



T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİMDALI

PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1 4G/5G GEN POLİMORFİZMİNİN
İSKEMİK İNME RİSKİ ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr.Firdevs KUSERLİ

Ankara, 2009



T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİMDALI

**PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1 4G/5G GEN POLİMORFİZMİNİN
İSKEMİK İNME RİSKİ ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Firdevs KUSERLİ

Tez DanıŐmanı: Prof. Dr. Ü. Sibel BENLİ

Ankara, 2009

Bu tez alıŐması KA 08/29 no' lu proje olarak Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiŐtir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Turgut ZİLELİ' ye;

Engin bilgi birikimi ve mesleki tecrübelerinden çok faydalandığım, bizlere her zaman sevgi ve hoşgörüsüyle yaklaşan, projenin tasarlanmasında, yürütülmesinde ve yazılmasında her türlü yardım, destek ve bilgisini esirgemeyen, örnek aldığım değerli hocam Prof.Dr.Sibel BENLİ' ye;

Bizden yakınlığını asla esirgemeyen, her zaman desteğini gördüğüm, bilgi birikimi ve mesleki tecrübelerini keyifle bizlerle paylaşan, projenin tasarlanması aşamasında yardım gördüğüm, her yönüyle çok saygı duyduğum değerli hocam Prof.Dr.Ufuk CAN' a;

Projenin yürütülmesinde ve moleküler biyoloji konusunda, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Belgin ATAÇ' a;

Labaratuvar çalışmalarını titizlikle ve özveriyle yürüten Başkent Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında görevli sayın Uzman Biyolog Hasibe VERDİ' ye;

İstatistiksel değerlendirmedeki destek ve yardımlarından dolayı sayın Yrd.Doç.Dr.Ayşe Canan YAZICI' ya;

Psikiyatri rotasyonum sırasında hekim ve insan olarak bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ancak 24 Haziran 2008' de kaybettiğimiz saygıdeğer hocam Prof. Dr. Leyla ZİLELİ' ye ve onun adına, eşi, değerli hocam sayın Prof. Dr. Turgut ZİLELİ' ye;

Rotasyonum süresince gösterdiği yakınlık ve eğitimime bulunduğu katkıdan dolayı Gazi Üniversitesi Çocuk Nörolojisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ayşe SERDAROĞLU' na;

Yardım ve desteklerini benden esirgemeyen sayın Yrd.Doç.Dr.Münire KILINÇ, Uzm.Dr.Yıldız KAYA, asistanlığımın ilk yıllarında aramızda bulunan ancak sonraki dönemlerde de desteğini sürdüren Uzm.Dr.Gülşay ÇELİK' e;

Sevgili eşim, oğlum ve tüm aileme;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Firdevs KUSERLİ

ÖZET

İnme erişkin yaş grubunda mortalite ve uzun dönem sakatlığın önemli bir sebebidir. Akut inme tedavisindeki gelişmelere rağmen hala ağır sakatlığa yol açmaktadır ve tüm dünyada kalp hastalıkları ve kanserden sonra üçüncü sırada gelen ölüm sebebidir. İyi bilinen risk faktörlerine serebrovasküler olayların sadece üçte birinde rastlanılmaktadır. Genetik faktörler de vasküler hastalıkların etiyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Arteriyel trombus oluşumunun inme patogenezinde esas unsur olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle koagülasyon ve fibrinolitik sistem bozukluklarının bu süreçte önemli rol oynadığı düşünülebilir. Plazminojen aktivatör sistem bu iki sistem arasındaki dinamik dengede merkezi bir rol oynar. Plazminojen aktivatör sistem, doku-plazminojen aktivatör (t-PA) ve plazminojen aktivatör-1 (PAI-1)' i de içeren farklı protein ve enzimlerden oluşur.

Plazmin fibrinolitik sistem ve fibrin pıhtısının eritilmesinde esas enzimdir. Plazminin plazminojene dönüşümü t-PA tarafından katalize edilir ve PAI-1 ile inhibe edilir. Bu nedenle yüksek PAI-1 aktivitesi fibrinolitik sistem aktivitesinin düşmesine neden olur. Ayrıca yüksek PAI-1 aktivitesi ateroskleroz, tromboembolik hastalıklar ve inme ile de ilişkilidir. Plazma PAI-1 seviyelerini etkileyen -675 4G/5G insersiyon/delesyon polimorfizmi ve -844 G/A tek nükleotid polimorfizmi gibi çeşitli polimorfizmler tanımlanmıştır. Biz bu çalışmada PAI-1 4G/5G polimorfizminin inme riski üzerindeki etkisini araştırdık.

Vaka-kontrol çalışmamız Başkent Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yürütüldü. İnme, ani yerleşen ve 24 saatten uzun süren veya ölümle sonuçlanan vasküler nedenler dışında bir sebep saptanamayan, serebral fonksiyonlardaki fokal veya global bozulmalar şeklinde belirlendi. İskemik inme hastalarının tanısı klinik bulgulara dayanarak konuldu ve bilgisayarlı beyin tomografisi (BBT) ya da manyetik rezonans görüntülemesi (MRG) ile doğrulandı. 99 iskemik inme ve inme hikayesi olmayan, yaş uyumlu 97 kontrol hastası çalışmaya dahil edildi. PAI-1 genotipi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

kullanılarak belirlendi. 4G/5G polimorfizminin inme riskine katkısını belirlemeye yönelik, genotip dağılımını değerlendirdik. Büyük arter aterosklero­u (n=37), kk damar aterosklero­u (n=43) ve kardiyembolik inme (n=19) grupları kendi aralarında ve kontrol grubu ile genotip sıklığı açısından karşılaştırıldı. 4G/5G polimorfizminin dağılımı açısından hem bazal koşullardaki inme ve kontrol grubu arasında hem de inme alt grupları arasında bir fark saptamadık.

Bu sonuçlar 4G/5G polimorfizmi ile yüksek inme riski arasında bir ilişki olmadığını düşündürmektedir. İskemik inme patogenezi karmaşık ve multifaktöriyeldir. PAI-1 varyantları ancak belirli çevresel ve genetik faktörlerle birleştiğinde riski arttırıyor olabilir. Bununla beraber PAI-1 aktivitesinin belirlenmesi 4G/5G genotipinin değerlendirilmesinden daha anlamlı gibi görünmektedir. Gelecekte bu genotipin akut stres durumlarında iskemik inme riskine katkısı da araştırılmalıdır.

Anahtar sözcükler: İskemik inme, risk faktör, PAI-1 4G/5G polimorfizmi

SUMMARY

Stroke is a major cause of mortality and long-term disability in the adult population. Despite recent advances in acute stroke therapy, stroke remains the leading cause of severe disability and the third leading cause of death, after heart disease and cancer, in the world. The well-established risk factors account for only one third of cerebrovascular events. Genetic risk factors play an important role in the aetiology of vascular diseases. Arterial thrombus formation is believed to be an essential event in the pathogenesis of stroke. Therefore, it is conceivable that impairment of the coagulation or fibrinolytic system plays an important role in this process. The plasminogen activator system plays a central role in dynamic balance of between these two system. Plasminogen activator system comprises distinct proteins and enzymes, including tissue-type plasminogen activator (t-PA) and PAI-1. Plasmin is the major enzyme in the fibrinolytic system and lyses fibrin clots. The conversion of plasminogen to plasmin is catalyzed by t-PA and is inhibited by PAI-1. Therefore, a high plasma level of PAI-1 is associated with reduced fibrinolytic activity. Moreover, high PAI-1 activity is associated with atherosclerosis, thromboembolic disorders and stroke. Several polymorphisms within the PAI-1 gene have been described that influence PAI-1 levels, including the -675 4G/5G insertion-deletion mutation and the -844G/A single nucleotide polymorphism. We investigated the roles of the 4G/5G genotype of PAI-1 gene as risk factors of stroke in this study.

This case-control study was conducted in the Neurology Department of Ankara Training and Research Hospital, Başkent University. Stroke was defined as rapid development of clinical signs of focal or global disturbance of cerebral function, with symptoms lasting 24 hours or longer or leading to death, with no apparent cause other than vascular origin. Ischemic stroke was diagnosed according to clinical findings and was confirmed by computed tomography scan or magnetic resonance imaging. One hundred patients with ischemic stroke and 100 age matched control subjects who had no history of stroke were enrolled. PAI-1 genotype was determined with the use of polymerase chain reaction (PCR). To assess the effects of the 4G/5G polymorphism on stroke risk, we determined the

genotype distribution and then we compared the genotype frequencies in patients with large artery atherosclerosis (n=89), small artery atherosclerosis (n=88) and cardioembolic ischemic (n=19) stroke with those in control groups. We failed to demonstrate a significant association between the 4G/5G polymorphism and ischemic stroke under basal conditions and also ischemic stroke subtypes.

These results suggest that there is no significant association of the 4G/5G genotype of PAI-1 gene with a higher risk of stroke, although this genetic variant seems to be a useful marker of fibrinolytic activity and thrombogenic predisposition. The pathogenesis of ischemic stroke is multifactorial and complex. We speculate that PAI variants affect risk only in concert with other specific environmental and genetic factors. Otherwise, the determination of plasminogen activator inhibitor type-1 function seems to have much more clinical importance than the determination of the 4G/5G polymorphism. In the future, the effect of this genotype on the risk of ischemic stroke under stressful conditions, should also be investigated.

Key words:ischemic stroke, risk factor, PAI-1 4G/5G polymorphism

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİL VE TABLOLAR DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.İSKEMİK İNME.....	3
2.1.1.İnmenin Tanımı.....	3
2.1.2.Epidemiyoloji.....	3
2.1.3.Risk Faktörleri.....	4
2.1.4.Kalıtım ve İnme.....	9
2.2.İSKEMİK İNMEDE ETİYOLOJİK SINIFLAMA.....	10
2.2.1.Büyük Arter Aterotrombotik Enfarktları.....	11
2.2.2.Küçük Damar veya Penetran Arter Hastalığı.....	11
2.2.3.Kardiyoembolik Enfarkt.....	12
2.2.4.Nedeni Belirlenemeyen İskemik İnmeler.....	14
2.2.5.Diğer Tanımlanmış Nedenlere Bağlı İskemik İnmeler.....	14
2.3.FİBRİNOLİTİK SİSTEM.....	14
2.3.1.Fibrinolitik Sistemin Temel Bileşenleri.....	16
2.3.1.1.Plazminojen.....	17
2.3.1.2.Plazminojen Aktivatörleri.....	19
2.3.1.2a.Doku Tipi Plazminojen Aktivatör.....	19
2.3.1.2b.Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatör.....	21
2.3.1.3.Plazminojen Aktivatör İnhibitörleri.....	23
2.4.PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1.....	23
2.4.1.Fibrinolitik sistem ve PAI-1' in Rolü.....	25
2.4.2.PAI-1 Plazma Seviyelerinin Belirleyicileri.....	26

2.4.2.1.Genetik Faktörler.....	26
2.4.2.2.İnsülin Direnci Sendromu, Diabetes Mellitus ve Metabolik Faktörler.....	26
2.4.2.3.PAI-1 Plazma Seviyeleri Üzerine Östrojenin Etkileri.....	28
2.4.2.4.PAI-1 Kaynağı Olarak Adipoz Doku.....	28
2.4.2.5.PAI-1ve Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi ile Kontrolü.....	29
2.4.2.6.PAI-1 Seviyelerinin Diğer Belirteçleri.....	29
2.5.TROMBOTİK HASTALIKLARDA PAI-1' İN ROLÜ.....	30
2.5.1.Venöz Tromboembolizm.....	30
2.5.2.Arteriyel Tromboembolizm.....	31
2.6.PAI-1 GEN ÖZELLİKLERİ.....	32
3.HASTALAR VE YÖNTEM.....	35
3.1.PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Saptanması.....	36
3.1.1.Gereçler.....	36
3.1.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	36
3.1.1.2.Tampon ve Çözeltiler.....	37
3.1.1.3.Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	38
3.1.2.Yöntemler.....	38
3.1.2.1.Genomik DNA izolasyonu.....	38
3.1.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve PAI- 1 4G/5G Genotipinin Belirlenmesi.....	39
3.2.İstatistik.....	39
4.BULGULAR.....	41
5.TARTIŞMA.....	50
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
7.KAYNAKLAR.....	62

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AF	: Atrial Fibrilasyon
Arg	: Arginin
Asp	: Aspartik Asit
BBT	: Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
DM	: Diabetes Mellitus
DVT	: Derin Ven Trombozu
EGF	: Endotelyal Büyüme Faktörü
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GİA	: Geçici İskemik Atak
Glu	: Glutamik Asit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
His	: Histidin
HOLTER	: 24 saatlik Elektrokardiyografi Görüntüleme
HT	: Hipertansiyon
ICAM	: Interselüler Adhezyon Molekülü
IL-1	: Interlökin-1
Ile	: İzolösin
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KKY	: Konjestif Kalp Yetmezliği
LDL	: Düşük Molekül Ağırlıklı Lipoprotein
Lys	: Lizin
Met	: Metionin
MI	: Miyokart Enfarktüsü
MMP	: Matriks Metallo Proteinazlar
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTHFR	: Metilen Tetrahidro Folat Redüktaz
NVAF	: Nonvalvüler Atrial Fibrilasyon
PAI	: Plazminojen Aktivatör İnhibitör
PAI-CRS	: Plazminojen Aktivatör İnhibitör cAMP “responsive sequence”

PHT	: Pulmoner Hipertansiyon
PKC	: Protein Kinaz C
PTE	: Pulmoner Tromboemboli
RAAS	: Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi
RLP-C	: Trigliserid Zengin Lipoprotein C
scu-PA	: Tek Zincir Ürokinaz Plazminojen Aktivatör
Ser	: Serin
TGF- β	: “Transforming Growth Factor- β ”
TNF- α	: “Tumor Necrosis Factor- α ”
TOAST	: “Trial Of Org 10172 in Acute Stroke Treatment”
tcu-PA	: İki zincir Ürokinaz Plazminojen Aktivatör
t-PA	: Doku Plazminojen Aktivatör
u-PA	: Ürokinaz Plazminojen Aktivatör
USG	: Ultrasonografi
Val	: Valin
VCAM	: Vasküler Selüler Adhezyon Molekülü
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
VLDL	: Çok Düşük Molekül Ağırlıklı Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİL VE TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa no:

Tablo no:

2.1	Fibrinolitik Sistem Temel Bileşenleri.....	17
2.2	PAI-1 Gen Polimorfizimleri.....	34
4.1	Hasta ve Kontrol Grubunda Cinsiyet Dağılımı.....	41
4.2	Hasta ve Kontrol Gruplarının yaş ve VKİ Ortalaması.....	42
4.3	Hasta ve Kontrol Grubunun Vasküler Risk Faktörleri Açısından Karşılaştırılması.....	43
4.4	Risk Oranları.....	43
4.5	İskemik İnme Grubunda Vasküler Risk Faktörlerinin Dağılımı.....	44
4.6	İskemik İnme Alt Grupları.....	45
4.7	İskemik İnme Alt Gruplarında Vasküler Risk Faktörlerinin Dağılımı.....	45
4.8	PAI-1 Genotiplerinin Gruplara Göre Dağılımı.....	46
4.9	PAI-1 Genotiplerinin Cinsiyete Göre Dağılımı.....	47
4.10	PAI-1 Genotiplerinin Vasküler Risk Faktörleri Açısından Karşılaştırılması.....	48

Sekil no:

2.1	Koagülasyon Sistemi.....	15
2.2	Fibrinolitik Sistem.....	16
2.3	Plazminojenin Şematik Yapısı.....	18
2.4	t-PA' nın Şematik Yapısı.....	20
2.5	u-PA' nın Şematik Yapısı.....	21

1.GİRİŞ

İnme, dünyada morbiditenin en sık, mortalitenin ise ikinci en sık nedenidir. İnme ayrıca erişkinlerde önemli bir sakatlık nedenidir. Büyük ölçüde insan gücü kaybına sebep olmasının yanısıra tedavi ve rehabilitasyon maliyetleri de çok yüksektir. İnme risk faktörlerinin belirlenerek daha etkili koruyucu tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ile inme sıklığının azaltılması mümkün görünmektedir (1).

İskemik inme etiolojisinde arteriyel tromboz ve ateroskleroz önemli bir yer tutar. Bunun yanında belirgin bir ateroskloz zemini olmaksızın gelişen tromboembolizm ve kardiyak kökenli emboliler de inme etiolojisinde sıklıkla yer alabilmektedir (2). Arteriyel trombotik hastalıkların patogenezi karmaşıktır ve çok sayıda genetik ve çevresel faktör ve bunların karşılıklı etkileşimi ile belirlenir. Günümüzde arteriyel trombotik hastalıkların koruyucu tedavisi, büyük çoğunluğu çevresel olan klasik vasküler risk faktörlerinin düzenlenmesine dayanmaktadır. Buna karşılık trombotik olayların yaklaşık yarısı bu risk faktörleri olmaksızın ortaya çıkmaktadır (3). Epidemiyolojik araştırmalar inme riskinin ve sıklığının belirlenmesinde bu faktörlerin yetersiz olduğunu göstermektedir. Bununla beraber kalıtsal faktörlerin de iskemik inme gelişimindeki katkısının önemli olduğunu düşündüren çalışmalar hızla artmaktadır (4).

İnsan genomunun açıklanmaya başlandığı bu dönemde araştırmacılar trombozun ve arteriyel tromboz oluşumuna yol açan aterosklerozun moleküler genetiğini anlamaya odaklanmıştır. Böylelikle spesifik genlerin hastalık riskine katkısının tanımlanması amaçlanmaktadır (5).

Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1), fibrinolitik kaskadı sınırlayıcı önemli bir moleküldür. Koroner arter hastalığı (KAH), arteriyel serebral iskemiler ve periferik arter hastalıkları (PAH) gibi arteriyel hastalıklar ve derin ven trombozu (DVT), pulmoner tromboemboli (PTE) gibi tromboembolik venöz hastalıklarda etkili olduğu düşünülen iyi tanımlanmış bir faktördür (6).

PAI-1 plazma seviyeleri büyük oranda genetik olarak belirlenmektedir (7). Son dönemde PAI-1 geninin promotor bölgesindeki polimorfizmlerin keşfedilmesi tromboz için risk faktörü olarak PAI-1' e olan ilginin artmasına sebep olmuştur.

PAI-1 geni çeşitli polimorfik lokuslara sahiptir. Promotorun 675. pozisyonuna lokalize 4G/5G insersiyon/delesyon polimorfizmi en çok çalışılan PAI-1 genetik varyantıdır. Birkaç vaka-kontrol çalışması ile 4G allel taşıyıcılarında miyokart enfarktüsü (MI), KAH ve iskemik inme riskinin artmış olduğu gösterilmiş ancak bu bulgu henüz kanıtlanamamıştır (8).

İskemik inmeli hastalar ile benzer vasküler risk faktörü taşıyan fakat iskemik inme öyküsü bulunmayan kontrol grubunu karşılaştırdığımız bu çalışmada, PAI-1 4G/5G polimorfizminin iskemik inme riski üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.İSKEMİK İNME

2.1.1.İnmenin Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından inme, “24 saatten uzun süren ya da ölümlü sonuçlanan, vasküler nedenler dışında gösterilebilir başka bir nedeni olmayan, serebral fonksiyonların bazen fokal bazen de global olarak, hızlı bir şekilde kaybı” olarak tanımlanır (9, 10). Öte yandan eğer semptomlar 24 saatten daha uzun sürüyorsa, klinik olarak inme, 24 saatten daha kısa bir sürede tamamen düzeliyorsa klinik olarak geçici iskemik atak (GİA) olarak kabul edilir (11). WHO'nun tanımına göre, serebral enfarkt, primer intraserebral kanama, intraventriküler kanama ve subaraknoid kanamaların çoğu inme kapsamına girmektedir. Subdural veya epidural kanamalar, enfeksiyon, tümör gibi nedenlere bağlı enfarkt ve/veya kanamalar ve GİA ise inme kapsamına dahil edilmemiştir (12).

Daha genel bir tanımlamayla inme terimi, spesifik olarak serebrovasküler hastalığa bağlı olarak gelişen, ani yerleşimli, fokal nörolojik bir sendromu ifade etmektedir. Serebrovasküler hastalık terimi ise, kan damarlarını ilgilendiren patolojik bir süreç sonucu beyinde oluşan tüm bozuklukları içermektedir. Patolojik sürecin geniş bir anlamı olup, lümenin emboli veya trombüsle tıkanması, bir damarın yırtılması, damar duvarının geçirgenliğinin değişmesi, beyin damarları içinde dolaşan kanın viskozitesinin veya başka özelliklerinin değişmesi gibi durumları kapsar (13).

2.1.2.Epidemiyoloji

İnme, gelişmiş ülkelerde KAH ve kanserlerin ardından gelen üçüncü sıklıkta ölüm nedenidir. Ülkemizde inme sıklığı ve prevalansına dair sağlıklı veriler bulunmamaktadır. Bu nedenle, bugün için epidemiyolojik bilgilerimiz daha çok batı kaynaklarına dayanmaktadır. Ortalama olarak yılda her 1000 kişide iki yeni inme meydana gelmekte ve yaşlı popülasyonda (45-84 yaş) bu oran binde dörde çıkmaktadır (1). Erkeklerde inme insidansı kadınlara oranla genç yaşlarda daha yüksek iken, yaş ilerledikçe bu fark kaybolmaktadır (14). Bir çok yaş grubu için,

erkeklerde inme riski kadınlara göre daha yüksek olmakla beraber, toplam inme sayısı kadınlarda daha yüksektir (15). Bu durum kadınlarda yaşam süresinin daha uzun olmasıyla açıklanmaktadır.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre yaş, ırk ve cins açısından dünyanın değişik ülkelerinde değişik inme oran ve tipleri görülmektedir. Sosyoekonomik faktörler, diyet ve yaşam şekli, çeşitli risk faktörleri ve çevresel koşullar yanında genetik faktörler de, dünyanın farklı bölgelerindeki bu farklı inme insidansını açıklayabilir.

2.1.3.Risk Faktörleri

İnme için risk faktörlerinin belirlenmesi, her bir faktörün rölatif öneminin ve bu faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimlerinin bilinmesi, inmeyi önleyici tedavilerin geliştirilebilmesi için önemlidir.

İnme risk faktörleri; risk faktörünün değiştirilebilirliği ve inme ile ilişkisinin bilimsel keskinliği dikkate alınarak sınıflandırılabilir (11).

Değiştirilemeyen, kesin risk faktörlerinden en önemlisi yaştır. 55 yaşından sonraki her dekada inme riski iki kat artmaktadır. Erkeklerde inme daha sıktır, ancak inme ile ilişkili ölüm vakaları kadınlarda daha çoktur (16). Siyah ırkta, Çinlilerde ve Japonlarda inme sıklığı beyaz ırka göre daha yüksektir (17). Kalıtsal/ailesel özellikler ile inme riski arasındaki ilişki ise son dönemde giderek artan oranda ilgi görmektedir.

Değiştirilebilir kesin risk faktörleri inme riskinde artışa sebep olduğu ispatlanmış ancak modifiye edilebilir nedenleri kapsamaktadır. Bu faktörler içinde en sık karşımıza çıkan hipertansiyon (HT), tüm yaş grupları ve tüm inme tipleri için en önemli risk faktörüdür. Sistolik kan basıncının 160 mmHg ve/veya diastolik kan basıncının 95 mmHg' nın üstünde olması HT olarak tanımlandığında, inme için rölatif risk 4 kat artmaktadır (18).

Diabetes Mellitus (DM) ateroskleroz gelişmesi açısından önemli bir risk faktörüdür. Tip II DM' li hastalarda %80' e varan oranlarda küçük damar hastalığı gelişmektedir. Bu hastalarda insülin direncinden dolayı plazma insülin düzeyi artmıştır ve bu durum ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. Diyabetli hastalarda görülen trigliserid yüksekliğinin ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düşüklüğünün de ateroskleroz gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (19).

Kalp hastalıkları iskemik inme için önemli bir risk yaratmaktadır. Valvüler veya iskemik kardiyak hastalık ilişkili atriyal fibrilasyon (AF) yanı sıra, non-valvüler atriyal fibrilasyonlu (NVAf) hastalarda da inme riski artmaktadır. Yaş ve cinsiyet uyumlu, AF' si olmayan bireylerle karşılaştırıldığında, NVAf' lu bireylerin de inme açısından 6 kat, mortalite açısından da 2 kat daha riskli oldukları hesaplanmıştır (20). Yaşla beraber AF prevalansı da artış göstermektedir. Yakın zamanda gelişen konjestif kalp yetmezliği (KKY) ve arteriyel HT, NVAf hastalarında emboli gelişme riskini arttırmaktadır (20, 21). Yine KKY tek başına özellikle yaşlı bireylerde artmış inme riski ile birlikte (22).

Sol atriyal dilatasyon ise erkeklerde inme riskine katkıda bulunan bir faktördür. Benzer şekilde elektrokardiyografide (EKG) saptanan sol ventrikül hipertrofisi de, KAH' ı olan erkeklerde inme için risk oluşturmaktadır (23).

Akut MI sonrası iki haftalık periyod içinde inme görülme oranının %0,7-4,7 arasında olduğu tahmin edilmektedir. MI sonrası bozulmuş ventriküler fonksiyonun ve ilerlemiş yaşın inme riskini arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca MI, kardiyojenik embolinin sık görülen nedenlerinden biri olan AF gelişimini de tetikleyebilmektedir (20, 24).

İnme riskini arttıran diğer kardiyak durumlar arasında; protez kapak, mitral kapak prolapsusu ve endokardit gibi kapak hastalıkları, patent foramen ovale, atriyal septal defekt ve atriyal septal anevrizma gibi konjenital intrakardiyak defektler ve dilate kardiyomyopati yer almaktadır (21). Ailesel atriyal miksomalar, herediter kardiyomyopatiler ve herediter kardiyak iletim hastalıkları da kalıtsal kardiyak hastalık örnekleri olup inmeye neden olabilirler (26).

Asemptomatik karotis stenozu inmenin sık görülen nedenlerinden biridir. Asemptomatik %50-99 karotis darlığı olan kişilerde yıllık inme riski %1 ile %3.4 arasında değişmektedir. Özellikle hızlı progresyon gösteren darlıklarda bu risk stabil darlıklara göre daha yüksektir. %75' in altındaki darlıklarda yıllık inme riski, %1.3 iken, % 75' in üstündeki darlıklarda %3.3' tür (25).

GİA öyküsü inme riskini yaklaşık 3 kat arttırmaktadır ve inme geçiren hastaların yaklaşık %10-15' inde GİA öyküsü bulunur (26).

Sigara inme için güçlü bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Diğer risk faktörlerinin de eklenmesiyle sigara kullanımı iskemik inme riskini 2 kat, hemorajik inme riskini 2-4 kat arttırmaktadır (21). Ayrıca sigaranın diğer inme risk faktörlerinin etkilerini arttırdığı bilinmektedir.

Orak Hücreli anemiye bağlı inme ise modifiye edilebilir, yaşam tarzına bağlı olmayan bir risk faktörüdür. Bu hastalarda serebrovasküler hastalık major morbidite ve mortalite sebebidir (26).

Potansiyel risk faktörleri arasında yer alan hiperlipidemi ile KAH arasındaki ilişki net olarak ortaya konmakla birlikte inme, özellikle de embolik olmayan iskemik inme ile arasında benzer kesinlikte bir bağ kurulamamıştır. 45 prospektif epidemiyolojik çalışmanın meta-analizi sonucunda, total kolesterol ile inme riski arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (27). Honolulu Heart Program çalışmasında ise kolesterol seviyesindeki artışın, hem KAH hem de tromboembolik inme riskini arttırdığı gösterilmiştir (28). HDL ile inme arasındaki olası ilişkiyi inceleyen 18 çalışmanın meta-analizinde, sekiz çalışmada HDL ile inme riski arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmış ve bu çalışmaların beşinde HDL'de her 10 mg/dl artışta inme riskinin %11-15 azaldığı belirtilmiştir (29).

Dislipidemi ile inme ilişkisi net olarak ortaya konulamamış olsa da, serum total kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerinin ekstrakraniyal karotid arter ateroskleroza derecesi ile direkt ilişkili olduğu gösterilmiştir. HDL kolesterolün burada da koruyucu etkisi söz konusudur. Statin tedavisine bağlı

olarak da karotid arter plak progresyonunun azaldığı ya da regresyonun arttığı saptanmıştır (19).

Madde kullanımına bağlı olarak madde tipiyle de ilişkili olmak üzere her tip inme görülebilmektedir (30).

Alkol kullanımı tüketilen miktarla ilişkili olarak inme riskini arttırmaktadır. Fazla alkol tüketiminin inmeyi ve inme kaynaklı ölüm riskini arttırdığı, düşük alkol kullanımının ise bu riski azalttığı düşünülmektedir (21).

Obesite, tanım olarak, vücut kitle indeksinin (VKİ) (kg/metre^2) ≥ 30 olmasıdır. Özellikle kardiyovasküler hastalık ve inme ile ilişkili olan tipi abdominal obesitedir. Bel/kalça oranının yüksek olduğu kadın ve erkek hastalarda, özellikle iskemik inme riskinin arttığı düşünülmektedir (31). Yine fiziksel aktivite ve diyet ile iskemik inme arasında bir ilişki bulunduğu düşünülmektedir (19). Orta dereceli fiziksel aktivite ve diyetle tahıl, sebze, meyve ve balık tüketiminin koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Ancak C, E vitamini ve beta karoten düzeyleri ile inme arasındaki ilişkiye dair veriler tutarsızdır (19).

Oral kontraseptiflerin, özellikle daha yüksek oranda estradiol içeren ilk jenerasyon ilaçların inme riskini arttırdığı bildirilmiştir. Bu risk 35 yaş üstündeki ve özellikle de diğer kardiyovasküler risk faktörlerine sahip, hipertansiyonu olan ve sigara içen kadınlarda daha belirgindir. Oral kontraseptif kullanan kadınlarda ortaya çıkan serebral enfarktüsün, aterosklerozdan çok trombotik hastalığa bağlı olması daha büyük bir olasılıktır (19). Hormon replasman tedavisinin ise, laboratuvar ve gözlemsel çalışmalar sonrasında kardiyovasküler hastalıklar açısından koruyucu ve inme şiddetini azaltıcı etkisi olduğu ileri sürülmüş olsa da randomize çalışmalar aksini göstermektedir (21).

Homosistein yüksekliği, hem genetik hem de çevresel faktörlerin kontrolü altındadır. Hiperhomosisteinemi olan bazı bireylerde sistasyonin β sentetaz enziminde defekt saptanmıştır. Sistasyonin β sentetaz enzim defekti için homozigot olan kişilerin yarısında, genç yaşta venöz tromboz ya da prematür ateroskleroza bağlı ölümler görülmektedir. Heterozigot bireyler için de prematür ateroskleroz riski

söz konusudur. Bunun yanısıra vitamin B12, folik asit ve vitamin B6' nın çevresel eksikliği homosistein metabolizmasını etkileyerek dolaşımda serum homosistein seviyesini yükseltir. Bu vitaminlerin replasmanı ile homosistein seviyelerini düşürmek mümkündür. Hiperhomosisteineminin inme riskine katkısı büyük olmasa da çok sık görülmesi ve kolaylıkla tedavi edilebilmesi nedeniyle önemlidir (32).

İnflamasyon ve enfeksiyon; iskemik inmenin önemli bir nedeni olan aterosklerozun patogeneğinde rol oynar. İnflamasyon süreci ve iskemik olaylar arasında ilişki vardır. Aterosklerozun belirgin olduğu bölgelerde ve aterom plağının gelişimi süresince çeşitli uyarılar karşısında endotel hücrelerinden; P- selektin, E- selektin, interselüler adezyon molekülü (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1) eksprese olur. Bunlar lökosit adezyonunu başlatırlar. Monositler ve T hücreleri bu adezyon moleküllerine bağlanarak damar hasarını arttıracak sitokinleri ve proteolitik enzimleri salgırlar. Sonuçta aterosklerotik plağın fibröz kapsülünde yıkım meydana gelir ve plak rüptürü gerçekleşir. Bu nedenle akut inflamatuvar yanıtların plak destabilizasyonuna yol açtığı düşünülmektedir (32, 33).

Migrenin genç yaş grubunda iskemik inmeye yatkınlık oluşturduğu düşünülmektedir. Özellikle auralı migren ve nörolojik bulguların eşlik ettiği migrenin ardından inme gelişme olasılığı en yüksek düzeydedir (19, 21).

Olası yeni risk faktörleri sıklıkla son dönem araştırmaların odağını oluşturmaktadır. Hematolojik hastalıkların birçoğunda iskemik inmeye yatkınlık vardır bu nedenle bazı hematolojik hastalıklar ve koagülasyon defektleri inme için potansiyel risk faktörü olarak görülmektedir. Birçok herediter veya kazanılmış hiperkoagülabiliteye neden olabilecek hastalığın venöz trombozla ilişkisi bilinmektedir. Antifosfolipid antikor sendromunun özellikle genç kadınlarda arteriyel trombozla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (21). Diğer herediter hiperkoagülopatiyeye neden olan hastalıklarla inme arasında ise net bir ilişki gösterilememiştir (34). İnme ile ilişkisi olduğu düşünülen koagülasyon bozuklukları ve diğer hematolojik hastalıklar arasında Protein C, Protein S ve Antitrombin III eksiklikleri, esansiyel trombositoz, polisitemia vera, antikardiyolipin antikor pozitifliği sayılabilir. Hiperkoagülabiliteye yol açan trombofililerden olan Protein C

ve Protein S ile Antitrombin III eksiklikleri, Faktör V Leiden mutasyonu, aktive Protein C rezistansı ve protrombin 20210 mutasyonunun venöz trombozlarla ilişkisi gösterilmişse de serebral arteriyel enfarktlarla ilişkisi net olarak kanıtlanamamıştır (34).

Yüksek doku plazminojen aktivatörü, fibrin D-dimer, von Willebrand faktör ve faktör VIIIc' nin inme risk faktörü olduğuna ilişkin bazı çalışmalar bulunmakla birlikte, bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (21).

Yüksek hematokrit ve hemoglobin düzeyleri ve artmış kan viskozitesi, artmış inme riskiyle ilişkili olabilir. Serum fibrinojen düzeyinin yüksekliği serebral enfarkt gelişmesinde bağımsız risk faktörüdür. Serum fibrinojen düzeyindeki yükseklik ateroskleroze ilerlediğinin göstergesi olabilir (25).

Yine Lipoprotein(a), kardiyovasküler hastalıklarda aterosklerotik süreçteki rolü gösterilmiş olası yeni risk faktörlerinden biridir. Artmış KAH riski ile ilişkisi gösterilen Lipoprotein (a)' nın inme için de risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (32).

2.1.4.Kalıtım ve İnme

Serebral enfarkt patogenezinde kalıtımın küçük bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Ancak birinci derece akrabalarında inme öyküsü bulunan kişilerde inme riskinde artış olduğu gözlenmektedir. Framingham' da ailesel inme eğilimi ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada hem maternal hem de paternal inme diğer risk faktörlerinin hesaba katılmasından sonra bile yaklaşık olarak 1.5 kat artmış risk ile ilişkili bulunmuştur (35). Bu artmış risk; inme risk faktörlerinin genetik geçişi, aynı çevresel ve kültürel etkilere maruziyet, yaşam tarzı, genetik ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim gibi çeşitli mekanizmalarla ilişkili olabilir.

İkizlerle yapılan çalışmalar, inmenin ailesel geçişini desteklemektedir. İnme prevalansı dizigotik ikizlerle karşılaştırıldığında, monozigot ikizlerde yaklaşık 5 kat artmıştır (36).

2.2.İSKEMİK İNMEDE ETİYOLOJİK SINIFLAMA

İskemik inme beyinde herhangi bir bölgenin serebral kan akımının engellenmesi sonucunda meydana gelir. İskemik inmeler tüm inmelerin yaklaşık %80-88' inden sorumludur. Serebral enfarktlarda etiyojolojiye göre sınıflandırma akut iskemik inmenin tedavisinin, prognozunu ve ikincil koruma stratejilerinin belirlenmesi açısından önemlidir. Ancak klinik ve nöroradyolojik bulguların bazı iskemik inme alt gruplarında benzerlik göstermesi ve mikst sendromların sıklıkla bir arada olması nedeniyle katı bir etiyojolojik sınıflandırma yapılması güçtür. Günümüzde iyi kabul görmüş ve en yaygın kullanılan sınıflandırma 1993 yılında yayınlanan TOAST "Trial Of Org 10172 in Acute Stroke Treatment" sınıflamasıdır. TOAST sınıflaması klinik verilerin yanısıra etiyojolojiye de yer verir ve 5 kategori içerir (37).

İskemik İnme Altıpları (TOAST, 1993) (37)

1. Büyük damar hastalığı (tromboz veya emboli)
2. Küçük damar hastalığı
3. Kardiyoembolizm
4. Belirlenebilen diğer etiyojolojiler
5. Etiyojisi belirlenemeyen inme
 - a. İki veya daha fazla neden
 - b. Negatif değerlendirme
 - c. Tamamlanamayan değerlendirme

İskemik inmesi olan hastalar başvuruda elde edilen muayene bulguları, EKG ve ekokardiyografi (EKO) gibi kardiyolojik testler, kan sayımı, ekstrakraniyal arterlere yönelik doppler ultrasonografik (USG) görüntüleme bulguları ve nöroradyolojik bulgularla bu gruplardan birine dahil edilebilir.

2.2.1. Büyük Arter Aterotrombotik Enfarktları

Bu tip enfarktlar hemen her zaman serebrovasküler ateroskleroz için belirgin risk faktörlerine sahip olan hastalarda meydana gelir.

Büyük arter aterotrombotik enfarktlarının mekanizması plak ülserasyonu sonucu damardan damara embolizasyon veya arteriyel stenozdan önce meydana gelen trombozdur. Arterden artere emboli serebral enfarktların en sık nedenidir. Ana serebral arterlerin proksimalindeki ateromatöz lezyondan kopan emboli daha distaldeki dallardan birini tıkayarak enfarkta neden olmaktadır. Emboli, ekstrakraniyal arterler, ana serebral arterler, vertebral veya baziller arterden kaynaklanabilir.

Bu tip enfarktları klinik olarak diğer tiplerden ayırt etmek oldukça güçtür. TOAST sınıflamasına göre hastalarda klinik ya da görüntüleme yöntemleriyle ana serebral arterlerde veya bunların kortikal dallarında %50' den fazla darlığın bulunduğu vakalar büyük arter aterosklerozu olarak sınıflandırılmıştır. Hastada kortikal ya da beyin sapı ve serebellar fonksiyon bozukluklarına ait klinik bulgular olmalıdır. Aynı sahada GİA öyküsü, karotis üfürümü, azalmış pulzasyon olması klinik olarak tanıyı destekler. Ayrıca Bilgisayarlı Beyin Tomografisi (BBT) veya Beyin Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)' de kortikal ya da serebellar lezyon, beyin sapı ya da subkortikal lezyonun 1.5 cm' den daha büyük olması büyük arter aterotrombozuna işaret eder. Doppler ya da arteriyografi ile uygun damarda ekstrakraniyal veya intrakraniyal olarak %50' den fazla darlığın gösterilmesi tanıyı destekler. Buna karşılık minimal darlık varlığında ya da darlık olmaması halinde büyük arter aterosklerozuna bağlı inme tanısı konulmamalıdır. Ayrıca diğer tanısall çalışmalarla kardiyak kaynaklı embolizm dışlanmalıdır.

2.2.2.Küçük Damar veya Penetran Arter Hastalığı

Bu tip enfarktlar genellikle uzun süreli arteriyel HT' si, sigara içimi ve DM' si olan hastalarda meydana gelirler ve tüm iskemik inmelerin yaklaşık %20' lik bir kısmını oluştururlar. Bu tip enfarktlar penetran arterlerin tıkanıklığına bağlı gelişen küçük iskemik lezyonlardır. "Laküner enfarklar" olarak da adlandırılırlar ve "lakün" terimi enfarktılı dokunun makrofajlar tarafından ortadan kaldırılmasından sonra geriye kalan küçük boşluğu tanımlar.

Laküner enfarktlar beynin derin bölgelerine ve beyin sapına lokalize olabilirler. En sık tutulan bölgeler basis pontis, internal kapsül arka bacağı ve kaudat nukleustur.

Enfarkt boyutları genellikle 0.2 mm³ ve 15 mm³ arasında değişir. Fischer' in tanımına göre 3-4 mm' den 1.5-2 cm' e kadar değişen genişlikte olmalıdırlar. 1.5-2 cm arasındaki lakünler dev lakün olarak adlandırılırlar.

Çok sayıda lakün varlığı genellikle arteriyel HT ve DM ile ilişkilidir. Arteriyel HT' a bağlı olarak serebral küçük penetran arterlerde arteriolar hasar ortaya çıkar. Bu yapısal değişiklikler fibrinoid anjiyopati, lipohyalinozis ve mikroanevrizma formasyonu ile karakterizedir. Bunun dışındaki vakalarda penetran arter ostium mikroateromu, arteriyel veya kardiyak embolizm veya hemorajik değişiklikler patofizyolojik neden olarak bulunmaktadır. Arteriyel HT' si ve DM' si olup laküner sendromu olan bir hastada sadece bu ilişkinin bulunması laküner enfarkt tanısı koymaya yeterli değildir.

TOAST sınıflamasına göre bu kategorideki hastalarda klinik olarak klasik laküner sendromlardan biri olmalı ve serebral kortikal disfonksiyon görülmemelidir. Hastalarda HT veya DM olmalıdır. BBT veya MRG' de 1.5 cm' den küçük lakün görülmelidir. Ayrıca potansiyel kardiyak emboli kaynağı veya büyük arterlerde %50' den fazla darlık olmamalıdır.

2.2.3.Kardiyoembolik Enfarkt

Kardiyoembolik inmeler önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Tüm iskemik inmelerin yaklaşık %15-20' si kardiyak kaynaklı emboli nedeniyledir. Kardiyak inmeler genellikle daha ağır bir klinik seyire sahiptir. Diğer inme alt tiplerine göre uzun dönem rekürrens ve mortalite oranı daha yüksektir.

Kardiyak emboli trombosit, fibrin, trombosit-fibrin, kalsiyum, mikroorganizmalar veya neoplastik fragmanlardan oluşabilir. Yaşlı bireylerde serebral embolilerin en sık nedeni AF olup kardiyak kaynaklı embolilerin yarısı ile üçte ikisinde etyolojik sebeptir. Diğer yüksek oranda embolik potansiyeli olan kardiyak durumlar akut MI, enfektif endokardit, romatizmal mitral stenoz, mekanik prostetik kalp kapakları, dilate kardiomyopati ve kardiyak tümörlerdir. Düşük ve kesin olmayan embolik risk faktörleri mitral kapak prolapsusu, mitral anulus kalsifikasyonu, aort kapak kalsifikasyonu, kalsifik aort stenozu, sessiz MI, sol ventriküler anevrizma,

hipertrofik kardiyomiyopati, patent foramen ovale, atriyal septal anevrizma, valvüler “strand” (ipliksi, filamantöz yapı) ve Chiari ağrını içerir.

Kardiyoembolik serebral enfarktlar genellikle büyük, çok sayıda, bilateral ve kama şeklindedir. Başlangıçta bilincin giderek bozulması, semptomların hızlı regresyonu (“spectacular shrinking syndrome”), maksimum defisit aniden ortaya çıkması (<5dk), farklı damar sahalarının eş zamanlı veya sıralı olarak etkilenmesi, hemorajik transformasyon gözlenmesi ve etkilenen oklüde damarın erken rekanalizasyonu gibi özellikler kardiyak orjinli embolilere işaret eder. Wernicke afazisi ya da hemiparezi olmaksızın global afazi kardiyoembolinin sık karşılaşılan sekonder semptomlarıdır. Kardiyoemboli posterior dolaşımda Wallenberg sendromu, serebellar enfarktlar, baziller tepe sendromu ya da posterior serebral arter enfarktlarına neden olabilir.

Potansiyel embolik kardiyak kaynağın tek başına saptanması beyin enfarktını kardiyoembolik olarak değerlendirmek için yeterli değildir. Çünkü; (1)birçok kardiyak problem serebrovasküler ateroskleroz ile birlikte bulunabilir, (2)kardiyak aritmiler parietoinsular veya beyinsapı enfarktlarına bağlı aritmojenik lezyonlar sonucunda oluşabilir, (3)BBT görüntüsüne bağlı kardiyoembolik veya aterosklerotik nedenlere bağlı serebral enfarkt tespiti her zaman güvenilir değildir ve (4)kontrol gruplarında da EKO’ da kardiyak değişiklikler yaygın olarak saptanır.

TOAST sınıflamasında kardiyak emboli nedenleri yüksek riskli ve orta riskli diye iki gruba ayrılmıştır. Bu sınıflamaya göre bu kategorideki hastalarda en az bir kardiyak muhtemel neden saptanmalıdır. Bir vasküler sahadan daha fazla yerde geçirilmiş inme veya GİA ya da sistemik embolizm kardiyoembolik inmeyi destekler. Potansiyel büyük arter aterosklerozu ya da embolisi ekarte edilmelidir. Orta riskli hasta grubunda inme için başka risk faktörü saptanamazsa muhtemel kardiyolojik inme olarak sınıflandırılmalıdır.

2.2.4.Nedeni Belirlenemeyen İskemik İnmeler (Kriptojenik enfarktlar)

Yapılan tüm tanısal çalışmalara rağmen bazen enfarktın kaynağı belirlenemeyebilir. Bunun temel nedenlerinden biri uygun laboratuvar çalışmasının ya yapılmamış ya da uygun zamanda gerçekleştirilmemiş olmasıdır. Kriptojenik enfarktların yaklaşık %40' ı laküner enfarkt kategorisindedir.

Nedeni belirlenemeyen iskemik inme şeklinde sınıflanan vakalar kardiyak emboli ve geniş arter trombusüne yol açacak risk faktörü veya hastalık öyküsüne sahip değildirler. Son dönemde kriptojenik enfarkt vakalarının hiperkoagülabilité durumlarına neden olan hematolojik bozukluklar ile açıklanabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca birden fazla etiyolojik neden bulunduran vakalar da bu gruba dahil edilmektedir.

2.2.5.Diğer Tanımlanmış Nedenlere Bağlı İskemik İnmeler

Bu grupta primer ve sekonder santral sinir sistemi vaskülitleri, CADASIL ve serebral amiloid anjiyopati gibi nadir küçük damar hastalıkları, konjenital damar hastalıkları, mitokondriyal hastalıklar, travma ve diseksiyon yer almaktadır. Hiperkoagülabilité durumları ve hematolojik hastalıklar da bu grup içinde değerlendirilir. Bu grup tüm iskemik inmelerin yaklaşık %5' ini oluşturur. Hastaları bu gruba dahil etmeden önce kardiyoembolizm ve büyük arter aterosklerozu dışlanmalıdır.

2.3.FİBRİNOLİTİK SİSTEM

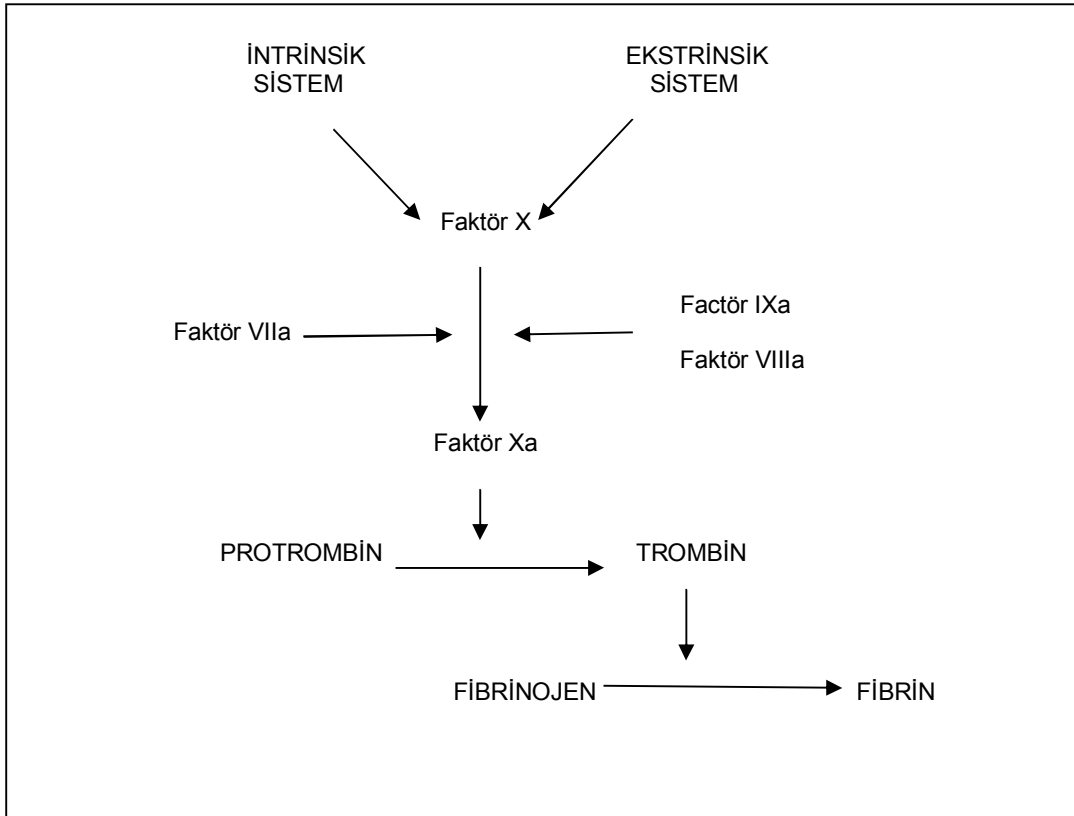
Fibrinolitik sistem hemostatik denge, doku onarımı, tümör invazyonu ve anjiyogenez gibi pek çok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte rol oynayan bir sistemdir ve birçok proteolitik enzimi içerir (38). Kan pıhtısının eritilmesi ve vasküler kan akımının korunmasında önemli rol oynar.

Hemostaz ise hasarı takiben kanamanın durdurulmasını sağlayan mekanizmaları tanımlar. Serin proteazlar, proteaz inhibitörler, kofaktörler, farklı tipte hücreler ve hücresele reseptörler, ekstraselüler matriks, kan viskozitesi ve kan akımı gibi

faktörlerin karşılıklı etkileşimine bağlıdır. Hemostatik dengenin bozulması tromboz ya da kanamaya eğilim ile sonuçlanabilir.

Damar duvarı mekanik ya da aterosklerotik plak oluşumuna bağlı olarak hasarlandığı zaman trombositler aktive olur ve hasar bölgesine toplanarak trombosit agregatları oluştururlar. Trombosit aktivasyonu intrinsik ve ekstrinsik yollar aracılığıyla koagülasyon kaskadını aktive eder. Bu da trombin oluşmasına yol açar. Trombin başka plateletlerin aktivasyonunu ve fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar (Şekil 2.1).

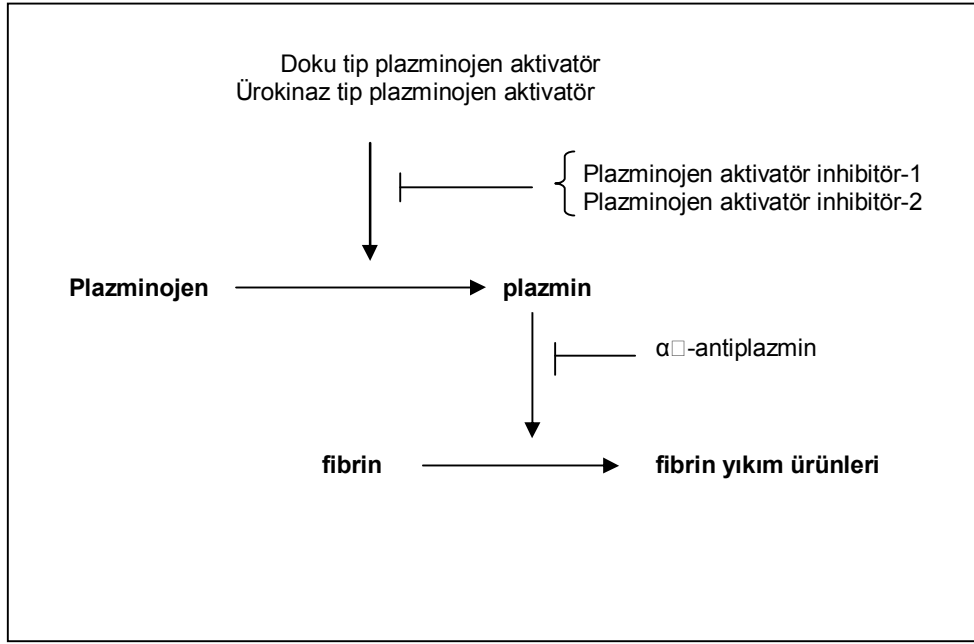
Şekil 2.1.Koagülasyon Sistemi



Fibrin damar hasarını takiben kanamayı önlemeye yönelik hasar bölgesinde oluşturulan patolojik bir yapıdır. Normal kan akımının tekrar sağlanması için fibrinin geri çekilmesi gereklidir. Bununla beraber fibrinin ortamdaki uzaklaştırılması ancak damar duvarının rejenerasyonunun sağlanmasından sonra gerçekleşebilir. Dolaşımda fibrinolizisin esas başlatıcısı ise Doku Plazminojen Aktivatör (t-PA)'dür (Şekil 2.2). t-PA, hemostatik sistemin tek proteazıdır ve endotelyumdan sürekli olarak aktif form şeklinde salgılanır. Bu durumda PAI, t-PA' nın sürekli

salgılanmasına rağmen damar duvarının rejenerasyonu için gerekli zaman zarfında fibrin yıkımını erteleyen faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Fibrin yokluğunda t-PA plazminojeni çok düşük oranda aktive eder çünkü PAI, t-PA' yı inaktive eder. Kandaki yüksek PAI-1 aktivitesi sonucunda t-PA ortalama yarı ömrü yaklaşık 2 dakika olacak şekilde inaktive edilir. Böylece endotelden salgılanan t-PA' nın büyük bir kısmı fibrin pıhtısına bağlanmadan aktivitesini kaybeder. Bu açıdan inaktif t-PA/PAI bileşiği bir intihar çifti "suicide pair" olarak tanımlanabilir (39).

Şekil 2.2.Fibrinolitik Sistem



2.3.1.Fibrinolitik Sistemin Temel bileşenleri

Fibrinolitik sistem inaktif proenzim olan plazminojenin aktivasyonunu ve adım adım fibrin yıkımını kontrol eden aktivatör ve inhibitörlerden oluşur (Tablo2.1).

Fibrinolitik sistem enzimleri, örneğin serin proteinazlar; serin, aspartik asit ve histidinden oluşan ve "Katalitik üçlü" olarak adlandırılan aktif bölgeye sahiptir. Bu aktif bölge COOH-terminal uçta yerleşir. NH₂-terminal bölge ise bir veya daha fazla fonksiyonel domain içerir. Fibrinolitik sistem inhibitörleriyse serin süper ailesinin (serin proteaz inhibitörleri) üyeleridir. COOH-terminal uçlarında spesifik reaktif bölge içerirler. Buradaki peptid bağları hedef enzimler tarafından koparılıarak

inhibitörden bir peptid serbestleşmesi gerçekleştirilir ve inaktif enzim-inhibitör bileşiği oluşturulur. Serpinlerin reaktif bölgeleri temel amino asit rezidülerinden (Arjinin ya da Lizin) oluşur (40).

Tablo 2.1.Fibrinolitik Sistemin Temel Bileşenleri

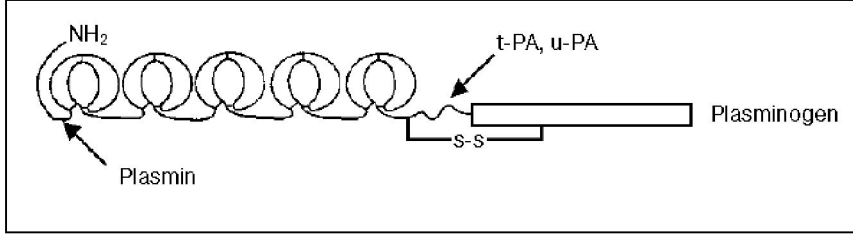
Bileşik	Molekül ağırlığı, kD	Plazma düzeyi	Yarı ömrü	Fonksiyonu
Plazminojen	92	0,2mg/ml	50h	Proenzim
Doku-tipi plazminojen aktivatör	70	5-10ng/ml	2-3dk	Plazminojen aktivatörü
Ürokinaz-tipi plazminojen aktivatör	55,31	1ng/ml	3-5dk	Plazminojen aktivatörü
Prekallikrein	88	0,04mg/ml	25h	Proenzim
Faktör XII	80	0,03mg/ml	60h	Proenzim
Anti plazmin	70	0,07mg/ml	50h	Plazmin inhibitörü
Makroglobülin	4,160	2,5mg/ml	-	Proteaz inhibitörü
Plazminojen aktivatör inhibitör-1	52	60ng/ml	5-7dk	t-PA, u-PA inhibitörü
Plazminojen aktivatör inhibitör-2	70	<5ng/ml	-	u-PA, t-PA inhibitörü
C1 inhibitör	105	0,2mg/ml	-	'Contact activation' bileşik inhibitörü
Histidinden zengin glikoprotein	75	0,1mg/ml	-	Plazminojen bağlama
Fibrinolizisin trombin aktive inhibitörü	49	13µg/ml	-	Fibrinojenin kofaktör aktivitesini azaltma

2.3.1.1.Plazminojen

92 kD tek zincir glikoproteindir ve 791 amino asit rezidüsü içerir. Doğal plazminojen NH₂-terminal glutamik aside sahiptir ("Glu-plazminojen"). Glu-plazminojen plazmin ile parçalanarak modifiye formlara en sık da "Lys-plazminojen" e dönüşür.

Plazminojen fibrinolizisin kontrolünde kritik rol oynar. Karaciğerde tek zincir glikoprotein şeklinde sentezlenir ve salgılanır. 791 amino asit rezidüsü ve N-terminal ucunda Glutamik asit (Glu) içerir. Lizin (Lys) bağlayıcı bölgeleri içeren beş 'kringle' benzeri domainler ve tripsin benzeri proteazlar ile homolog olan C terminal domainden oluşur (Şekil 2.3).

Şekil 2.3.Plazminojenin Şematik yapısı



Kringle-1 domain yüksek affiniteyle lizin bağlar, diğer bölgeler ise lizine düşük affinite gösterir. Kringle domainler, plazminojen ve plazminin substratlar, inhibitörler ve hücre membranları ile etkileşimlerine aracılık ederler. Bu etkileşimler plazminojenin aktivasyonu ve plazminin proteolitik aktivitesinin gerçekleşmesi için önemlidir. Plazmin Plazminojenin Arg67-Met68, Lys76-Lys77 ya da Lys77-Val78 arasındaki peptid bağlarını kopararak N-terminal polipeptid ucunu serbestleştirir ve Lys-plazminojen oluşur. Lys-plazminojen fibrin yokluğunda Glu-plazminojene göre daha yüksek oranda aktifleşme yeteneğine sahiptir. İnsanda Glu-plazminojenin aktivasyonu Lys-plazminojen aracılığı olmadan Arg561-Val562 peptid bağının koparılması ile direkt olarak gerçekleşir (40).

Plazminojen Arg561-Val562 peptid bağının kopmasıyla aktif enzim plazmine dönüşür. Plazmin disülfid bağıyla bağlanmış 2 polipeptid zinciri içerir; N-terminal ağır A-zincir tüm kringle domainlere sahiptir, C-terminal hafif B-zincir ise, His602, Asp645 ve Ser740' tan oluşan katalitik bölgeyi içerir (41). Plazminojenin plazmine dönüşümü plazminojen aktivatörlerin etkisiyle olmaktadır.

Fibrinojen simetrik bir yapıya sahiptir. Bu simetrik yapı özdeş olmayan üç zincirin A- α , B- β ve γ - zincirler şeklinde eşleşmesi sonucunda oluşur. Fibrinojen plazmin tarafından basamaklı olarak yıkılır. Yıkım ürünleri X-Y-D- ve E fragmanlar olarak oluşturulur. Proteolizise en duyarlı bölgeler fibrinojenin α -zincirin 584., 425. ve 207. pozisyonlarındaki ve β -zincirin 42. pozisyonundaki Lys/Arg' dir. Bu bölgelerden asimetrik bölünmeler gerçekleşebilir. Sonuçta X fragmanlar oluşturulur. Bu ilk bölünme sonrasında fibrin hala polimer yapısında bulunur. Fibrin pıhtısının Y-D ve -E fragmanlar gibi eriyebilir parçalara yıkılması ise en az bir D-fragmanın fibrin monomerlerinden ayrılmasından sonra gerçekleşir.

Fibrin ağının son yıkımı plazmin tarafından gerçekleştirilir. Plazmin plazminojenden oluşturulur. Plazminojen fibrinin kısmi yıkılmasından sonra kandan absorbe edilir. Fibrin yıkımı sırasında plazminojenin yüzeyel birikim gösterdiği ve fibrin pıhtısının tabaka tabaka eridiği gösterilmiştir. Fibrin yıkımındaki bu birbirini takip eden iki fazın varlığı damar hasarı bölgesindeki fibrin pıhtısının geçici stabilitesini sağlayan mekanizmalarından biri olabilir (38).

Fibrinolizisin regülasyonu, aktivatörlerin (t-PA, u-PA) ve spesifik inhibitörlerinin (serbest plazmin, spesifik inhibitör α_2 -antiplazmin) üretilmesinden ve sekresyonundan etkilenir. Ayrıca t-PA ile hızla kompleks oluşturarak onu inaktive eden PAI-1 de, regülasyonun önemli bir bileşenidir.

Plazmin α_2 -antiplazmin ile inaktif 1:1 “stoichiometric” bileşik oluşturarak inhibe edilir. İnhibisyonu iki ardışık reaksiyon ile gerçekleşir; daha hızlı ancak geridönüşümlü inaktif bileşik oluşturan ilk reaksiyonu daha yavaş ama geridönüşümsüz inaktif bileşik oluşturan ikinci reaksiyon takip eder. Plazminin bu şekilde yarılanması fibrin yüzeyinde gerçekleşir.

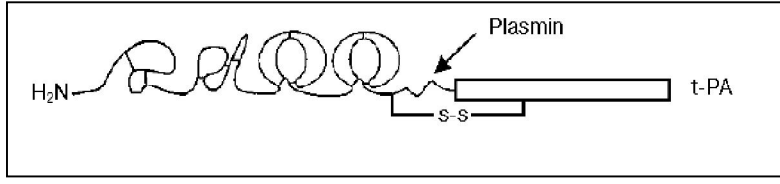
2.3.1.2. Plazminojen Aktivatörleri

2.3.1.2a. Doku Tipi Plazminojen Aktivatör (t-PA)

t-PA, endotelial hücreler tarafından tek zincirli aktif enzim olarak sentezlenir ve salgılanır. Plazmin ile proteolitik parçalanma sonucunda iki zincirli moleküle dönüşür. Hem tek hem de iki zincirli formları aktivatör özelliğe sahiptir.

t-PA'nın doğal formu 530 amino asit rezidüsü içerir. Moleküler ağırlığı yaklaşık 70 kD'dur. Beş bölgeden oluşur; fibronektinin “finger-like” bölgesi ile homolog olan N-terminal domain, bunu takip eden Epidermal Büyüme Faktör (EGF) domaini, plazminojenin iki “kringle-like” domainleri ve “trypsin-like” proteazlar ile homolog aktif C-terminal bölge. Ağır zincir N-terminal parça, hafif zincir ise C-terminal parçadır (Şekil 2.4).

Şekil 2.4.t-PA' nın Şematik Yapısı



Aktif bölge His322, Asp371 ve Ser478' den oluşur (42). Finger-like ve kringle-2 domainleri iki farklı fibrin bağlayıcı bölgeye sahiptir. PAI' nin t-PA' ya bağlanması aktif bölgedeki 296-304 rezidüleri ve kringle-2 domain ile etkileşim sonucunda olur. Ortaya çıkan inaktif t-PA/PAI kompleksi fibrine bağlanma kapasitesini bir miktar korur ve bu nedenle fibrine bağlanma için serbest t-PA ile yarışır.

Plazmin, kallikrein ve Faktör Xa t-PA' nın iki zincirli formundaki Arg275–Ile276 peptid bağınyı koparabilirler. Bu ayrılma fibrin yokluğunda plazminojenin aktivasyon oranını artırır. Fibrin varlığında t-PA' nın iki formu da plazminojeni benzer oranda aktive eder. Fibrin varlığında hem t-PA hem de plazminojen fibrine bağlanır. Plazminojenin t-PA ile aktivasyonu sadece fibrin ile stimüle edilmez. Hücre membranları ve ekstraselüler matris proteinleri de plazminojen aktivasyon oranını artırır ancak bunların kofaktör etkinlikleri fibrinden belirgin olarak daha düşüktür (38).

t-PA fibrin yokluğunda zayıf bir enzim iken fibrin oluştuğunda etkinliği güçlü bir şekilde artar. Fibrinolizis sırasında fibrinojen ve fibrinin kendisi trombin veya plazmin tarafından devamlı bir şekilde modifiye edilir. Trombin tarafından desA-fibrin monomerlerinin, desA-fibrin polimerlerine dönüşümü t-PA tarafından plazminojenin aktivasyonunun artırılması için gereklidir. Optimal stimülasyon ancak fibrinin NH₂-terminal B β -zincir ve COOH-terminal A α -zincir bölgelerinden plazmin ile erken yıkımından sonra gerçekleşir ve X-polimer fragmanlar elde edilir. Fibrin, t-PA ve plazminojeni absorbe edebilen bir yüzey oluşturur; sonuçta siklik üçlü bileşik ortaya çıkar. t-PA, plazminojen ve fibrinden oluşan siklik üçlü bileşik t-PA' nın fibrinojene karşı affinitesinin artmasına neden olur. Fibrin X-polimerlerinin oluşumunu takiben ortaya çıkan fibrin stimülasyonundaki artış, fibrinin plazminojen ve t-PA bağlama oranını artırır.

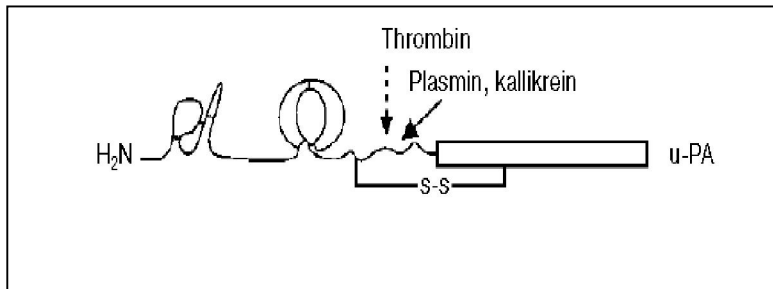
Birçok hücre plazminojen ve plazminojen aktivatörlerini bağlayabilme özelliğine sahiptir; böylece plazminojen aktivasyonu artar ve plazminin α -antiplazmin ile inaktivasyonu önlenir. Hücrel reseptörler ayrıca t-PA' nın dolaşımdan hızla temizlenmesine de aracılık ederler (38).

2.3.1.2b. Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatör (u-PA)

Ürokinaz tripsin benzeri bir proteazdır ve plazminojeni aktive etme yeteneğine sahiptir. İlk defa üründen izole edilmesi nedeniyle ürokinaz olarak adlandırılmıştır. Bu enzim disülfid bağlarıyla bağlanmış iki polipeptid zincirden oluşmaktaydı. Daha sonra ürokinazın çeşitli hücrelerden sentetik kromojenik substratlar tarafından hidrolize edilemeyen ve “acylating reagens” ile etkileşmeyen tek bir glikoprotein zinciri şeklinde sentezlendiği ve salgılandığı görülmüştür. Bu nedenle bu tek zincirli form proürokinaz olarak adlandırılmıştır. Ancak sonraki çalışmalar ile tek zincir ürokinazın gerçek bir proenzim olmadığı, tek zincir ürokinaz tip plazminojen aktivatör (scu-PA) ve iki zincir ürokinaz tip plazminojen aktivatör (tcu-PA) oluşumunu kontrol ettiği gösterilmiştir (43).

scu-PA molekülü 55 kD ağırlığındadır ve 411 amino asit içerir. 3 bölgeden oluşur: EGF domaini ile homolog olan N-terminal domain, bunu takip eden plazminojenin kringle-like domainleri ile homolog domain ve tripsin-like proteazlar ile homolog olan C-terminal domain (Şekil 2.5).

Şekil 2.5. u-PA' nın Şematik Gösterimi



Aktif bölge His204, Asp255 ve Ser356' dan oluşur (44). scu-PA molekülü plazmin ve kallikrein tarafından birkaç özel bölgeden yıkılabilir. Plazmin veya kallikrein tarafından Lys158-Ile159 bölgesinden yıkılması sonucunda disülfid bağıyla bağlanmış iki polipeptid zincirden oluşan tamamen aktif ürokinaz oluşturulur.

scu-PA özel olarak fibrine bağlanamaz ancak intravenöz infüzyonu dolaşımında belirgin plazminojen aktivasyonu olmaksızın trombüs yıkımını indükler; yani scu-PA' nın pıhtı spesifik etkisi vardır.

Bir çok hücre u-PA' e özel reseptörler eksprese eder. u-PA Reseptörleri (u-PAR), sisteinden zengin glikoprotein yapısındadır. Üç adet homolog ekstraselüler bölgeden oluşur. C-terminal bölgesinden kovalent bağla hücre yüzeyine tutunur. u-PA' nın u-PAR' üne bağlanması enzimin EGF domaini ve reseptörün N-terminal domaini arasındaki etkileşim sonucunda gerçekleşir. u-PA' nın reseptörüne bağlanması hücre içi sinyal iletimini ve bölgesel proteolizisi aktive eder. Bu durum muhtemelen doku gelişiminde kritik rol oynamaktadır.

tcu-PA' nın aksine scu-PA düşük moleküler ağırlıklı kromojenik substratlara düşük affinite gösterir ve intrinsik plazminojen aktivasyon potansiyeli taşır. Katalitik etkinliği tcu-PA' dan çok daha düşüktür. Fibrin yokluğunda plazmada stabildir ve plazminojeni aktive etmez. Fibrin pıhtısı oluştuğunda ise scu-PA fibrin spesifik pıhtı yıkımına yol açar. tcu-PA' nın ise böyle bir etkisi yoktur.

Hücre yüzeyinde scu-PA' nın tcu-PA' ya bağlanması fizyolojik koşullardaki aktivasyonu için kritik önem taşır. Bağlanma plazmin üretiminde artış olması ile sonuçlanır. Bu artış hem plazminojenin aktivasyonuna hem de scu-PA' nın tcu-PA tarafından "feedback" aktivasyonuna bağlıdır. Bu etkilerden ikisi plazminojenin hücreye bağlanması ile ilişkilidir. Hücre ilişkili plazmin α_2 -antiplazmin ile hızlı yıkımdan korunur ve bu sistem PAI-1 ve PAI-2 tarafından etkin bir şekilde inhibe edilir. Plazmada tcu-PA α_2 -makroglobulin, α_1 -antitripsin, antitrombin III ve PAI-3 gibi birkaç proteinaz inhibitör tarafından inhibe edilir. Daha hızlı ve spesifik inhibisyon PAI-1 ve PAI-2 ile olur. Buna karşılık scu-PA, plazma proteinaz inhibitörler ile inhibe olmaz. u-PA' nın kandan temizlenmesi ise temel olarak hepatik klerens ile olur.

u-PA ve t-PA' nın fonksiyonları genel olarak benzerdir ve birbirini tamamlayan iki aktivatör oldukları düşünülmektedir. Farklı fonksiyonel özellikleri açısından ele

alındıklarında ise u-PA' nın esas olarak dokudaki plazminojenin hücre aracılı aktivasyonu için önemli olduğu, t-PA' nın ise fibrine yüksek affinite gösterdiği ve dolaşımdaki fibrin pıhtısının eritilmesi için önemli olduğu söylenebilir .

2.3.1.3.Plazminojen Aktivatör İnhibitörleri

Serin proteaz inhibitörleri (serpinler) süperailisine ait dört farklı protein plazminojen aktivatör inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Normal kanda t-PA ve tcu-PA esas olarak endotel tarafından sentezlenen PAI-1 tarafından inhibe edilir. PAI-2 ise yüksek oranda tcu-PA' yı inaktive eder. Plazenta, monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenir. Normal kanda PAI-2 saptanamaz ancak çeşitli hastalıklarda ölçülebilir düzeye gelir. PAI-3 ve PAI-4 olarak tanımlanan inhibitörlerin ise daha sonra Protein C inhibitör ve Proteaz Neksin-1 oldukları anlaşılmıştır (38).

2.4.PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNHİBİTÖR-1

PAI-1, plazmada plazminojen aktivasyonunun esas inhibitörüdür. t-PA ile bileşik oluşturan tek inhibitördür. Hem t-PA' yı hem de u-PA' yı hızla inaktive eder. t-PA ve u-PA ile etkileşimi diğer aktivatör inhibitörlerinden daha fazladır.

PAI-1, serpin ailesinin üyesidir. Tek zincir glikoprotein yapısındadır ve molekül ağırlığı 52 kD'dur. 379 amino asit içerir. Sistein rezidüsü bulundurmaz dolayısıyla disülfid bağları yoktur. Buna karşılık metioninden zengindir. Metioninden zengin olması nedeniyle oksidan ajanlara duyarlıdır ve bu ajanlarla geridönüşümsüz olarak inaktive olur. Sistein rezidülerinin olmaması ise aktif PAI-1' in biyolojik olarak instabil olmasına neden olur (39).

PAI-1 damar duvarı (endotelial hücreler, düz kas hücreleri), makrofajlar, karaciğer, dalak ve adipoz doku tarafından sentezlenir. Plazmada ve diğer biyolojik sıvılarda, aktif, inaktif ve latent PAI-1 olmak üzere, üç boyutlu yapısı birbirinden farklı olan üç formda bulunur. Hücrelerden aktif form olarak salgılanır. Aktif form dolaşımda spontan olarak hızlı bir yapısal değişikliğe uğrar. Böylece yarılanma ömrü 1 saat olacak şekilde latent forma dönüşür. Aktif formda, PAI-1' in

reaktif merkezi yüzeyde bulunurken latent formda protein globül içine batmış haldedir. Aktif PAI-1' in latent PAI-1' e dönüşüm mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Denatüran ajanların uygulanması ile in vitro ortamda reaktivasyon sağlanabilir. Ancak in vivo reaktivasyonun mekanizması ve fizyolojik rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bununla beraber Lambers ve arkadaşları tarafından fosfatidilserin veya fosfatidilinositol içeren veziküllerde fosfolipid aracılı latent PAI-1 aktivasyonu gösterilmiştir (45). Buna göre damar hasarı bölgesindeki plateletler veya kopan hücrelerin membranları yoluyla latent PAI-1 aktifleştirilmekte ve böylelikle trombusun proteolitik stabilitesi arttırılmaktadır.

Aktif PAI-1 plazmada özel olarak vitronektin ile etkileşir. Bunların kompleks oluşturmaları sonucunda her ikisinin de yapısal özellikleri değişir. Sonuçta PAI-1' in aktif yapısı stabilize olur ve vitronektinin hücre reseptörlerine bağlanması azalır. Endotel veya trombosit kaynaklı PAI-1' in normal koşullarda vitronektine bağlanması sonucunda yarı ömrü 2-4 kat arttırılmış olur (46). PAI-1/vitronektin bileşiği heparin yokluğunda aktive protein C ve trombinin en etkili inhibitörüdür (46).

PAI-1' in hem aktivasyon hem de antijen ölçümü yapılabilir. PAI-1 antijen tüm PAI-1 formlarını kapsar (aktif, inaktif, latent, serbest, vitronektine veya t-PA' e bağlı). PAI-1 antijeninin plazma konsantrasyonları 6 ila 80 ng/ml arasındadır (47). Biyosentez hızı yüksek olmakla beraber 8-10 dakikalık kısa yarılanma ömrü nedeniyle göreceli olarak düşük plazma seviyelerine sahiptir.

PAI-1' in yaklaşık %80' ni ise trombositlerdeki alfa granüllerde latent olarak bulunur. Trombositlerdeki PAI-1' in stabilizasyonu vitronektinle bileşik oluşturmasından çok kalsiyuma bağlanmasına bağlı gibi görünmektedir. Damar hasarına bağlı trombosit aktivasyonu ve agregasyonu gibi uyarılarla aktifleşir (48). Aktivasyonu takiben trombositlerden PAI-1 salgılanması trombus formasyonunun olduğu bölgede lokal PAI-1 konsantrasyonunun belirgin olarak yükselmesine neden olur. Böylece trombositler fibrin matriksin proteolitik stabilitesini arttırmış olurlar (49).

PAI-1 seviyeleri hastalıkların akut fazlarında hızla birkaç kat yükselir. Bu nedenle sağlıklı ve çeşitli hastalıklara sahip insanlarda hem plazma PAI-1 konsantrasyonları hem de aktivitesi büyük oranda farklılık gösterir. İnflamatuvar cevapta, akut akciğer hasarında, sepsiste, endotoksemilerde, meningokoksik sepsiste ve lökopeni durumlarında yüksek PAI-1 düzeyleri bulunur (50). Akut hasar ve inflamasyon durumlarında artış göstermesi nedeniyle PAI-1 akut faz reaktanı olarak görülmektedir.

Son olarak dolaşımdaki PAI-1' in temizlenmesi karaciğer tarafından gerçekleştirilir ve endotelial inaktivasyonla da regüle edilir (39).

2.4.1.Fibrinolitik Sistem ve PAI-1' in Rolü

Endotel kaynaklı t-PA intravasküler fibrinolizis sırasında plazminojeni aktif proteaz olan plazmine dönüştürür. Plazmin fibrin pıhtısını eritir. Plazminin ayrıca vasküler duvarda önemli görevleri vardır. Endojen t-PA PAI-1 tarafından hızla nötralize edilir. PAI-1 t-PA' ya aktif bölgesinden bağlanır ve stabil 1:1 "stoichiometric" kompleks oluşturur ve inhibitör bu süreç içinde tükenmiş olur ("suisid inhibitör"). Böylelikle PAI-1 fibrinolitik sistemde plazmin üretimini sınırlayıcı regülatör rolü üstlenir.

Plazminin aşırı artışı fibrinojen ve diğer pıhtılaştırma faktörlerinin yüksek miktarda yıkılmasına yol açar. Ortaya çıkan sistemik litik durum kanama riskinde artışa sebep olur. Sonuç olarak, plazminojen aktivatör ve plazminojen aktivatör inhibitör arasındaki denge net fibrinolitik aktiviteyi belirler. PAI-1 veya t-PA' daki rölatif artış veya eksiklik klinik yansımalarına neden olur. Genetik olarak PAI-1 eksikliğine bağlı serbest t-PA fazlalığı nadir vakalarda kanamaya sebep olur (51). Daha sıklıkla da, PAI-1 plazma seviyelerinin arttığı ve t-PA etkisinin azaldığı durumlara bağlı olarak tromboembolik hastalıklar ortaya çıkar (52).

2.4.2.PAI-1 Plazma Seviyelerinin Belirleyicileri

2.4.2.1.Genetik faktörler

Son dönem yayınlarda erken yaşta (55 yaş altı) MI geçiren erkeklerin çocuklarında PAI-1 plazma seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (53). Bu bulgu defektif fibrinolitik sistemin ailesel koroner arter hastalıklarına eğilim yarattığı hipotezini desteklemektedir.

Gerçekten de plazma PAI-1 seviyeleri özellikle genetik faktörler tarafından belirlenir (54). PAI-1 geni İntron3' te sekiz allel (CA)_n tekrar polimorfizminin ve 3' flanking bölgesinin iki allel HindIII sınırlı fragman uzunluk polimorfizminin, yüksek plazma PAI-1 seviyeleri ile ilişki olduğu düşünülmektedir (55). Bunun yanısıra 4G/4G polimorfizmine sahip bireyler de daha yüksek plazma PAI-1 seviyelerine sahiptir (56). 4G alleli için homozigot olan bu bireylerde ayrıca trombositlerde yüksek PAI-1 aktivitesi ve yüksek antijen seviyeleri mevcuttur. Bu nedenle endojen ve eksternal plazminojen aktivasyonuna karşı daha yüksek rezistans gösterirler. Transkripsiyonu başlatıcı bölgenin yukarısındaki 675. baz çiftine (bç) yerleşik tek guanozin insersiyon/delesyonu ile oluşan 4G/5G polimorfizmi bir diğer polimorfizmdir. HindIII sınırlı kırık ve 4G/5G promotor polimorfizminin hem sağlıklı bireylerdeki hem de koroner arter hastalığı, venöz tromboz, allogreft koroner arter hastalığı, pulmoner embolizm gibi tromboembolik hastalıkları olan bireylerdeki plazma PAI-1 yüksekliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (57). Ancak bu bulgu henüz başka araştırmacılar tarafından onaylanmamıştır (58).

2.4.2.2.İnsülin Direnci Sendromu, Diabetes Mellitus ve Metabolik faktörler

Son dönemde metabolik faktörlerin plazma PAI-1 aktivitesi ve antijen seviyesi üzerindeki etkisinin genetik faktörlerden daha belirleyici olduğu öne sürülmektedir. A-844G, -675, 4G/5G ve G+12078A polimorfizimlerinin prensipte PAI-1 seviyeleri ile ilişkili olduğu düşünülse de çoklu değişken analizleri sonrasında PAI-1 değişkenliğine minör katkıda buldukları görülmüştür (59).

Glukoz metabolizma bozuklukları aterosklerozda, ateroskerozu takip eden tromboembolik olaylarda ve hipofibrinoliziste kötü prognoz ile ilişkilidir (60). VKİ, kalça bel oranı, açlık insülin, trigliserid ya da HDL kolesterol seviyeleri ile belirlenen metabolik sendrom; bel çevresinin kadınlarda 102cm, erkeklerde 88cm'

den fazla; HDL düzeyinin kadınlarda 40' ın, erkeklerde 50' nin altında olması ve her iki cinste trigliserid düzeyinin 150' nin, arteriyel tansiyonun 85/130 mm/Hg' nin üzerinde, açlık kan şekerinin ise 110-125 arasında olması olarak tanımlanır. Bu özelliklerden en az üçüne sahip olan metabolik sendromlu bireylerde artmış plazma PAI-1 seviyeleri bulunmuştur. Bu bulgu kesitsel çalışmalar yapan diğer araştırmacılar tarafından da doğrulanmaktadır. Hem sağlıklı hem de KAH' ı olan bireylerde PAI-1 plazma seviyeleri ile insülin direnci sendromunun çeşitli özelliklerinin toplamı arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (61). İnsülin dirençli bireyler insülin duyarlı bireylerle karşılaştırıldığında PAI-1 konsantrasyonları VKİ ve kalça-bel oranlarındaki değişikliklere bağımlı olarak yükselme gösterir.

Hücre kültürlerinde insülin, proinsülin ve trigliserid zengin lipoprotein (RLP-C)' nin PAI-1 üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir (62). Ayrıca KAH' da, RLP-C kalıntıları ile plazma PAI-1 aktivitesi arasında bir ilişkili olduğu belirlenmiştir (63). Proinsülin ve insülin in vivo olarak da PAI-1 üretimini arttırmaktadır (64). Geniş bir glukoz toleransı spektrumunda insülin ve onun prekürsörleri dolaşımdaki fibrinojen ve PAI-1 seviyelerini değiştirir (65).

Ateromektomi örnekleri incelendiğinde DM' li hastalarda olmayanlara nazaran aterom içeriğinde daha yüksek miktarda PAI-1 bulunmuştur (66). Bu diyabetik hastalar muhtemelen lokal trombüs oluşturmaya ve plak rüptürü sonrasında trombüs sürekliliğine daha meyillidir. Tedavi stratejilerinin DM ve insülin direnci için faydalı olduğu bilinmektedir ve bu tedavilerle ayrıca endojen fibrinolitik potansiyelde de düzelmeye sağlanır. TipII DM' de insülin tedavisi ile glisemik kontrole bağlı olarak proinsülin seviyeleri ve PAI aktivitesi azalır (67). Metformin bazal plazma trigliserid ve insülin seviyesini azaltmanın yanında bazal ve venöz oklüzyon sonrasındaki plazma PAI-1 seviyelerini de azaltır (68). Son olarak bir α -bloker olan Doksazosin' in kullanımı glukoz ve trigliserid metabolizması üzerinde ve aynı şekilde fibrinolizis üzerinde faydalı etkilere sahiptir (69). Çalışmaların çoğunda çeşitli tedavilere bağlı olarak fibrinolitik sistemde gelişen faydalı etkiler glukoz metabolizmasındaki olumlu değişikliklere ve trigliserid seviyelerinin azalmasına bağlanır. Gemfibrozil ve Niasin gibi lipid düşürücü ilaçlar ile hem

plazma trigliserid seviyelerinin düşürülmesi hem de PAI-1 mRNA ekspresyonunun azaltılması mümkündür (70).

2.4.2.3.PAI-1 Plazma Seviyeleri Üzerinde Östrojenin Etkileri

Premenapozal kadınlar postmenapozal kadınlara göre daha düşük plazma PAI-1 seviyelerine sahiptir (71) ve postmenapozal kadınlarda östrojen replasman tedavisi ile PAI-1 seviyelerinin düşürülebileceği iddia edilmektedir (72).

Östrojen muhtemelen PAI-1 seviyesini azaltmaktadır. İn vivo ortamda östrojen reseptör bağımlı mekanizma ile sitokin aracılı PAI-1 ekspresyonunun inhibe edildiği düşünülmektedir (73). Postmenapozal kadınlarda östrojen replasman tedavisine ikincil PAI-1 seviyelerinin düşürülmesi fibrinolitik potansiyelin artmasına bağlı olarak kardiyoprotektif etkiye katkıda bulunur.

2.4.2.4.PAI-1 Kaynağı Olarak Adipoz Doku

Obesitenin fibrinolitik cevabın azalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (74). Yağ dokusunun kendisi PAI-1' in ekspresyonunun artmasına direkt olarak katkıda bulunur. Visseral yağ miktarı da PAI-1 üretimini etkilemektedir (75). Visseral yağ dokusu ile karşılaştırıldığında subkutan yağ dokusundaki PAI-1 sekresyon oranı iki kat, PAI-1 mRNA içeriği ise üç kat daha yüksektir. Cinsiyet ve 4G/5G polimorfizmiyle abdominal subkutan adipoz dokudaki PAI-1 sekresyonu arasında ilişki gösterilememiştir (76). Klinik çalışmalar obes hastalarda kilo kaybı ile belirgin şekilde plazma PAI-1 seviyelerinin düştüğünü bildirmektedir (77). Obesite insülin direnci sendromunun önemli bir komponentidir. İnsülin bağımlı mekanizma ve yağ dokusunun birleşik etkisi ile PAI-1' in üretiminin uyarılması plazma seviyeleri üzerine güçlü etkide bulunur (78).

2.4.2.5.PAI-1' in Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi (RAAS) ile Kontrolü

İN vivo ve deneysel in vitro çalışmalar fibrinolitik dengede RAAS sisteminin etkili olduğunu düşündürmektedir. Bradikinin in vivo olarak t-PA üretimini stimule eder. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE)' in bradikininini yıkması nedeniyle t-PA

üretimini azalttığı sanılmaktadır (79). Bunun yanında ACE muhtemelen endotel ve düz kas hücrelerinde Anjiyotensin II etkisi ile PAI-1 üretimini de arttırmaktadır (80).

Endotel hücre kültürlerinde Anjiyotensin II aracılı PAI-1 sentezindeki artışta Anjiyotensin Reseptör I ve II' nin etkisi yoktur. Buna karşılık rat aortu ve kalp ventrikülünde PAI-1 sentezinin artışı Anjiyotensin II ve Anjiyotensin reseptör I yoluyla gerçekleşir (81).

ACE-DD genotipindeki bireylerde serum ve selüler ACE seviyeleri daha yüksektir (82) ve artmış MI riski taşırlar (83). Çalışmalarda elde edilen ilk veriler, ACE-DD genotipinin artmış plazma PAI-1 seviyeleri ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. İnsülin direnci sendromunda, PAI-1 plazma seviyelerinin regülasyonuna etkisi olan ACE-DD ve PAI-1 4G/4G genotipi arasında pozitif etkileşim mevcuttur (84).

ACE inhibitörlerinin kullanımı sonucunda hem t-PA üretiminin artması hem de PAI-1 plazma seviyelerinin azaltılmasına bağlı olarak net fibrinolitik kapasite artar. Bu bulguların aksine bazı yazarlar koroner arter hastalığında ACE inhibitörlerinin kullanımı ile PAI-1 plazma seviyelerinin düşürülmesinin mümkün olmadığını söylemektedir (85).

2.4.2.6.PAI-1 Seviyelerinin Diğer Belirteçleri

Yaş, ırk, cinsiyet, total kolesterol ve plazma fibrinojen seviyeleri, alkol tüketimi, sigara içimi, diyet ve fiziksel aktivite PAI-1 düzeyini etkileyen diğer faktörlerdir.

Yaşla birlikte PAI-1 plazma düzeyleri artış gösterir. Alkol tüketiminin ise PAI-1 düzeylerini doz bağımlı olarak etkilediği ve bu etkinin J eğrisi şeklinde olduğu düşünülmektedir (86). Düzenli fiziksel aktivitede bulunan bireylerde, plazma seviyelerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Düzenli antremana bağlı olarak gözlenen PAI-1 seviyelerindeki düşmenin ayrıca genotiple de ilişkili olduğu düşünülmektedir (87). Yine askorbik asit gibi antioksidanların kullanımına bağlı olarak PAI-1 seviyelerinde düşme olmaktadır (88).

PAI-1 seviyeleri ayrıca sirkadyen değişim gösterir. Mevsimsel olarak kışın daha yüksek yazın daha düşüktür ve sabahın erken saatlerinde akşamüstü saatlerine göre daha yüksektir. Trombotik oklüzyon veya aterosklerotik plak rüptüründen kaynaklanan MI, ani kardiyak ölüm ve iskemik inme bir kaç saat önceki sabah pik yüksekliğini takiben gelişebilir. (89)

PAI-1' deki kan seviyesi değişiklikleri diğer fibrinolitik sistem elemanlarında olduğundan daha belirgindir. Bu durum PAI-1' in in vivo fibrinolitik aktiviteyi belirleyen esas faktör olduğunu düşündürmektedir. (39).

2.5.TROMBOTİK HASTALIKLARDA PAI-1' İN ROLÜ

2.5.1.Venöz Tromboembolizm

DVT ve PTE' li hastalarda PAI-1 aktivitesi artmıştır (90). DVT' li hastaların %30' undan fazlası artmış PAI-1 seviyelerine sahiptir. Perioperatif PAI-1 seviyeleri kalça protezi yapılan ve takiben DVT gelişen hastalarda gelişmeyenlere göre belirgin olarak daha yüksektir (91). DVT' li hastaların üçte birinde fibrinolitik aktivite bozulmuştur (92). Venöz trombozda PAI-1' in rolüne dair diğer kanıtlar hayvan deneylerinden elde edilmiştir ve yüksek miktarda PAI-1 sentezine sahip transjenik farelerde venöz tromboz oranı yüksek bulunmuştur (93).

Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon (PHT)' lu hastalarda defektif fibrinolitik sistem vardır. Normal koşullarda pulmoner arter duvarında PAI-1 mevcuttur ancak santral pulmoner arterden alınan trombüste yüksek düzeydedir. Yine trombüs altında uzanan endotelial tabakada artmış PAI-1 sentezi vardır (94). Bu gözlemlere dayanarak akut trombüs oluşumu ve sürekliliğinin PAI-1' in lokal etkisine bağlı olarak gerçekleştiği söylenebilir. Teorik olarak PAI-1' e dirençli fibrinolitik ajanların kullanılması PTE' de trombolitik tedavinin etkinliğinin artmasına katkıda bulunur.

2.5.2.Arteriel Tromboembolizm

Artmış plazma PAI-1 seviyeleri unstabil anjina, MI ve reenfarktüs gibi akut koroner sendromların sıklığının artmasıyla ilişkilidir (95, 96, 97). Plazma PAI-1 seviyelerinin pik yaptığı sabah saatleri, akut MI ve nonoklüzif iskemik koroner olayların da sıklıkla görüldüğü bir zamandır (98).

PAI-1 4G/5G polimorfizminin klinik rolüne dair az sayıda veri vardır ve birbirleriyle çelişkilidir. Doggen ve arkadaşları 4G/5G polimorfizminin MI ile ilişkili olmadığını göstermiştir (99). Gardemann ve arkadaşları ise bu polimorfizmin koroner ateroskleroz için risk artışı sağladığını söylemişlerdir (100). Ayrıca Anvari ve arkadaşları 4G/5G alleli, artmış plazma PAI-1 seviyeleri ile şiddetli koroner arter hastalığı ve ani kardiyak ölüm gelişimi arasında pozitif ilişki bulmuştur (101). Bu sonuçlar son dönemde Mikkelsen ve ark. tarafından da doğrulanmıştır ve koroner tromboz, MI, ani kardiyak ölüm ile 4G/5G polimorfizmi arasında ilişki saptanmıştır (102). PAI-1 duyarlı veya dirençli fibrinolitik ajanların trombolitik tedavide kullanımı ile plazma PAI-1 seviyeleri arasındaki ilişki yine bu son çalışmada geniş olarak tartışılmıştır (103). Buna göre PAI-1' e duyarlı doğal ya da mutant t-PA' lar PAI-1 seviyelerinin yüksek olduğu durumlarda hızlı inaktivasyona bağlı olarak daha düşük etkinlik göstermektedir. Bu nedenle PAI-1' e dirençli antitrombolitiklerin kullanılması etkinlik artışı sağlayabilir.

Ek olarak artmış PAI-1 seviyeleri ile fibrinolitik sistem değişikliklerinin periferik arterlerdeki (104) aterotrombotik hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiş olmakla beraber veriler azdır.

2.6.PAI-1 GEN ÖZELLİKLERİ

İnsan PAI-1 geni 7. kromozom uzun kolu üzerinde (q21.3-q22) bulunmaktadır ve kistik fibrozis (CF) lokusuna komşudur. Dokuz ekzon içeren 12.2 kb büyüklüğünde bir gendir (105).

Promotor delesyon haritalama ile PAI-1 geninin ilk 187 bç' lik bölümünde güçlü doku spesifik bir promotor bölge bulunduğu gösterilmiştir (106). PAI-1 5'flanking DNA bölgesinde glukokortikoide cevap veren "enhancer" ve "Transforming Growth Faktör-β" (TGF-β)' ya cevap veren elementler tanımlanmıştır (106, 107).

İnsanlarda tanımlanmış 3.2 kb ve 2.2 kb uzunluğunda iki mRNA transkripti bulunmaktadır. Bu transkriptler, farklı alternatif splicing ve poliadenilasyon sonucunda üretilirler. Doku spesifik şekilde ifadelenir ve farklı şekillerde düzenlenirler (108). İnsanlarda bu iki transkriptin fonksiyonel öneminin ne olduğu bu alanda uzun zamandır varolan bir sorudur ve hala aydınlatılamamıştır. 3.2 kb uzunluğundaki PAI-1 transkripti birçok potansiyel AU zengin elemanlar içeren uzun bir 3'UTR' den oluşmaktadır (109). (AUUUA) pentamer kopyalarının varlığı nedeniyle 3.2 kb uzunluğundaki bu form 2.2 kb uzunluğundaki stabil formdan daha az stabildir (yarı ömrü 2.5-2.8h). İki mRNA çeşidi arasında cis-elemanların varlığı ya da yokluğu PAI-1' in posttranskripsiyonel düzenlenmesinde varyasyonlara neden olur. HepG2 hepatoma hücrelerinde "insülin like growth" faktör her iki PAI-1 mRNA çeşidini de stabilize eder. TGF- β ve insülin ise yalnızca 3.2kb PAI-1 mRNA formunun yarı ömrünü artırır (110, 111).

PAI-1' in post-transkripsiyonel kontrolü ile ilgili çalışılmış en iyi örnek cAMP yoluyla olmalıdır. cAMP analogları PAI-1 3'UTR reporter, gene siklik nükleotid bağımlı bir instabilite kazandırırken HTC rat hepatoma hücrelerinde PAI-1 mRNA düzeylerini düşürmektedir. PAI-1 "cAMP responsive sequence" (PAI-CRS) olarak adlandırılan bu instabilite elemanı klasik AU zengin sekansla ilişkili değildir (112,113).

Adipositlerde ise PAI-1 gen ifadenmesinin TNF, insülin, TGF- β tarafından protein kinaz-C (PKC) yoluyla uyarıldığı düşünülmektedir (114).

İn vivo ve in vitro PAI-1 gen ekspresyonu, örneğin endotoksin, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), VLDL, TGF- β ve diğer büyüme faktörleri, sitokinler, glukoz, insülin, diğer hormonlar ve proteinazlar gibi bir seri tetikleyici tarafından uyarılır (115).

Son dönemde, patolojik hipoksik durumlarda gözlenen hipoksinin, vasküler endoteldeki PAI-1 gen transkripsiyonunu ve protein üretimini "genistein-sensitive" tirozin kinazları içeren sinyal yolları aracılığıyla arttırdığı gösterilmiştir (116).

PAI-1 geni için promotor (5' terminal sonlanma) ve 3'untranslated (3' terminal sonlanma) bölgede tanımlanmış toplam 9 polimorfizm vardır (115). Tek baz değişimi polimorfizmi (-844, 9785, 11053, 12078 bç' de), tek nükleotid insersiyon/delesyon polimorfizmi (-675 bç' de), dinukleotid tekrar polimorfizmi (-153 ve 7843 bç' de), 9 nükleotid insersiyon/delesyon polimorfizmi (-11,320 bç' de) ve sınırlayıcı fragmant uzun polimorfizmi (HindIII) (Tablo2.2). Bu polimorfizimlerin varlığı PAI-1 üretiminde farklılıklara yol açmaktadır.

Tablo2.2.PAI-1 gen polimorfizmleri

Lokalizasyon	Baz çifti (bç)	Tip
Promoter	-844	G/A
	-675	4G/5G
	-153	CA(n)
Intron 4	7,843	CA(n)
Exon 8	9,785	G/A
3'UT	11,053	T/G
	11,320	±CGCGCCCC
	12,078	G/A
	18.9k	HindIII

En sık çalışılmış PAI-1 genetik varyantı, promotorun -675. pozisyonuna lokalize olan 4G/5G insersiyon/delesyon polimorfizmidir. Bu polimorfizm, 4 veya 5 guanin nükleotid dizisine neden olur (4G veya 5G) ve ortaya çıkan farklı alleller PAI-1 ifadenmesinde değişikliklere yol açar (117).

HindIII sınırlayıcı fragman ve (CA) dinukleotid tekrar sekanslarının VLDL, Lipoprotein (a) ve insüline cevap olarak gelişen PAI-1 sentezini etkilediği gösterilmiştir. Her iki polimorfizme bağlı olarak uyarıcılara karşı artmış bir cevap gelişmektedir (118). 5' transkripsiyon başlatıcı bölgenin 4G/5G polimorfizmi ise PAI-1 seviyelerini direkt olarak etkilemektedir (119). 5G allel hem transkripsiyon faktörüne hem baskılayıcı proteine bağlanırken 4G alleli sadece transkripsiyon faktörüne bağlanır ancak baskılayıcı proteini bağlamaz (120). Bu nedenle 4G alleli

için homozigot olan bireylerde daha yüksek PAI-1 düzeyleri gözlenir (121). Eriksson ve arkadaşları, 4G alleli için homozigot bireylerin 5G için homozigot olan bireylere göre belirgin olarak daha yüksek plazma PAI-1 seviyeleri sergilediğini göstermiştir. 4G alleli ve 4G/4G genotipi artmış plazma aktivitesi ile ilişkilidir (120).

Tek nükleotid değişimine bağlı PAI-1 transkripsiyon hızındaki artış sonucunda beliren plazma PAI-1 seviyelerindeki bu değişiklikler serebral iskemi, MI (122) ve obezite (123) gelişimi ile ilişkili olabilir. Bu fonksiyonel polimorfizmin, PAI-1 geninin sitokinler ve diğer stimulatör ajanlara cevabına ne tür etkileri olduğu ise bilinmemektedir. Bugüne kadar elde edilen kanıtlar şunu göstermektedir; 4G/5G polimorfizmi, PAI-1 geninin büyüme faktörleri ve sitokinlere olan cevabını etkilememektedir. İnsan arteriyel düz kas hücre kültürlerinde 4G/5G, 4G/4G ve 5G/5G genotiplerinde stimülanlara benzer şekilde cevap geliştiği ve benzer PAI-1 seviyeleri olduğu görülmüştür (115).

4G alleli ayrıca trigliseride genotip spesifik cevap verme özelliğine sahiptir. Bu nedenle hipertrigliseridemi de olan 4G/4G genotipe sahip bireylerde daha da yüksek PAI-1 seviyeleri bulunur (118). Bu karşılıklı etkileşim 4G/5G bölgesine bitişik olarak bulunan trigliserid-cevaplı bölgenin tanımlanması ile açıklanmaktadır (124).

3.HASTALAR VE YÖNTEM

Başkent Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğinde veya servisinde takip edilmiş olan, iskemik inme tanısı almış toplam 100 hasta çalışmaya dahil edildi.

Bu çalışma grubu bilgilendirilmiş onam formunu okuyarak çalışmaya katılmayı kabul edenler tarafından oluşturuldu. Klinik durumu nedeniyle kendisinden alınması mümkün olmayan hastaların onamı yakınlarından alındı.

İskemik inme tanısı klinik ve radyolojik olarak doğrulandı. Hemorajik inmeli hastalar ve oral antikoagülan kullanan, inme geliştiği dönemde aktif inflamasyonu veya malignensisi olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Tanı ve etiyolojiye yönelik yapılmış olan tüm nöroradyolojik incelemeler (BBT, beyin MRG, diffüzyon MRG, beyin MR Anjiyografi, boyun MR Anjiyografi), lipit profili, EKG, EKO, karotis doppler USG ve seçilmiş hastalarda yapılmış olan 24 saatlik EKG görüntüleme (HOLTER) tetkikleri değerlendirildi.

Tüm değerlendirmeler sonucunda hastalar, TOAST sınıflaması kullanılarak büyük damar aterosklerozu, küçük damar aterosklerozu ve kardiyoembolik enfarkt olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı.

Hasta grubuyla yaş açısından uyumlu, benzer risk faktörlerine sahip ancak herhangi bir serebrovasküler hastalık hikayesi bulunmayan 100 olgu ile de kontrol grubu oluşturuldu.

Tüm deneklerin demografik verileri, vasküler risk faktörleri ve almakta oldukları tedaviler belirlendi. Vasküler risk faktörü olarak kabul edilen etkenler aşağıdaki kriterlere göre belirlendi:

1- Obesite: kg/m^2 formülü kullanılarak elde edilen VKİ ≥ 30 olan olgular,

- 2- DM: DM öyküsü olan, oral antidiyabetik/insülin tedavisi alan olgular veya başvuru açlık kan şekeri 126 mg/dl, tokluk kan şekeri 200 mg/dl' nin üzerinde olan olgular,
- 3- HT: HT öyküsü olan ve/veya antihipertansif tedavi alan olgular,
- 4- Hiperlipidemi (HL): HL öyküsü alan ve/veya antihiperlipidemik tedavi alan hastalar veya başvuru sırasında total kolesterol düzeyi 200mg/dl üstünde olan olgular,
- 5- Sigara içimi: halen sigara içenler ve başvurudan 6 ay öncesine kadar içimini sürdürmüş olan olgular,
- 6- Alkol: düzenli alkol alımı olan olgular olarak belirlendi.
- 7- Kardiyak hastalık: KAH, AF, KKY, MI, kalp kapak hastalığı hastaların anamnez, fizik muayene, EKG, EKO ve varsa koroner anjiyografi incelemesi sonuçlarına göre belirlendi.

Tüm deneklerde PAI-1 4G/5G polimorfizmi araştırıldı. Üçü hasta grubunda, biri kontrol grubunda olmak üzere dört olgu genotip tayini yapılamaması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı.

3.1.PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Saptanması

3.1.1.Gereçler

3.1.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trizma Baz *Sigma T6066*, EDTA *Sigma E5134*, NaCl *Sigma S3014*, SDS *Sigma S3014*, Proteinaz K *Sigma P2308*, Fenol *Sigma P4557*, Kloroform *Sigma C2432*, İzoamilalkol *Sigma I-9392*, Agaroz *A5093*, Agaroz Wide Range/Standard 3:1 *Sigma A7431*, Tris-Asetat-EDTA Tamponu *Sigma T8280*, %100 EtOH (Riedel-de Haën), Primer (*Alpha DNA*), dNTP (*Roche 11814362001*), Taq DNA polimeraz

(Roche 11596594001), Cfol (Roche 10688541001), MbolI (MBI-Fer ER0822), BshNI (MBI-Fer ER1001), MgCl₂ (Sigma M1028), DMSO (Sigma D8418)

3.1.1.2. Tampon ve Çözeltiler

Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler:

10mM Tris-1mM EDTA çözeltisi:

Tris	25ml 0,2M Tris (242g Trizma Baz + 1L distile su; pH:8.0)
EDTA	1ml 0,5M EDTA (163,6g EDTA + 1L distile su; pH:8.0)
Distile su	474ml

1M NaCl

NaCl	1,45g
Distile su	25ml

%10 SDS

SDS	2,5g
Distile su	25ml

Fenol-Kloroform-İzoamilalkol (25:24:1)

Fenol	100ml
Kloroform	96ml
İzoamilalkol	4ml

%100 Etil Alkol

Proteinaz K (10mg/ml)

PZR'de kullanılan çözeltiler:

0,5X TAE tampon çözeltisi

Tris-Asetat-EDTA Tamponu	100ml
Distile Su	2lt

%10 DMSO

DMSO	10ml
Distile su	90ml

25mM MgCl₂

3.1.1.3.Kullanılan Alet ve Cihazlar

Kodak ENAS 290 görüntü analiz sistemi

Biorad yatay elektroforez tankı

Cleaver yatay elektroforez tankı

Biofuge stratos santifüj

Biofuge pico santrifüj

Nüve FN500 etüv

Nüve EN400 etüv

Thermolyne Maxi MixII vorteks

Bioer XP Thermal Cyclor

3.1.2.Yöntemler

5 ml periferik venöz kan alınarak 0,072 ml %7.5 K3-etilendiamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonu içeren standart tüplere tüpe konuldu. Alınan kan örnekleri soğuk zincir şartlarına uyularak DNA değerlendirilmeleri yapılmak üzere Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı laboratuvarlarına götürüldü.

3.1.2.1.Genomik DNA İzolasyonu

Fenol-Kloroform Ekstraksiyonu

1. 500µlt'lik kan örnekleri 1.5 ml'lik epperdorf tüplere konulur.
2. Üzerlerine 750µlt Tris-EDTA solüsyonu eklenerek çok iyi karışması sağlanır. 2.000 rpm'de 3 dk santrifüjlenir.
3. Üst faz atıldıktan sonra 2. tur lizis tamponu ile bir kez daha aynı yukarıda bahsedilen işlem tekrarlanır.
4. 3. ve 4. turlar için ise 500µlt Tris-EDTA solüsyonu eklenir ve 12.000 rpm'de 2 dk santrifüjlenir.
5. 4. tur sonunda üst faz atılır ve her bir tüpe;
 - 300µlt Tris-EDTA,
 - 150µlt 1M NaCl

- 150µlt %10'luk SDS
- 100µlt Proteinaz K eklenir.
- 6. 37°C'de 1 gece bekletilir.
- 7. Her bir tüpe 450µlt Fenol-Kloroform-İzoamilalkol eklenir ve vorteks yapılır.
- 8. 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj sonrasında üst faz yeni tüplere aktarılır.
- 9. 800µlt %100'lik Etil-Alkol eklenir.
- 10. 2-3 saat -20°C'de bekletildikten sonra 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir ve alkol fazı dökülür.
- 11. Alkolü tamamen uçurmak için tüpler kapakları açık bırakılarak 37°C'lik kuru blokta bekletilir.
- 12. DNA'lar 150µlt distile suda çözülerek kullanılacakları güne kadar -86°C'de bekletilir.

3.1.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve PAI-1 4G/5G genotipinin belirlenmesi

Hedef bölgeyi R: 5'-CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3' ve 5'F -CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3' primerleri kullanılarak gerçekleştirilen polimeraz zincir reaksiyonunu takiben BseL1 enzimi ile kesim yapılmıştır. %12 poliakrilamid jel elektroforezinde yürütüldükten sonra etidyum bromür ile boyanan jel UV'de incelenmeye alınmıştır. Kesim sonucunda 99 baz çiftli (bç) ampikon eğer 77+22 bç olarak iki parçaya kesilmişse 5G alleli, kesilmemiş ise (99bç) 4G alleli olarak değerlendirilmiştir (125).

3.2. İstatistik Analizler

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile grup varyanslarının homojenliği ise Levene testi ile kontrol edildi. Parametrik testlerin ön şartlarının yerine gelmediği görüldüğünden hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama, standart sapma ve ortanca değer olarak ifade edildi. Kategorik değişkenlerin analizinde ise Pearson ki-kare istatistiği ve Fisher Exact test kullanıldı. Sonuçlar n ve % olarak ifade edildi. Bağımsız değişkenler kümesi ve bağımlı değişken arasındaki ilişki ve Odds oranları Stepwise Binary Lojistik Regresyon analizi ile incelendi. Veri setinin analizinde SPSS 13.0 istatistik paket programı kullanıldı.

4.BULGULAR

Çalışma, Başkent Üniversitesi Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji servisinde iskemik inme tanısıyla izlenmiş 49 erkek (%49,5), 50 kadın (%50,5) toplam 99 hasta ve değişik nedenlerle nöroloji polikliniğine başvurmuş inme hikayesi olmayan 31 erkek (%32,0), 66 kadın (%68,0) toplam 97 kontrol üzerinden yapıldı. Kontrol grubunda kadınların oranı daha yüksekti ($p=0,014$). Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet açısından karşılaştırması Tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1.Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet dağılımı

	Hasta	Kontrol
Erkek n (%)#	49 (49,5)	31 (32,0)
Kadın n (%)	50 (50,5)	66 (68,0)
Toplam n (%)	99 (50,5)	97 (49,5)

#Grup içi yüzde

Hasta grubunda olguların yaşları 39-87 arasında, kontrol grubunda ise 43-90 arasında değişiyordu. Hasta grubunun yaş ortalaması $65,45\pm 10,79$, kontrol grubunun ise $69,31\pm 10,74$ idi. İki grup arasında yaş ortalaması açısından istatistiksel olarak fark yoktu ($p=0.21$).

Hasta ve kontrol grubu ayrıca VKİ, açısından da karşılaştırıldı. Hasta grubunda ortalama VKİ $28,47\pm 4,592$, kontrol grubunda $27,26\pm 3,422$ idi. Hasta grubunda 41 olguda (%41,4) VKİ>30 iken kontrol grubunda 30 olguda VKİ>30 idi. Her iki grup arasında VKİ değerleri açısından fark saptanmadı ($p=0,34$).

Grupların VKİ ve yaş ortalaması açısından karşılaştırması Tablo 4.2' de verilmiştir.

Tablo 4.2.Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve VKİ ortalaması

	Ortalama±Standart sapma (SD) Ortanca değer (OD), (min-max)		
	Hasta	Kontrol	p
Yaş (yıl)	65,45±10,794 67,00** (39-87)	69,31±10,743 70,00 (43-90)	0,21
VKİ (ort±SD)	28,47±4,592 28,41 (20-42)	27,26±3,422 27,06 (21-40)	0,34

*ort:Ortalama değer, SD:Standart deviasyon **ortanca değer

Hasta ve kontrol grupları iyi bilinen vasküler risk faktörleri açısından değerlendirildi. Hasta grubunda %41,4 oranında obesite, %82,8 HT, %63,6 HL, %22,2 DM, %34,3 KAH, %20,2 kalp kapak hastalığı ve %9,1 AF mevcuttu. Kontrol grubunda ise %30,9 oranında obesite, %78,4 HT, %44,3 HL, %24,7 DM, %18,6 KAH, %9,3 kalp kapak hastalığı ve %4,1 AF belirlendi. HL, KAH ve kalp kapak hastalığı hasta grubu içinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik gösterdi (p=0,010, p=0,015, p=0,043).

Hasta ve kontrol grubu ayrıca sigara ve alkol içiciliği oranları açısından da karşılaştırıldı. Hasta grubunda %21,2 oranında sigara içiciliği ve %5,1 oranında düzenli alkol alımı mevcuttu. Bu oranlar kontrol grubunda %11,3 ve %4,1 şeklindeydi. Her iki parametre açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu (p=0,81, p=1,000)

Hasta ve kontrol grubunun vasküler risk faktörleri açısından karşılaştırılması Tablo 4.3' te gösterilmiştir.

Tablo 4.3.Hasta ve kontrol grubunun vasküler risk faktörleri açısından karşılaştırılması

	İskemik inme (n=99)	kontrol (n=97)	p
Obesite n (%)#	41 (41,4)	30 (30,9)	0,139
Sigara n (%)	21 (21,2)	11 (11,3)	0,081
Alkol n (%)	5 (5,1)	4 (4,1)	1,000
Hipertansiyon n (%)	82 (82,8)	76 (78,4)	0,473
Hiperlipidemi n (%)	63 (63,6)**	43 (44,3)	0,010
Diyabet n (%)	22 (22,2)	24 (24,7)	0,737
Koroner arter hastalığı n (%)	34 (34,3)*	18 (18,6)	0,015
Kalp kapak hastalığı n (%)	20 (20,2)*	9 (9,3)	0,043
Atriyal fibrilasyon n (%)	9 (9,1)	4 (4,1)	0,251

#grup içi yüzdeler *p<0.05 **p<0.01

Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösteren parametrelerin risk oranları hesaplandı. Erkeklerin kadınlara göre iskemik inme geçirme olasılığının 2,278 kat daha fazla olduğu belirlendi. HL' si olanların olmayanlara göre 2,042 kat, KAH' ı olanların 2,255 kat ve kapak hastalığı olanların 3,049 kat daha fazla iskemik inme riski taşıdığı görüldü. Gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren parametrelerin lojistik regresyon analizi sonuçları Tablo 4.4' te özetlenmiştir.

Tablo 4.4.Risk Oranları

	Odds Oranı	%95 Güven Aralığı
Erkek	2,278	0,235-0,820
HL	2,042	1,088-3,833
KAH	2,25	1,89-4,667
Kapak hastalığı	3,049	1,249-7,44

İskemik inme grubundaki 7 (%7,1) hastada tekrarlayan inme ve 13 (13,1) hastada geçirilmiş MI hikayesi mevcuttu. İskemik inme grubundaki hastaların vasküler risk faktörlerinin cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.5' de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. İskemik inme grubunda vasküler risk faktörlerinin cinsiyete göre dağılımı

	Kadın	Erkek	p
Sigara n (%)#	11 (22,0)	10 (20,4)	1,000
Alkol n (%)	1 (2,0)	4 (8,2)	0,204
Obesite n (%)	20 (48,8)	21 (51,2)	0,840
Hipertansiyon n (%)	43 (86,0)	39 (79,6)	0,436
Hiperlipidemi n (%)	33 (66,0)	30 (61,2)	0,679
Diyabet n (%)	10 (20,0)	12 (24,5)	0,635
KAH n (%)	5 (30,0)	19 (38,8)	0,402
Kapak hastalığı n (%)	13 (26,0)	7 (14,3)	0,211
Atrial fibrilasyon n (%)	3 (6,0)	6 (12,2)	0,318
Tekrarlayan inme n (%)	3 (6,0)	4 (8,2)	0,715
MI n (%)	6 (12,0)	7 (14,3)	0,774

#grup içi oran

Hastalarda inme alt tipleri TOAST kriterlerine göre belirlendi. 43 (43,4) hasta küçük damar aterosklerozuna bağlı, 37 (%37,4) hasta büyük damar aterosklerozuna bağlı inme ve 19 (%19,2) hasta kardiyembolik (KE) inme olarak değerlendirildi. İnme alt grupları arasında cinsiyet açısından fark yoktu ($p=0,077$). İnme alt grupları ve cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.6' de özetlenmiştir.

Tablo 4.6.İskemik inme alt grupları (TOAST Sınıflaması)

	KDAS	BDAS	KE
Erkek n (%)	23 (23,2)	21 (21,2)	5 (5,1)
Kadın n (%)	20 (20,2)	16 (16,2)	14 (14,1)
TOPLAM n (%)	43 (43,4)	37 (37,4)	19 (19,2)

KDAS:küçük damar hastalığı, **BDAS:**büyük damar hastalığı, **KE:**kardiyoembolik inme

İnme alt grupları vasküler risk faktörlerinin dağılımı açısından karşılaştırıldı. Atriyal fibrilasyon oranı kardiyoembolik inme grubunda anlamlı olarak yüksekti (p=0,00). Diğer risk faktörleri açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. İnme alt gruplarında vasküler risk faktörlerinin dağılımı tablo 4.7' de özetlenmiştir.

Tablo 4.7.İskemik inme alt gruplarında vasküler risk faktörlerinin dağılımı

Vasküler risk faktörleri	KDAS (n=43)	BDAS (n=37)	KE (n=17)	p
Sigara (%)	7 (16,3)	13 (35,1)	1 (5,3)	0,20
Alkol (%)	4 (9,3)	1 (2,7)	0	0,217
Obesite (%)	23 (53,5)	23 (62,2)	12 (63,2)	0,66
Hipertansiyon (%)	36 (83,7)	31 (83,8)	15(78,9)	0,883
Hiperlipidemi (%)	26 (60,5)	26 (70,3)	11 (57,9)	0,560
Diyabet (%)	13 (30,2)	5 (13,5)	4 (21,1)	0,198
Koroner arter hastalığı (%)	14 (32,6)	13 (35,1)	7 (36,8)	0,940
Kalp kapak hastalığı (%)	6 (14,0)	8 (21,6)	6 (31,6)	0,271
Atriyal fibrilasyon (%)	1 (2,3)	1 (2,7)	7 (36,8)***	0,000
İskemik inme hikayesi (%)	2 (4,7)	4 (10,8)	1 (5,3)	0,531
Miyokard enfarktüsü hikayesi (%)	4 (9,3)	5 (13,5)	4 (21,1)	0,449

KDAS:küçük damar hastalığı, **BDAS:**büyük damar hastalığı, **KE:**kardiyoembolik inme ***p<0.001

Tüm olgularda PAI-1 genotipinin iskemik inme ve kontrol grubundaki dağılımı belirlendi. Kontrol grubunda %32,0 olguda 4G/4G, %26,8 olguda 5G/5G ve %41,2 olguda 4G/5G PAI-1 polimorfizmi saptandı. Hasta grubunda ise PAI-1 gen polimorfizmi oranları %23,2 4G/4G, %30,3 5G/5G ve %46,5 4G/5G şeklindeydi. İskemik inme ve kontrol grubu arasında PAI-1 genotiplerinin dağılımı açısından fark yoktu (p=0,393).

Küçük damar aterosklerozuna bağlı inme grubunda %27,9 oranında 4G/4G, %20,9 5G/5G ve %51,2 4G/5G polimorfizmi mevcuttu. Büyük damar aterosklerozuna bağlı iskemik inmelerin %21,6'sı 4G/4G, %35,1'i 5G/5G ve %43,2'si 4G/5G polimorfizmine sahipti. Kardiyembolik inmelerde ise oranlar %15,8 4G/4G, %42,1 5G/5G ve %42,1 4G/5G olarak belirlendi. PAI-1 gen polimorfizimlerinin dağılımı açısından iskemik inme alt grupları arasında fark yoktu (p=0,453).

PAI-1 genotipinin kontrol, iskemik inme ve alt gruplarındaki dağılımı Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. PAI-1 genotipinin gruplara göre dağılımı

Gruplar	N*	PAI-1 polimorfizmi		
		4G/4G	5G/5G	4G/5G
İnme				
KDAS n (%) ¹	43	12 (27,9)	9 (20,9)	22 (51,2)
BDAS n (%) ¹	37	8 (21,6)	13 (35,1)	16 (43,2)
KE n (%) ¹	19	3 (15,8)	8 (42,1)	8 (42,1)
Toplam inme n (%) ²	99	23 (23,2)	30 (30,3)	46 (46,5)
Kontrol n (%) ²	97	31 (32,0)	26 (26,8)	40 (41,2)

*toplam TOAST ve genotip, ¹inme grubu içindeki yüzde, ²tüm gruplar içindeki yüzde.

KDAS: küçük damar hastalığı, **BDAS:** büyük damar hastalığı, **KE:** kardiyembolik inme

PAI-1 genotiplerinin erkek ve kadınlar arasındaki dağılımı istatistiksel olarak fark göstermiyordu ($p=0,920$). PAI-1 gen polimorfizmlerinin cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.9' da gösterilmiştir.

Tablo 4.9.PAI-1 genotipinin cinsiyete göre dağılımı

	PAI-1 gen polimorfizmi		
	4G/4G	5G/5G	4G/5G
Kontrol n (%)			
Kadın	23 (34,8)	15 (22,7)	28 (42,4)
Erkek	8 (25,8)	11 (35,8)	12 (38,7)
Hasta n (%)			
Kadın	11(22,0)	16 (32,0)	23 (46,0)
Erkek	12 (24,5)	14 (28,6)	23 (46,9)
Toplam n (%)			
Kadın	34 (29,3)	31 (26,7)	51 (44,0)
Erkek	20 (25,0)	25 (31,2)	35 (43,8)

Vasküler risk faktörlerinin 4G/4G, 5G/5G ve 4G/5G PAI-1 gen polimorfizimleri arasındaki ilişki araştırıldı. DM ve genotip dağılımı arasında anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p=0,032$). 4G/5G polimorfizmine sahip bireylerde DM birlikteliği anlamlı derecede yükseklik gösterirken diğer vasküler risk faktörleri ile PAI-1 genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Vasküler risk faktörlerinin PAI-1 gen polimorfizimleri içindeki dağılımı ve yüzdeleri Tablo 4.10' de gösterilmiştir.

Tablo 4.10.PAI-1 genotiplerinin vasküler risk faktörleri açısından karşılaştırılması

Vasküler risk faktörleri	4G/4G (n=54)	5G/5G (n=56)	4G/5G (n=86)	p
Sigara n (%)	6 (11,1)	8 (14,3)	18 (20,9)	0,275
Alkol n (%)	2 (3,7)	5 (7,1)	3 (3,5)	0,558
Obesite n (%)	9 (22,0)	8 (19,5)	24 (58,5)	0,085
Hipertansiyon n (%)	46 (85,2)	44 (78,2)	68 (79,1)	0,606
Hiperlipidemi n (%)	35 (64,8)	26 (46,4)	45 (52,3)	0,140
Diyabet n (%)	6 (11,1)*	14 (25,0)*	26 (30,2)*	0,032
Koroner arter hastalığı n (%)	19 (35,2)	14 (25,0)	19 (22,1)	0,222
Kalp kapak hastalığı n (%)	7 (13,0)	10 (17,9)	12 (14,0)	0,738
Atriyal fibrilasyon n (%)	4 (7,4)	5 (8,9)	4 (4,7)	0,584
Tekrarlayan inme n (%)	1 (4,3)	2 (6,7)	4 (8,7)	0,798
Miyokard enfarktüsü n (%)	3 (13,0)	4 (13,3)	6 (13,0)	0,999

*p<0.05

5.TARTIŞMA

İskemik inme günümüzde ölüm ve uzun dönem sakatlığa yol açan nedenlerin başında gelmektedir. Klasik vasküler risk faktörlerine yönelik geliştirilen koruyucu tedavi yaklaşımları iskemik inmeyi önlemede yeterli olmamaktadır. İnsan genomunun ve hastalık biyolojisinin tanımlanması bireye özel koruyucu hekimlik stratejilerinin geliştirilmesini sağlayabilir. Hastalık patogenezinin moleküler genetik temelinde tekrar tanımlanması yüksek hastalık riski taşıyan bireyleri saptamamıza olanak tanıyacaktır. Böylelikle bireye özel yaklaşımlar ile hem daha etkin koruyucu ve tedavi edici yöntemler geliştirilebilir hem de çoklu tedavi stratejilerine bağlı yan etkiler azaltılabilir.

Biz bu çalışmamızda PAI-1 4G/5G polimorfizminin iskemik inme riski üzerine etkisini araştırdık. Çalışmamız vaka-kontrol çalışması şeklinde dizayn edildi. Genler ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlayan bir çok genetik çalışmada, bizim çalışmamızda olduğu gibi, vaka-kontrol çalışması kullanılmaktadır (126). Genetik epidemiyolojide vaka-kontrol yaklaşımının tercih edilmesinin nedeni hastalık-gen arasındaki ilişkide host duyarlılığını güvenilir bir şekilde belirlemede kullanışlı bir yöntem olmasıdır. Kohort çalışmaları ise daha pahalı olmakla beraber başlangıç yaşı dağılımını ve çok sayıda hastalığın prognozunu belirlemede daha avantajlıdır.

PAI-1 4G/5G polimorfizminin iskemik inme ile ilişkisine dair pek çok çalışma vardır. Sonuçlar çalışmadan çalışmaya farklılık göstermektedir ve bu konudaki yayınlar birbiriyle çelişkilidir. İskemik inme ve 4G/5G genotipi arasında ilişki olmadığını bildiren araştırmacılara ek olarak bu ilişkinin pozitif veya negatif yönde olduğunu bildiren araştırmacılar da bulunmaktadır. Ancak çalışmaların bütününde bildirilen tüm etkiler 4G alleli için daha belirgindir (127).

Biz çalışmamız sonucunda PAI-1 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G genotipleri ile iskemik inme riski arasında bir ilişki saptayamadık. Bu genotiplerin hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Ayrıca iskemik inme alt grupları -küçük damar hastalığı, büyük damar ateroskleroza ve

kardiyoembolik inme- arasında da PAI-1 genotiplerinin dağılımı belirgin bir fark göstermiyordu.

Bizim bu bulgularımız ile uyumlu olarak PAI-1 gen polimorfizmi ile inme arasında ilişki olmadığını bildiren pekçok çalışma vardır (127, 128, 129, 130, 131, 132). Ding ve ark. yaklaşık 70-79 yaş arasındaki 3000 kişi ile yürüttükleri prospektif çalışmada 4G/4G, 4G/5G ya da 5G/5G genotiplerinin hiçbirisiyle MI ya da iskemik inme arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (129). Jeppesen ve arkadaşları insersiyon/insersiyon genotipinin daha düşük, delesyon/delesyon genotipinin daha yüksek PAI-1 plazma seviyesi ve aktivitesiyle ilişkili olduğunu saptamışlardır. Ancak bu farklılıkların iskemik inme riskini arttırdığı ya da azalttığına dair bir sonuç elde edememişler ve bu polimorfizmlerin inme gelişimine katkıda bulunmadığını bildirmişlerdir (133). Yine bu çalışmalarla uyumlu olarak Catto ve arkadaşları PAI-1 aktivitesi ve 4G/4G polimorfizminin iskemik inme ve mortalite üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında 4G/4G genotipinin yüksek PAI-1 aktivitesi ilişkili olduğunu ancak PAI-1 gen polimorfizimlerinin iskemik inme ve mortaliteyle ilişkisiz olduğunu bildirmişlerdir (131).

2007' de yayınlanan bir meta analizin sonuçları yine bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyum göstermektedir. Bu meta analizde Tsantes ve arkadaşları Ocak-2006' ya kadar yapılan tüm çalışmaları taramış sonuçta 15' i vaka-kontrol ve 3' ü kohort olmak üzere toplam 18 çalışmayı değerlendirmeye almıştır. Bu değerlendirme sonucunda PAI-1 4G/5G polimorfizmi ile iskemik inme arasında belirgin bir ilişki saptayamamışlardır. Bununla beraber MI riskinde artış belirlemişlerdir. Bu gözlemin iki hastalığın farklı patogeneze sahip olduğuna dair bir delil teşkil edebileceğinin altını çizmişlerdir (134).

Koagülasyon sistemi ve fibrinolitik sistem arasındaki dinamik denge trombotik cevabın belirlenmesinde önemlidir. Bu trombotik cevap yani trombus oluşumu ve eritilmesi ise MI ve iskemik inme gibi hastalıklardaki anahtar patolojik mekanizma gibi görünmektedir. Trombus yayılımının kontrolü fibrinolizisin temel mediyatörleri, t-PA ve onun inhibitörü PAI-1 arasındaki karşılıklı etkileşim ile olmaktadır. Fibrinolitik sistemin dengesine etki eden herhangi bir faktör inmeye neden olabilir.

Bununla beraber t-PA ve PAI-1' in üretimini etkileyen genetik ve çevresel etkenler ve bunların inme patogenezindeki yeri henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Artmış t-PA ve PAI-1 seviyelerinin her ikisinin de MI (135, 136, 137, 138, 139) ve iskemik inme (140) riskini arttırdığına dair yayınlar bulunmaktadır. Bu proteinler ile MI ve iskemik inme arasında bir ilişki olması muhtemeldir ancak bu ilişkiye dair açıklamalar çelişkilidir. t-PA ve PAI-1 karşıt etkilere sahip olmakla beraber etkileri büyük oranda birbiriyle bağlantılıdır. Klinik çalışmalarda bu ikisinin etkisini birbirinden ayırmak ve ayrı ayrı değerlendirmek neredeyse imkansızdır (135,136).

PAI-1 4G/5G polimorfizminin inme veya KVH üzerine etkisi PAI-1' in koruyucu veya hasarlandırıcı etkisi teorileri üzerine temellendirilmiştir ve her zaman t-PA ile birlikte yorumlanmıştır.

Benchenane ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada PAI-1 4G/4G genotipinin inmeye karşı koruyucu etkisi olduğunu gözlemlemiş ve bu etkiyi astrositlerdeki yüksek PAI-1 ekspresyonuna atfetmişlerdir. Bu araştırmacılar PAI-1' in, nöronları t-PA' nın yıkıcı etkilerinden koruduğunu öne sürmektedirler (140).

Yakın dönemde Hoekstra ve arkadaşları PAI-1 4G/5G polimorfizminin yaşlı bireylerdeki MI, GIA ve iskemik inme gelişimine katkısını araştırdıkları prospektif bir çalışma yürütmüşlerdir. 4G/4G genotipinde belirgin yüksek plazma PAI-1 seviyeleri saptamış ve bu genotipe sahip bireylerde inme sıklığının anlamlı olarak düşük olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçtan yola çıkarak 4G allelinin özellikle homozigot bireylerde MI ve İS riskine karşı koruyucu olabileceğini belirtmişlerdir. Yine yüksek plazma PAI-1 seviyelerine sahip 5G allel taşıyıcılarında ise inme riskinin dikkat çekici düzeyde yüksek olduğunu saptamışlardır. 4G/5G genotipindeki PAI-1 yüksekliğinin genetik regulasyon yanında insülin direnci, inflamatuvar süreçlerin bir sonucu olabileceğini ya da serebrovasküler hastalığın bir parçası olarak belirmiş olabileceğini tartışmışlardır. Ayrıca 4G/5G polimorfizmi ve PAI-1 arasındaki genotip-fenotip ilişkisinin zayıf olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak 4G allelinin yüksek plazma PAI-1 aktivitesi ve daha düşük inme riski ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun PAI-1' in antifibrinolitik etkisine rağmen plak stabilizasyonu ve t-PA' nın inflamasyon bölgesindeki

nötralizasyonuna bağlı olarak geliştiği yorumunu yapmışlardır (141). Yine Endler ve arkadaşları (132) ve Hindroff ve arkadaşları (130) çalışmalarında benzer sonuçlara ulaşmıştır.

4G/4G homozigotluluğunun inme riskini azalttığına dair görüş hala spekülatiftir. Ancak bulgular vasküler patolojik yolun fibrinolizisi içermediğine işaret etmektedir. t-PA ve u-PA' nın matriks metalloproteinazları (MMP) aktive ettiği ve MMP' lerin ise aterosklerotik plaktaki fibröz kapsülün yıkılmasını sağladıkları bilinmektedir. Böylece aterosklerotik plak yırtılmakta ve tıkaçıcı enfarkt oluşmaktadır (142, 143). Aterosklerotik plak içinde ve çevresinde t-PA seviyelerinin ve aktivitesinin artmış olduğunun gösterilmesi t-PA' ın bu mekanizmada anahtar rol üstlendiğini düşündürmektedir (142, 143). Bu bağlamda PAI-1' in t-PA inhibisyonu yoluyla bu mekanizmayı önlediği söylenebilir.

Saidi ve arkadaşları 2007' de yaptıkları bir vaka-kontrol çalışmasının sonuçları da bu görüşü destekler niteliktedir. Çalışma sonucunda iskemik inme grubundaki hastaların 4G/5G polimorfizmiyle ilişkili olarak daha yüksek PAI-1 ve daha düşük t-PA seviyeleri sergilediklerini ve 4G/5G, 4G/4G genotipinin 5G/5G ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak inme riskini azalttığını belirlemişlerdir (144).

Alternatif bir açıklama PAI-1' in ekspresyonundaki artışın beyin dokusundaki PAI-1 konsantrasyonunu da değiştirdiği ve buna bağlı olarak laminin yıkımının önlenmesidir. t-PA' nın neden olduğu laminin yıkılmasının önlenmesi beyin ölümüne karşı koruyucu bir etki sağlayabilir (145, 146). Yüksek t-PA seviyelerinin farelerde nontrombotik iskemik enfarkt boyutlarında artış yarattığını gösteren deneyler bu teoriyi destekler niteliktedir (147).

Yine Roest ve arkadaşları tarafından yapılan 52-67 yaş arasındaki postmenapozal 12239 kadın ile yaptıkları kohort çalışması bu yorumu destekler niteliktedir. Bu çalışmada denekler 16-18 yıl takip edilmiş ve 4G/5G polimorfizminin MI ve iskemik inme mortalitesi üzerindeki etkisi araştırılmış. 4G/5G genotipi ile total KVH ve fatal MI arasında bir ilişki bulunamamış. Buna karşılık iskemik inme mortalitesinde; 4G/4G genotipi 5G homozigot ile karşılaştırıldığında belirgin, 4G/5G ile karşılaştırıldığında sınırda belirgin risk azalması ile ilişkili

bulunmuş. 4G/5G genotipi ile diğer risk faktörleri ve KVH arasında ise bir etkileşim saptanmamış (148). Bu çalışma inme hastalarının BBT/MR görüntülemeleri ile iskemi ve kanama ayrımının yapılmaması nedeniyle Elbaz tarafından eleştirilmiştir. Ancak Roest buna cevaben beyin dokusundaki laminin yıkımının her iki inme tipinde de mortaliteyi etkileyen bir faktör olduğunu ve total inme mortalitesi ile PAI-1 genotipleri arasındaki ilişkinin anlamlı olduğunu savunmuştur.

Bu görüşlerin aksine PAI-1' in artmasına bağlı olarak normal fibrin klerensinin bozulduğunu ve buna bağlı iskemik inme riskinin arttığını iddia eden azımsanmayacak miktarda araştırmacı bulunmaktadır. Bu araştırmacılara göre ateroskleroz ortamında PAI-1 yüksekliğine bağlı gelişen fibrin birikimi trombotik olaylara neden olmaktadır (149, 150).

Bizim bulgularımızın aksine Attia ve arkadaşları, 1966 ve 2006 yılları arasında hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması temelinde yapılmış PA-1 gen mutasyonları ve inme ilişkisini araştıran tüm çalışmalarını derledikleri ve kendi çalışma sonuçlarını da ekledikleri meta analiz yapmışlardır. Bu araştırmaların çoğunu anlamlı sonuçlar çıkarmak için istatistiksel açıdan zayıf olarak nitelendirmişlerdir. Toplam 46 çalışma belirlenmiş ancak bunların 12 tanesi meta analize uyumlu bulunmuş. Toplamda yaklaşık 2500 hasta ve 3500 kontrolü kapsayan bu çalışmaların değerlendirilmesi sonucunda PAI-1 gen polimorfizimleri ve iskemik inme sıklığı arasında güçlü bir ilişki olduğu belirlenmiş. Ancak farklı populasyonlarda farklı allelerin anlamlılık gösterdiğini ve bu durumu gruplar arasındaki koruyucu ve riski arttırıcı faktörlerin farklılığı ile açıklamışlardır (151).

1500 hasta ve 2000 kontrolü içeren toplam 9 çalışmanın değerlendirildiği bir başka meta analizde PAI-1 4G/5G polimorfizmine sahip bireylerde MI riskinde hafif bir artış olduğu gözlenmiştir (152). Simmonds ve arkadaşlarının yaptığı ve vaka-kontrol çalışmalarını kapsayan meta analizde de bu genotipe bağlı olarak inme riskinde artış olduğu tespit edilmiştir (153).

Bir diğer meta analizde ise, daha önce belirtilen sonuçların aksine 4G/4G genotipine sahip bireylerin artmış iskemik inme riskine sahip olduğu bildirilmiştir.

Ancak Cassas ve arkadaşları tarafından yapılan bu meta analiz sadece 4 çalışmayı içermektedir (154).

Biz çalışmamızda PAI-1 4G/5G polimorfizminin iskemik inme riskine olan katkısını PAI-1 düzeylerinden bağımsız olarak değerlendirmeyi amaçladık. Genetik belirteçler başka faktörlerden etkilenmemesi ve sirkadyen değişiklikler göstermemesi nedeniyle avantajlara sahiptir. Ayrıca 4G alleli PAI-1 transkripsiyonunun artması nedeniyle plazma PAI-1 düzeyinin artışı sağlayan bağımsız risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Pek çok çalışma sonucunda 4G/4G genotipinin homozigot 5G ile karşılaştırıldığında daha yüksek plazma PAI-1 seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. 4G/5G genotipi ise daha ortalama değerler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (155). Bu durum 4G allelinin sadece transkripsiyon aktivatör proteinlere 5G allelinin ise hem inhibitör hem aktivatör proteinlere bağlanması ile açıklanmaktadır (156).

PAI-1 gen polimorfizmleri ile plazma PAI-1 düzeyleri arasındaki ilişki son dönemde neredeyse kanıtlanmış düzeyde genel kabul görmesine rağmen 4G/5G polimorfizmi ve PAI-1 seviyeleri arasındaki genotip-fenotip ilişkisi tam olarak açıklanmış değildir (132). Bu polimorfizmlerin doğası polimorfizmlere olan yanıtla daha doğru şekilde tanımlanabilir. Bunun anlamı 4G ve 5G genotiplerinin PAI-1 seviyelerinde yarattığı farklılığın PAI-1 ifadenmesi üzerinde etkili diğer faktörlerin varlığında daha belirgin olabileceğidir (132).

Metabolik sendrom bileşenleri (obesite, tip II DM, dislipidemi, HT) gibi bir çok vasküler risk faktörünün plazma PAI-1 düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir (138, 139, 140). Ancak yazarlar plazma PAI-1 düzeylerinde daha belirleyici olan faktörün metabolik durumlar ya da genetik faktörler olduğu noktasında da görüş ayrılığı içindedir. Yine bazı metabolik süreçlerde gözlenen artmış PAI-1 düzeylerinin bir sonuç mu yoksa genetik süreçlerinde katıldığı bir sebep mi olduğu ayrıca bir tartışma konusudur.

Bizim çalışmamızdaki denekler ileri yaş grubunda olmalarından kaynaklı olarak sıklıkla birden fazla vasküler risk faktörüne sahipti. Deneklerde ayrıca çoklu ilaç kullanımı da yüksek orandaydı. Bu faktörler plazma PAI-1 düzeylerini etkilemiş ve

bu durum iskemik inme gelişimine etki ederek bizim sonuçlarımıza yansımış olabilir. Ayrıca vasküler risk faktörlerine maruziyet süresi, şiddeti ve risk faktörlerine karşı etkin tedavilerin alınıp alınmaması bağlı olarak plazma PAI-1 seviyelerinden bağımsız olarak inme gelişimi etkilenmiş ve sonuçlarımızı değiştirmiş olabilir.

Çalışmamızdaki kontrol grubu hasta grubuyla benzer vasküler risk faktörlerine sahip bireylerden oluşturuldu. Vasküler risk faktörlerinin dağılımı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu bu nedenle her iki grubun da benzer oranda iskemik inme riski taşıdığını söylenebilir. Bu faktörler göz önüne alındığında PAI-1 genotipinin inme ile ilişkisinin metabolik süreçlerden ve plazma PAI-1 düzeylerinden bağımsız olarak yorumlanması anlamlı olacaktır.

İnme araştırmalarında çeşitli gruplar farklı hasta popülasyonu üzerinde çalışmaktadır. Buna karşılık homojen hasta gruplarının değerlendirilmesi ve klinik grupların iyi belirlenmesi sonuçların daha sağlıklı olmasını sağlayacaktır (155).

Araştırmacıların büyük çoğunluğu çalışmalarında inme grubunu baz almaktadır. Bazı araştırmacılar ise GİA ya da karotis intima kalınlaşması temelinde çalışmayı tercih etmiştir. Hatta bir çok çalışmada iskemik inme ve MI grupları bir arada değerlendirilmiştir. Biz çalışmamızda klinik ve radyolojik olarak doğrulanmış iskemik inmesi olan hasta grubunu bazal koşullar altında değerlendirmeyi tercih ettik. Belirgin bir küçük damar hastalığı ya da büyük damar ateroskerozu olmaksızın gelişen tromboembolizm iskemi etiyolojisinde sıklıkla yer almaktadır. Bu nedenle sadece ateroskleroz zemininde gelişen inmeleri içeren spesifik hasta grubunda çalışmak sonuçların yorumlanmasını kolaylaştırmakla beraber diğer etiyolojilere bağlı iskemik inmeleri büyük oranda dışlamamıza sebep olacaktır. Hasta grubumuzun çok sayıda etiyolojik inme gruplarını içermemekle beraber tek bir inme tipinden oluşturulmamış olması sonuçlarımızın yorumlanmasını güçleştirmektedir.

Ayrıca çalışmamızdaki denek sayısının az olması istatistik gücünü zayıflatmakta ve sonuçlarımızın genel popülasyona adapte edilmesini zorlaştırmaktadır. Genetik araştırmalarda bu şekildeki küçük gruplarla çalışmanın bazı özel dezavantajları

vardır. Bu dezavantajlardan biri birçok genetik mutasyonun ya da polimorfizmin genel populasyonda düşük prevalansa sahip olmasıdır. Bu durumlarda gen etkisinin gösterilebilmesine yönelik anlamlı istatistik gücünün oluşturulabilmesi için daha büyük örneklem boyutlarında çalışmak gerekmektedir. Özellikle subgrup analizleri de yapılıyorsa ve çalışılan belirteç diğer genetik ve/veya çevresel faktörlerle etkileşiyorsa bu daha da önemli olmaktadır (155). Bu bağlamda PAI-1 gen polimorfizmi bizim toplumumuzda düşük frekans gösteriyor ve bu nedenle istatistiksel olarak sonuç çıkarma gücünü zayıflatıyor olabilir. Bu çalışmamızdaki sonuçların anlamsız çıkmasıyla ilgili bir açıklama olabilir.

Sonuçlarımızın güvenilirliğini etkileyen bir başka faktör ise deneklerin ayrıntılı etnik değerlendirmesinin yapılmamış olmasıdır. Genetik varyantlar etnik gruplar arasında büyük farklılıklar gösterebilmektedir. FV Leiden, protrombin variant, MTHFR C677T ve eNOS polimorfizimleri bu özellikler açısından bilinen en iyi örneklerdir (155). PAI-1 allellerinin de farklı etnik gruplar arasında değişkenlikler gösterdiği bilinmektedir. Etnik olarak heterojenite gösteren popülasyonlarda yanlış pozitif ilişki saptanması da muhtemeldir. Eğer genetik belirtecin frekansı popülasyonu oluşturan gruplar arasında farklılık gösteriyorsa bu belirteç hastalık fenotipiyle gerçekte olduğundan daha fazla ilişkiliymiş gibi görünebilir.

Ayrıca bazı polimorfizmlerin riske katkısının ancak diğer çevresel faktörlerin varlığında ortaya çıktığı bilinmektedir. Örneğin faktör V ve protrombin varyantları ancak sigara içisi kadınlarda aterotromboza katkıda bulunmaktadır (156). Yine β -fibrinojen gen varyantına bağlı fibrinojen yüksekliği sadece sigara içicilerinde risk artışına sebep olmaktadır (157). MTHFR 677TT genotipine bağlı homosistein yüksekliği ise sigara içiciliği ve hipertansiyona bağlı risklere sinerjistik katkıda bulunmaktadır (155). Bu mutasyon için homozigot olan bireylerde ancak folik asit eksikliği olması durumunda yüksek plazma homosistein seviyelerine rastlanması çevresel faktörlerin genetik vasküler risk faktörleri üzerine etkisini gösteren iyi bir örnektir. PAI-1 gen polimorfizmlerinin de çevresel faktörler ile benzer bir ilişki içinde olması muhtemeldir.

Arteriyel trombotik hastalıklar temelindeki gen-gen ilişkisi de aynı şekilde dikkat çekicidir. Bu etkileşim bir gen içinde çok sayıdaki polimorfizm veya farklı

molekülleri kodlayan farklı genler arasında olabilir. Çalışmalar, haplotip analizleri açıkça riskte artışı gösterirken gendeki bireysel polimorfizmlerin hastalık riski ile ilişkili olmayabileceğini ispatlamışlardır. Haplotip içindeki çok sayıdaki polimorfizmin tek bir etkileşimi biyolojik fenotipi ve sonucu etkileyebilir ancak yalnız başına bir polimorfizm hastalığın belirlenmesinde uygun rol oynamayabilir. Eş zamanlı olarak tek gende veya farklı genlerde ortaya çıkan polimorfizmler arteriyel trombozun patogenezinde ortaya çıkan etkiyi daha da karmaşık hale getirmektedir. Son olarak, PAI-1 4G/5G polimorfizmi doğrudan hastalığa yatkınlıkla ilişkili olmayıp, aynı gende ya da yakındaki bir gende bulunan asıl fonksiyonel polimorfizmle veya mutasyonla “linkage disequilibrium” gösteriyor olabilir (155).

Biz çalışmamızda PAI-1 polimorfizminin inme ile ilişkisini bazal koşullar altında değerlendirdik. Mevcut çalışmaların büyük çoğunluğu bazal koşullarda değerlendirme yapmayı tercih etmiştir ve akut hastalık dönemlerinde yapılmış pek az çalışma vardır. Kardiyak cerrahi ve subaraknoid kanama sonrasında yapılmış az sayıdaki çalışmada 4G allel taşıyıcılarında artmış iskemik inme riski gözlenmiştir. Akut hastalık dönemlerinde PAI-1 akut faz reaktanı olarak belirmektedir. Bu durumda fibrinolizis bozulur ve mikrotrombüs oluşumu önlenemez. Bu stres durumundaki PAI-1 yüksekliğinin 4G allel taşıyıcılarında daha da belirgin olduğu bulunmuştur. Ancak mevcut veriler ışığında bu teori hakkında yorumda bulunmak henüz mümkün değildir. Yine de PAI-1 genotipinin stres durumunda veya sonrasında rolü dikkat çekicidir ve ilerdeki çalışmaların konusu olabilir.

Çalışmamızdaki yaş ortalaması hasta grubunda 64 kontrol grubunda ise 69 idi ve gruplar genel olarak yaşlı bireylerden oluşmaktaydı. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla beraber kontrol grubunda kadın cinsiyet daha yüksek frekanstaydı. Bu durum sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Ancak vasküler risk faktörlerinin cinsiyetler arasındaki dağılımının eşit olması, tüm kadın deneklerin postmenapozal dönemde olması ve cinsiyet allel ilişkisinin belirgin olmaması nedeniyle bu etkinin, sonuçları yorumlamada çok belirleyici olmayacağı düşünülebilir.

Bizim çalışmamızın sonuçları yaşlı bireyler için kullanılabilir olmakla beraber populasyonun geneline uygulanamaz. 4G alleli ile MI ve inme riskini araştıran yaşlı bireylerle yapılan çalışmalarda bu ilişki zayıf çıkmaktadır. 4G/5G polimorfizminin içindeki 4G alleleline sahip bireylerde MI veya iskemik inme geçirme riski daha yüksek ise bunun yaşlı bireylerle yapılan çalışmalarda belirlenmesi ölüm ve disabilite nedeniyle g olabilir. PAI-1 gen polimorfizminin MI ya da iskemik inme üzerindeki etkisi varsa bu etkinin yaşlı insanlarda gerçekten de daha zayıf olması da ihtimal dahilindedir ve bu etki belki de belirli populasyonlarda daha belirgin olmaktadır. Yine hem plazma PAI-1 düzeylerinde hem de diğer fibrinolitik sistem elemanlarında yaşa bağlı değişikliklerin ortaya çıkıyor olması nedeniyle ileri yaş populasyonuyla çalışmak yanıltıcı olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamız PAI-1 gen polimorfizmlerinin etkilerini saptamak konusunda sınırlı bir etkinliğe sahiptir. PAI-1' in fonksiyonel olarak belirlenmesi 4G/5G polimorfizminin belirlenmesinden daha fazla klinik önem taşıyor olabilir. Diğer regülatuar mekanizmalar (örneğin; PAI-1 seviyelerini etkileyebilecek diğer polimorfizmlerin veya genlerin varlığı ve bunların PAI-1 4G/5G polimorfizmi ile gösterdikleri olası "linkage disequilibrium") bu polimorfizimin etkisini maskeliyor olabilir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

İnme, dünyada ve ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Gelişmiş ülkelerde inmeye bağlı ölüm oranlarında düşüş bildirilmesine karşın ülkemizde hala büyük oranda ölümler sonuculanmaktadır. Ayrıca tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yetişkinlerdeki uzun süreli sakatlık sebebi olarak önemini korumaktadır. Neden olduğu sakatlıklara bağlı olarak ciddi finans ve iş gücü kaybına yol açmasının yanında etkilenen bireylerin yaşam kalitesinde ciddi bir düşüşe neden olmaktadır. Bu nedenle tedavi stratejilerinin geliştirilmesi yanında etkin koruyucu yöntemlerin geliştirilmesi de aynı derecede önem taşımaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar koruyucu hekimliğin geliştirilmesi amacıyla uygun şekilde etiyolojiye yönelik inme için yeni risk faktörlerinin tanımlanmasına odaklanmıştır. İnsan genomuna yönelik bilgilerimizin hızla arttığı bu dönemde inmeye yatkınlık oluşturan genetik faktörlerin saptanması ve bireye özgü etkin koruyucu hekimlik stratejilerinin geliştirilmesi mümkün görünmektedir.

Bizim çalışmamızın amacı, bu genetik faktörlerden biri olabilecek PAI-1 4G/5G polimorfizminin iskemik inme riskine olan etkisini araştırmaktır.

Bu amaçla oluşturduğumuz hasta ve kontrol grupları arasında ve hasta alt grupları arasında PAI-1 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G genotiplerinin dağılımı açısından fark saptayamadık. Bu sonuçlar ışığında PAI-1 gen polimorfizmlerinin iskemik inme gelişimine katkıda bulunmadıkları söylenebilir. Ancak çalışmamızdaki kısıtlılıklara bağlı olarak bu sonuçların genele yayılması mümkün değildir ve bu sonuçlarımızın doğrulanması için daha büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

İleriki dönemlerde araştırmacılar uygun yaş gruplarında oluşturulan benzer vaka-kontrol çalışmaları ile gen-inme ilişkisini araştırabilir. Ayrıca hasta altgrupları kendi çevresel risk faktörü profiline göre belirlenebilir ve spesifik genetik varyantların pencerelemesi yapılabilir. Tüm bunlar dikkate alınarak yapılacak geniş tabanlı prospektif çalışmalar daha güvenli sonuçlar verecektir.

Gelecekteki araştırmalar aterotromboz ve arteriyel trombotik hastalık gelişiminin altında yatan bu gen-gen ve gen-çevre etkileşimindeki karmaşık patobiyolojiyi açıklamaya odaklanmalıdır.

Arıca PAI-1 gen polimorfizmleri özelinde, 4G allelinin akut stres durumlarındaki iskemik inme riski üzerine olan etkisinin, diğer prokoagölan faktörler ile sinerjistik etkileşimine bağlı olduğunu düşündüren bulgular vardır. Bu bilgiler ışığında yapılacak genotip inme ilişkisini araştıran çalışmaların ek inflamasyon veya akut hastalık bağlamında da değerlendirilmesi gerektiği söylenebilir.

7.KAYNAKLAR

1. Bonita R. Epidemiology of stroke. *Lancet*. 339: 342-344, 1992.
2. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. *Stroke* 24:35–41; 1993.
3. Kullo IJ., Gau GT., Tajik AJ. Novel risk factors for atherosclerosis. *Mayo Clin Proc*. 75:369–380; 2000.
4. Yamada Y. Identification of Genetic Factors and Development of Genetic Risk diagnosis Systems for Cardiovascular Diseases and Stroke. *Circ J* 70: 1240-1248, 2006.
5. Voetsch B., Loscalzo J. Genetic Determinants of Arterial Thrombosis *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24;216-229; 2004.
6. Huber K. Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 (Part One): Basic Mechanisms, Regulation, and Role for Thromboembolic Disease. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*; 11(3);183–193; 2001.
7. Festa A, D' Agostino R Jr, Rich SS, Jenny NS, Tracy RP, Haffner SM. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator inhibitor-1 levels in blacks, Hispanics and non-Hispanic whites: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 107:2422–2427; 2003.
8. Simmonds RE, Hermida J, Rezende SM, Lane DA. Haemostatic genetic risk factors in arterial thrombosis. *Thromb Haemost.* 86:374–385; 2001.
9. Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global burden of Disease study. *Lancet*, 349: 1269- 1276, 1997.

10. Bonita R, Stewart A, Beaglehole R. International trends in stroke mortality: 1970- 1985. *Stroke*; 21: 989-992, 1990.
11. Report of the WHO Task Force on Stroke and other Cerebrovascular Disorders. Recommendations on stroke prevention, diagnosis, and therapy. *Stroke*; 20: 1407- 1431, 1989.
12. Rothwell PM, Coull AJ, Giles MF, Howard SC, Silver LE, Bull LM, Gutnikov SA, Edwards P, Mant D, Sckley CM, Farmer A, Sandercock PA, Dennis MS, Warlow CP, Bamford JM, Anslow P. Change in stroke incidence, mortality, case fatality, severity, and risk factors in Oxfordshire, UK from 1981 to 2004 (Oxford Vascular Study). *Lancet*; 363: 1925-1933, 2004.
13. Allan H. Ropper, Robert H. Brown. *Adams and Victor's Principles of Neurology*, Eighth Edition.
14. Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, Ho M, Howard V, Kissala B, Kittner S, Lloyd-Jones D, McDermott M, Meigs J, Moy C, Nichol G, O'Donnell CJ, Roger V, Rumsfeld J, Sorlie P, Steinberg J, Thom T, Wasserthiel-Smoller S, Hong Y. Heart Disease and stroke statistics-2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*; 115: 69-171, 2007.
15. Williams GR, Jiang JG, Matchar DB, Samsa GP. Incidence and occurrence of total (first-ever and recurrent) stroke. *Stroke*; 30: 2523-2528, 1999.
16. Feigin VL, Lawes CM, Bennet DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol*; 2: 43-53, 2003.
17. Broderick J, Brott T, Kothari R, Miller R, Khoury J, Pancioli A, Gebel J, Mills D, Minneci L, Shukla R. The Greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study: preliminary first-ever and total incidence rates of stroke among blacks. *Stroke*; 29: 415-421, 1998.

18. Chalmers J, Tood A, Chapman N, Beilin L, Davis S, Donnan G, Frommer M, Huxley R, Lenfant C, MacMohan S, Mancia G, Mendis S, Whitworth J, Zanchetti A. International Society of Hypertension (IHS): statement on blood pressure lowering and stroke prevention. *J Hypertens*; 21: 651-663, 2003.
19. Mohr JP, Choi WD, Grotta TC, Weir B, Wolf PA. Epidemiology of stroke; Stroke Pathophysiology, Diagnosis and Management . Fourth edition. (Wolf PA ed.) Churchill Livingstone, 17-18, 2004.
20. Deplanque D, Corea F, Arquizan C, Parnetti L, Mas JL, Gallai V, Leys D. Stroke and atrial fibrillation: is stroke prevention treatment appropriate beforehand? SAFE I Study Investigators. *Heart*; 82: 563-569, 1999.
21. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Brushnell CD, Culebras A, DeGraba TJ, Gorelick PB, Guyton JR, Hart RG, Howard G, Kelly-Hayes M, Nixon JV, Sacco RL. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation*; 113: e873-923, 2006.
22. Arboix A, Miguel M, Ciscar E, Garcia-Eroles L, Massons J, Balcells M. Cardiovascular risk factors in patients aged 85 or older with ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg*; 108: 638-643, 2006.
23. Goldstein LB, Adams R, Becker K, Furberg CD, Gorelick PB, Hademenos G, Hill M, Howard G, Howard VJ, Jacobs B, Levine SR, Mosca L, Sacco RL, Sherman DG, Wolf PA, del Zoppo GJ. Primary prevention of ischemic stroke: A statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. *Circulation*; 103: 163-182, 2001.
24. Ferro JM. Cardioembolic stroke: an update. *Lancet Neurol*; 2: 177-188, 2003.

25. Sacco RL. Pathogenesis, classification, and epidemiology of cerebrovascular disease. In *Merritt's Neurology*. Ed: Rowland LP. Tenth Edition. Lippincott Williams & Wilkins. 2000.
26. Walter G. Bradley RBD, Gerald M. Fenichel, David Marsden. *Neurology in Clinical Practice*, Third Edition ed: Butterworth-Heinemann, 2000.
27. Cholesterol, diastolic blood pressure, and stroke: 13,000 strokes in 450,000 people in 45 prospective cohorts. Prospective studies collaboration. *Lancet*; 346: 1647-1653, 1995.
28. Burchfiel CM, Curb JD, Rodriguez BL, Abbott RD, Chiu D, Yano K. Glucose intolerance and 22-year stroke incidence. The Honolulu Heart Program. *Stroke*; 25: 951-957, 1994.
29. Amarenco P, Labreuche J, Touboul PJ. High-density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: A systematic review. *Atherosclerosis*, 2007.
30. Neiman J, Haapaniemi HM, Hillbom M. Neurological complications of drug abuse: pathophysiological mechanisms. *Eur J Neurol*; 7: 595-606, 2000.
31. Suk SH, Sacco RL, Boden-Albala B, Cheun JF, Pittman JG, Elkind MS, Paik MC. Abdominal obesity and risk of ischemic stroke: the Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke*; 34: 1586-1592, 2003.
32. Sacco RL. Newer risk factors for ischemic stroke. *Neurology*; 57: 31-34, 2001.
33. Kutluk K. İskemik inme, I. Baskı. İzmir: Nobel Tıp Kitapevleri, 1-8, 2004.
34. Utku U, Çelik Y. Strokta etiyoloji, sınıflandırma ve risk faktörleri, Serebrovasküler Hastalıklar (Balkan S ed.). Güneş Kitabevi, 2002.

35. Kiely DK, Wolf PA, Cupples LA, Beiser AS, Myers RH. Familial aggregation of stroke. The Framingham Study. *Stroke*; 24: 1366-1371, 1993.
36. Humphries SE, Morgan L. Genetic risk factors for stroke and carotid atherosclerosis: insight into pathophysiology from candidate gene approaches. *Lancet Neurol*; 3: 227-235, 2004.
37. Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB., Gordon DL, Marsh EE, 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*; 24:35-41, 1993.
38. Zorio E, Gilabert-Estelles J, Espana F, Ramon LA, Cosin R, Estelles A. Fibrinolysis: The Key to New Pathogenetic Mechanisms. *Current Medicinal Chemistry*, 15/9, 923-929.3.1.
39. Van Meijer M, Pannekoek H. Structure of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and its function in fibrinolysis: an update. *Fibrinolysis* 9:263–276; 1995.
40. Hoffman R., Shattil E. J., Furie B., Cohen H. J., Silberstein L. E., McGlave P. Hematology Basic Principles and Practice, Third ed.
41. Stefansson, S., Haudenschild, C. C., and Lawrence, D. A. Beyond Fibrinolysis: The Role of Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Vitronectin in Vascular Wound Healing *Trends Cardiovasc. Med.*, 8, 175-180; 1998.
42. Nicoloso G, Hauert J, Kruithof EK, Van Melle G, Bachmann F. Fibrinolysis in normal subjects--comparison between plasminogen activator inhibitor and other components of the fibrinolytic system. *Thromb Haemost.* 8:59(2):299-303;1988.
43. B. Dobrovolsky and E. V. Titaeva. The Fibrinolysis System: Regulation of Activity and Physiologic Functions of Its Main Components. *Biochemistry*, 57(1) : 99-108;2002.

44. Pennica, D., Holmes, W. E., Kohr, W. J., Harkins, R. N., Vehar, G. A., Ward, S. A., Bennett, W. F., Yelverton, E., Seeburg, P. H., Heyneker, H. L., Goeddel, D. V., and Collen, D. *Nature* 301, 214-221;1983.
45. Lambers, J. W. J., Cammenga, M., Konig, B. W., Mertens, K., Pannekoek, H., and van Mourik, J. A. *J Biol Chem* 262: 17492-17496;1987.
46. Rezaie AR. Vitronectin functions as a cofactor for rapid inhibition of activated protein C by plasminogen activator inhibitor-1: implications for the mechanism of profibrinolytic action of activated protein C. *J Biol Chem* 276:567-70;2001.
47. Booth NA, Simpson AH, Croll A, Bennett B, MacGregor IR. Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br J Haematol* 70: 327- 333; 1998.
48. Fay WP, Eitzman DT, Shapiro AD, Madison EL, Ginsburg D. Platelets inhibit fibrinolysis in vitro by both plasminogen activator-dependent and independent mechanisms. *Blood* 83:351-356; 1994.
49. Stringer HA, van Swieten P, Heijnen HF, Sixma JJ, Pannekoek H. Plasminogen activator inhibitor-1 released from activated platelets plays a key role in the thrombolysis resistance: studies with thrombi generated in the Chandler loop. *Arterioscler* 4:1452-1458; 1994.
50. P. W. M. Hermans and Jan A. Hazelzet. Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 Gene Polymorphism and Sepsis. *Clinical Infectious Diseases* 41:S453-8; 2005.
51. Dieval J, Nguyen G, Gross S, Delobel J, Kruithof EK. A lifelong bleeding disorder associated with a deficiency of plasminogen activator inhibitor type 1. *Blood* 77:528-532; 1991.
52. Dawson S, Henney A. The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease. *Atherosclerosis* 95:105-117;1992.

53. Rallidis LS, Megalou AA, Papageorgakis NH, Trikas AG, Chatzidimitriou GI, Tsitouris GK. Plasminogen activator inhibitor 1 is elevated in the children of men with premature myocardial infarction. *Thromb Haemost* 76:417–421; 1996.
54. Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb* 11:183–190; 1991.
55. Falk G, Almquist A, Nordenhem A, Svensson H, Wiman B. Allele specific PCR for detection of a sequence polymorphism in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene. *Fibrinolysis* 9:170–174; 1995.
56. Margaglione M, Capucci G, d'Addetta M, et al. PAI-1 plasma levels in a general population without clinical evidence of atherosclerosis. Relation to environmental and genetic determinants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:562–567; 1998.
57. Wiman B. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost* 74:71–76; 1995.
58. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Miletich JP. Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* 95:59–62; 1997.
59. Henry M, Tregouet DA, Alessi MC, et al. Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphisms in determining the PAI-1 activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:84–91; 1998.
60. Pyörä K, Laakso M, Uusitupa M. *Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view.* *Diabetes Metab Rev* 3:463–524; 1987.

61. Gray RP, Panahloo A, Mohamed-Ali V, Patterson DL, Yudkin JS. Proinsulin-like molecules and plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) activity in diabetic and non-diabetic subjects with and without myocardial infarction. *Atherosclerosis* 130:171–178; 1997.
62. Alessi MC, Juhan-Vague I, Kooistra T, Declerck PJ, Collen D. Insulin stimulates the synthesis of plasminogen activator inhibitor 1 by the human hepatocellular cell line HepG2. *Thromb Haemost* 60:491–494; 1988.
63. Sakata K, Miho N, Shirotani M, Yoshida H, Takada A. Remnant-like particle cholesterol in coronary artery disease: correlation with plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Fibrinol Proteol* 12:123–127; 1998.
64. Nordt TK, Sawa H, Fujii S, Sobel BS. Induction of plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) by proinsulin and insulin in vivo. *Circulation* 91:764–770; 1995.
65. Seljeflot I, Eritsland J, Torjesen P, Arnesen H. Insulin and PAI-1 levels during oral glucose tolerance test in patients with coronary heart disease. *Scand J Clin Lab Invest* 54:241–246; 1994.
66. Sobel BE, Woodcock-Mitchell J, Schneider DJ, Holt RE, Marutsuka K, Gold H. Increased plasminogen activator inhibitor type 1 in coronary artery atherectomy specimens from type 2 diabetic compared with nondiabetic patients. A potential factor predisposing to thrombosis and its persistence. *Circulation* 97:2213–2221; 1998.
67. Festa A, D'Agostino R, Mykka"nen L, et al. Relative contribution of insulin and its precursors to fibrinogen and PAI-1 in a large population with different states of glucose tolerance. *Arterioscler Thromb Biol* 19:562–568; 1999.

68. Grant PJ, Stickland MH, Booth NA, Prentice CRM. Metformin causes a reduction in basal and postvenous occlusion plasminogen activator inhibitor-1 in type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 8:361–365; 1991.
69. Zehetgruber M, Christ G, Gabriel H, et al. Effect of antihypertensive treatment with doxazosin on insulin sensitivity and fibrinolytic parameters. *Thromb Haemost* 79:378–382; 1998.
70. Fujii S, Sobel BE. Direct effects of gemfibrozil on the fibrinolytic system. *Circulation* 85:1888–1893; 1992.
71. Grancha S, Estelle's A, Tormo G, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) promoter 4G=5G genotype and increased PAI-1 circulating levels in postmenopausal women with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 81:516–521; 1999.
72. Gebara OCE, Mittleman MA, Sutherland P, et al. Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic potential in the Framingham offspring study. *Circulation* 91:1952–1958; 1995.
73. Kilbourne EJ, Scicchitano MS. The activation of plasminogen activator inhibitor-1 expression by IL-1b is attenuated by estrogen in hepatoblastoma hepG2 cells expressing estrogen receptors. *Thromb Haemost* 81:423–427; 1999.
74. Legnani C, Maccaferri M, Tonini P, Cassio A, Cacciari E, Coccheri S. Reduced fibrinolytic response in obese children: association with high baseline activity of the fast acting plasminogen activator inhibitor (PAI-1). *Fibrinolysis* 2:211–214; 1988.
75. Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, et al. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med* 2:800–803; 1996.

76. Van Harmelen V, Wahrenberg H, Eriksson P, Arner P. Role of gender and genetic variance in plasminogen activator inhibitor-1 secretion from human adipose tissue. *Thromb Haemost* 83:304–308; 2000.
77. Folsom AR, Quamhieh HT, Wing RR, et al. Impact of weight lost on plasminogen activator inhibitor (PAI-1), factor VII, and other hemostatic factors in moderately overweight adults. *Arterioscler Thromb* 13:162–169; 1993.
78. Juhan-Vague I, Alessi MC. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. *Thromb Haemost* 78:656–660; 1997.
79. Brown NJ, Nadeau J, Vaughan DE. Stimulation of tissue-type plasminogen activator in vivo by infusion of bradykinin. *Thromb Haemost* 77:522–525; 1997.
80. Van Leeuwen RTJ, Kol A, Andreotti F, Klufft C, Maseri A, Sperti G. Angiotensin II increases plasminogen activator inhibitor type I and tissue-type plasminogen activator messenger RNA in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Circulation* 90: 362–368; 1994.
81. Nishimura H, Tsuji H, Masuda H, et al. The effects of angiotensin metabolites on the regulation of coagulation and fibrinolysis in cultured rat aortic endothelial cells. *Thromb Haemost* 82:1516–1521; 1999.
82. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Sourbrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounts for half of the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 86:1343–1346; 1990.
83. Cambien F, Poirier O, Lecercp L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 359:641–644; 1992.

84. Margaglione M, Grandone E, Vecchione G, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) antigen plasma levels in subjects attending a metabolic ward – relation to polymorphisms of PAI-1 and angiotensin converting enzyme (ACE) genes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2082–2087; 1997.
85. Zehetgruber M, Beckmann R, Gabriel H, Christ G, Binder BR, Huber K. Comparative cross-over study of the effects of lisinopril and doxazosin on insulin, glucose and lipoprotein metabolism and the endogenous fibrinolytic system. *Fibrinolysis* 11:153–158; 1997.
86. Mukamal KJ, Jadhav PP, D'Agostino RB, et al. Alcohol consumption and hemostatic factors: analysis of the Framingham Offspring cohort. *Circulation* 104:1367–73; 2001.
87. Vaisanen SB, Humphries SE, Luong LA, Penttila I, Bouchard C, Rauramaa R. Regular exercise, plasminogen activator inhibitor–1 (PAI-1) activity and the 4G/5G promoter polymorphism in the PAI-1 gene. *Thromb Haemost* 82:1117–20; 1999.
88. Woodhouse PR, Meade TW, Khaw KT. Plasminogen activator inhibitor–1, the acute phase response, and vitamin C. *Atherosclerosis* 133:71–6; 1997.
89. Sayer JW, Gutteridge C, Syndercombe-Court D, Wilkinson P, Timmis AD. Circadian activity of the endogenous fibrinolytic system in stable coronary artery disease: effects of beta-adrenoreceptor blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 32:1962–1968; 1998.
90. Tabernero MD, Estelle's A, Vicente V, Alberca J, Aznar J. Incidence of increased plasminogen activator inhibitor in patients with deep venous thrombosis and/or pulmonary embolism. *Thromb Res* 56:565–570; 1989.
91. Paramo JA, Alfaro MJ, Roche E. Postoperative changes in the plasmatic level of tissue-type plasminogen activator and its fast-acting inhibitor: relationship to

- deep vein thrombosis and influence of prophylaxis. *Thromb Haemost* 54:713–716; 1985.
92. Juhan-Vague I, JV, Alessi MC, et al. Deficient t-PA release and elevated PA inhibitor levels in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 57: 67–72; 1987.
93. Erickson LA, Fici GJ, Lund JE, Boyle TP, Polites G, Marotti KR. Development of venous occlusions in mice transgenic for the plasminogen activator inhibitor-1 gene. *Nature* 346:74–76; 1990.
94. Lang IM, Moser KM, Schleef RR. Elevated expression of urokinase-like plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 during the vascular remodeling associated with pulmonary thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:808–815; 1998.
95. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation* 94:2057–2063; 1996.
96. Thøgersen AM, Jansson J, Boman K, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women. *Circulation* 98:2241–2247; 1998.
97. Hamsten A, DeFaire U, Walldius G, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 2:3–9; 1987.
98. Huber K, Resch I, Rosc D, Schuster E, Glogar D, Binder BR. Circadian variation of plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma of patients with unstable coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 60:372–376; 1988.

99. Doggen CJM, Bertina RM, Manger Cats V, Reitsma PH, Rosendaal FR. The 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is not associated with myocardial infarction. *Thromb Haemost* 82:115–120; 1999.
100. Gardemann A, Lohre J, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W. The 4G=4G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. *Thromb Haemost* 82:1121–1126; 1999.
101. Anvari A, Turel Z, Schuster E, Sarantopoulos O, Gottsauner-Wolf M, Huber K. PAI-1 gene polymorphism in patients with coronary artery disease and malignant ventricular arrhythmias. *PACE* 22 (abstract); 1999.
102. Mikkelsen J, Perola M, Wartiovaara U, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G=5G polymorphism, coronary thrombosis, and myocardial infarction in middle-aged Finnish men who died suddenly. *Thromb Haemost* 84:78–82; 2000.
103. Huber K. Plasminogen activator inhibitor type-1 (part two): Role for failure of thrombolytic therapy. PAI-1 resistance as a potential benefit for new fibrinolytic agents. *J Thromb Thrombolysis* 27:1066–1071; 2001.
104. Smith FB, Lee AJ, Rumley A, Fowkes FGR, Lowe GDO. Tissue-plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor and risk of peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 115:35–43; 1995.

105. Klinger KW, Winqvist R, Riccio A, et al: Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21.3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:8548-8552, 1987.
106. Van Zonneveld AJ, Curriden SA, Loskutoff DJ: Type 1 plasminogen activator inhibitor gene: Functional analysis and glucocorticoid regulation of its promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:5525-5529, 1988.
107. Follo M, Ginsburg D: Structure and expression of the human gene encoding plasminogen activator inhibitor, PAI-1. *Gene* 84:447-453, 1989.
108. Bosma PJ, van den Berg EA, Kooistra T, Siemieniak DR, Slightom JL. Human plasminogen activator inhibitor-1 gene. Promoter and structural gene nucleotide sequences. *J Biol Chem* 263: 9129-41; 1988.
109. Bosma PJ, Kooistra T. Different induction of two plasminogen activator inhibitor 1 mRNA species by phorbol ester in human hepatoma cells. *J Biol Chem* 266: 17845-9; 1991.
110. Tillmann-Bogush M, Heaton JH, Gelehrter TD. Cyclic nucleotide regulation of PAI-1 mRNA stability. Identification of cytosolic proteins that interact with an a-rich sequence. *J Biol Chem* 274:1172-9.51; 1999.
111. Heaton JH, Kathju S, Gelehrter TD. Transcriptional and posttranscriptional regulation of type 1 plasminogen activator inhibitor and tissue type plasminogen activator gene expression in HTC rat hepatoma cells by glucocorticoids and cyclic nucleotides. *Mol Endocrinol* 6: 53-60; 1992.

112. Pandey M, Loskutoff DJ, Samad F. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor- α -mediated plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipocytes. *FASEB J* 19: 1317–9; 2005.
113. Carole A Foy, Peter J Grant, Genes and the development of vascular Disease, *Postgrad Med* 73: 271-278; 1997.
114. Thomas K. Nordt, Jens Lohrmann and Christoph Bode, Regulation of PAI-1 Expression by Genetic Polymorphisms Impact on Atherogenesis; *Thrombosis Research* 103:S1–S5; 2001.
115. Uchiyama T, Kurabayashi M, Ohyama Y, et al. Hypoxia induces transcription of the plasminogen activator inhibitor-1 gene through genistein-sensitive tyrosine kinase pathways in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:1155–1161; 2000.
116. Carole A Foy, Peter J Grant, Genes and the development of vascular Disease, *Postgrad Med* 73: 271-278; 1997.
117. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries SE, Henney AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 268:10739–45; 1993.

118. Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-i locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 11: 183-90; 1991.
119. Eriksson P, Kallin B, van't Hooft FM, Ba^ovenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:1851–5; 1995.
120. Ossei-Gerning N, Mansfield MW, Stickland MH, Wilson IJ, Grant PJ. plasminogen activator inhibitor- 1 promoter 4G=5G genotype and plasma levels in relation to a history of myocardial infarction in patients characterized by coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:33–37; 1997.
121. Hoffstedt J, Andersson IL, Persson L, Isaksson B, Arner P. The common)675 4 G/5 G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is strongly associated with obesity. *Diabetologia* 45: 584–7; 2002.
122. Panahloo A, Mohamed-Ali V, Lane A, Green F, Humphries SE, Yudkin JS. Determinants of the plasminogen activator inhibitor-I activity in treated NDDM and its relation to a polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 gene. *Diabetes* 44: 37-42; 1995.
123. Nordt TK, Eschenfelder E, PeterK, Sobel BE, Bode C. Independence of growth factor induced plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1)

expression from the 4 G/5 G polymorphism of the PAI-1 gene. *Thromb Haemost* 90: 36–42; 2003.

124. van Zonneveld AJ, Curriden SA, Loskutoff DJ: Type 1 plasminogen activator inhibitor gene: Functional analysis and glucocorticoid regulation of its promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:5525-5529, 1988.
125. Kinik ST, Ozbek N, Yuce M, Yazici AC, Verdi H, Ataç FB. : PAI-1 gene 4G/5G polymorphism, cytokine levels and their relations with metabolic parameters in obese children. *Thromb Haemost*. 2008 Feb;99(2):352-6.
126. Khoury MJ. Genetic epidemiology. In: Rothman KJ, Greenland S, editors. *Modern epidemiology*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; p. 611; 1998.
127. Elbaz A, Cambien F, Amarenco P. Plasminogen activator inhibitor genotype and brain infarction. *Circulation* 103:13-4.18; 2001.
128. Heijmans BT, Westendorp RG, Knook DL, et al. Angiotensin I converting enzyme and plasminogen activator inhibitor-1 gene variants: risk of mortality and fatal cardiovascular disease in an elderly population-based cohort. *J Am Coll Cardiol* 34:1176 – 83; 1999.
129. Ding j, Nicklas B.J., Fallin M.D., Rekeneire N, Kritchevsky S, Pahor M., Rodondi N, Li R., Zmuda J.M., Harris T.B. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphisms and haplotypes are associated with plasma plasminogen activator inhibitor type 1 levels but not with myocardial infarction or stroke. *Am Heart J* 152:1109-1115; 2006.

130. Hindorff LA, Schwartz SM, Siscovick DS, et al. The association of PAI-1 promoter 4G/5G insertion/deletion polymorphism with myocardial infarction and stroke in young women. *J Cardiovasc Risk* 9:131 -7; 2002.
131. Catto AJ, Carter AM, Stickland M, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphism and levels in subjects with cerebrovascular disease. *Thromb Haemost* 77:730-4; 1997.
132. Endler G, Lalouschek W, Exner M, et al. The 4G/4G genotype at nucleotide position _675 in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) gene is less frequent in young patients with minor stroke than in controls. *Br J Haematol* 110:469-71; 2000.
133. Jeppesen L.L, Wilhelmsen K, Nielsen L., Jorgensen H.S, Nakayama H., Raaschou H.O, Nielsen J.D., Olsen T., Winther K. An Insertion/Deletion Polymorphism in the Promoter Region of the Plasminogen Activator Inhibitor-1 Gene is Associated With Plasma Levels But Not With Stroke Risk in the Elderly. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 7, 385-390; 1998.
134. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Tsiara C, Kapsimali V, Travlou A, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of ischemic stroke: a meta-analysis *Blood Coagul Fibrinolysis* 18:497-504; 2007.
135. Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet* 341:1165-1168; 1993.

136. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med* 332:635–641; 1995.
137. Juhan Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: ECAT Study Group: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation* 94:2057–2063; 1996.
138. Ye S, Green FR, Scarabin PY, Nicaud V, Bara L, Dawson SJ, Humphries SE, Evans A, Luc G, Cambou JP. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study: Etude Cas-Temoins de l'Infarctus du Myocarde. *Thromb Haemost* 74:837–841; 1995.
139. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Manson JE, Vaughan DE. Prospective study of endogenous tissue plasminogen activator and risk of stroke. *Lancet* 343:940–943; 1994.
140. Benchenane K, Lopez-Atalaya JP, Fernandez-Monreal M, Touzani O, Vivien D. Equivocal roles of tissue-type plasminogen activator in stroke-induced injury. *Trends Neurosci* 27:155–160; 2004.

141. Hoekstra T, Geleijnse JM, Klufft C, et al. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduced risk of stroke in elderly. *Stroke* 34:2822-8; 2003.
142. Shah PK, Falk E, Badimon JJ, Fernandez Ortiz A, Mailhac A, Villareal Levy G, Fallon JT, Regnstrom J, Fuster V. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 92:1565-1569; 1995.
143. Fuster V, Fallon JT, Nemerson Y. Coronary thrombosis. *Lancet* 348 (suppl 1):s7-s10; 1996.
144. Saidi S, Slamia L.B., Mahjoub T., Ammou S.B., and Almawi W.Y. Association of PAI-1 4G/5G and -844G/A Gene Polymorphism and Changes in PAI-1/tPA Levels in Stroke: A Case-Control Study *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 16(4):153-159; 2007.
145. Chen ZL, Strickland S. Neuronal death in the hippocampus is promoted by plasmin-catalyzed degradation of laminin. *Cell* 91:917-925; 1997.
146. Tsirka SE, Bugge TH, Degen JL, Strickland S. Neuronal death in the central nervous system demonstrates a non-fibrin substrate for plasmin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94:9779-9781; 1997.

147. Wang YF, Tsirka SE, Strickland S, Stieg PE, Soriano SG, Lipton SA. Tissue plasminogen activator (tPA) increases neuronal damage after focal cerebral ischemia in wild-type and tPA-deficient mice . *Nat Med* 4:228–231; 1998.
148. Roest M, van der Schouw YT, Banga JD, et al. Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated with decreased risk of cerebrovascular mortality in older women. *Circulation* 101:67 - 70. 16; 2000.
149. Kohler HP, Grant PJ. Mechanisms of disease: plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 342:1792–1801; 2000.
150. Van Meijer M, Pannekoek H. Structure of plasminogen-activator inhibitor type 1 (PAI-1) and its function in fibrinolysis: an update. *Fibrinolysis* 9:263–276; 1995.
151. Attia J, Thakkinstian A, Wang Y, Parsons M, Sturm J, McGettigan P, Scott R, Meldrum J, Levi C. The PAI-1 4G/5G Gene Polymorphism and Ischemic Stroke:An Association Study and Meta-Analysis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 16(4 July-August), pp 173-179; 2007
152. Iacoviello L, Burzotta F, Di Castelnuovo A, Zito F, Marchioli R, Donati MB. The 4G/5G polymorphism of PAI-1 promoter gene and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 80:1029–1030; 1998.
153. Simmonds RE, Hermida J, Rezende SM, Lane DA. Haemostatic genetic risk factors in arterial thrombosis. *Thromb Haemost* 86:374–385; 2001.

154. Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18 000 cases and 58 000 controls. *Arch Neurol* 61:1652–1661; 2004
155. Barbara Voetsch and Joseph Loscalzo. Genetic Determinants of Arterial Thrombosis *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004;24:216-229 Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Beverly RK, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 89:2817–2821; 1997.
156. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 90: 1747–1750; 1997.
157. Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, Cambou JP, Scarabin PY, Bara L, Green F, Cambien F. α_2 -Fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction: The ECTIM Study. Etude Cas-Temoins sur l'Infarctus du Myocarde. *Circulation* 93:440–449; 1996.