger C, Chambon P. Promoter sequences of eukaryotic protein-coding genes.Science 1980 Sep 19;209(4463):1406–1414.
- 141-Benoist C, O'Hare K, Breathnach R, Chambon P. The ovalbumin genesequene of putative control regions. Nucleic Acids Res 1980 Jan 11;8(1):127–142.
- 142-Lee W, Haslinger A, Karin M, Tjian R. Activation of transcription by two factors that bind promoter and enhancer sequences of the human metallothionein gene and SV40. Nature 325 (6102):368–372.
- 143-Pamela J. Mitchell, Charlotte Wang, and Robert Tjian. Positive and negative regulation of transcription in vitro: Enhancer-binding protein AP– 2 is inhibited by SV40 T antigen, Cell 1987; 50, 847–861.

- 144-Short, JM, Wynshaw-Boris A, Short HP, Hanson RW. Characterization of the phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) promoter regulatory region. *J Biol Chem* 1986; 261, 9721–9726.
- 145-Karin M, Haslinger A, Holtgreve H, Richards RI, Krauter PA, Westphal HM, Beato M. Characterization of DNA sequences through which cadmium and glucocorticoid hormones induce human metallothionein-IIA, *Nature* 1984; 308, 513 – 519.
- 146-The H, Vivanco-Ruiz MM, Tiollais P, Stunnenberg H, Dejean A. Identification of a retinoic acid responsive element in the retinoic acid receptor b gene. *Nature (Lond)* 1990; 343, 177– 180.
- 147-Cancela ML, Price PA. Retinoic acid induces matrix Gla protein gene expression in human cells. *Endocrinology* 1992; 130,102– 108. 65
- 148-Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, Miyao M, Yoshida H, Watanabe S, Suzuki T. Association of bone mineral density with polymorphism of the human matrix Gla protein locus in elderly women, *J Bone Miner Metab*, 2000; 18: 27–30.
- 149-Proudfoot D, Shanahan CM. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein. *Nephrology* 2006; 11, 455–461
- 150-Herrmann SM, Whatling C, Brand E, Nicaud V, Gariepy J, Simon A et al, Polymorphisms of the human matrix gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20, 2386–93.
- 151-Farzaneh-Far A, Davies JD, Braam LA, Spronk HM, Proudfoot D et al. A polymorphism of the human matrix gamma-carboxyglutamic acid protein promoter alters binding of an activating protein–1 complex and is associated with altered transcription and serum levels. *J Biol Chem* 2001; 276,32466–73.
- 152-Wang K, Honda H, Qureshi AR, Pecoits-Filho R, Axelsson J, Nordfors L et al. The matrix GLA protein –138 genotype is associated with clinical outcome in end-stage renal disease patients. ERA-EDTA XLI Congress 2004;May 15–18, , Lisbon, Portugal.
- 153-Brancaccio D, Biondi ML, Gallieni M, Turri O, Galassi A,Cecchini F, Russo D, Andreucci V,Cozzolino M. Matrix Gla protein gene polymorphisms: Clinical correlates and cardiovascular mortality in chronic kidney disease patients, *Am J Nephrol* 2005;25: 548–552.
- 154-Gao B, Yasui T, Itoh K, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. A Polymorphism of Matrix Gla Protein Gene is Associated With Kidney Stones, *The Journal Of Urology* 2007, 177; 2361-2365
- 155- CANTÜRK M. Böbrek taşı hastalarında bikunin gen çökyapılılığı ve mutasyon taraması. Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep Üniversitesi. 2005, 30–31.

- 156-Raggi P, Callister TQ, Shaw LJ. Progression of coronary artery calcium and risk of first myocardial infarction in patients receiving cholesterol-lowering therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Jul;24(7):1272–7
- 157-Yasui T, Fujita K, Sasaki S, Sato M, Sugimoto M, Hirota S, Kitamura Y, Nomura Y, Kohri K. Expression of bone proteins in urolithiasis model rats. *Urol Res* 1999; 27: 255–261.
- 158-Munroe PB, Olgunturk RO, Fryns JP, Van Maldergem L, Ziereisen F, Yuksel B, Gardiner RM, Cung E. Mutations in the gene encoding the human matrix Gla protein cause Keutel syndrome. *Nat Genet* 1999;21,142–144.
- 159-KIZILYER A. Matriks Gla Protein (Mgp) Geni Çokyapılılığının Böbrek Taşı Hastalarında Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi Gaziantep Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ; 2007
- 160-Schurgers LJ, Teunissen KJ, Knapen MH et al. Novel conformationspecific antibodies against matrix gamma-carboxyglutamic acid (Gla) protein: Undercarboxylated matrix Gla protein as marker for vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2005; 25: 1629–33.