

Koroner Arter Hastalığı ile Anjiyotensinojen T207M ve Faktör II, Faktör V Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişki

Dilara SEÇKİN^{a1}, Nevin İLHAN¹, Yılmaz ÖZBAY², Necip İLHAN¹

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Anjiyotensinojen (AGT) T207M, faktör V ve faktör II gen polimorfizminin koroner arter hastalığı (KAH) riski ile ilişkisi birbiri ile çelişen sonuçlar ile birlikte birkaç çalışmada gösterilmiştir. Biz, koroner anjiyografi ile tanı konulmuş koroner arter hastalarında AGT T207M geni ve faktör II ile Faktör V polimorfizmlerini analiz ettik. Anjiyotensinojen gen polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu ve agaroz jel elektroferez teknikleri ile, faktör II ve V polimorfizmleri ise real time PCR ile tespit edildi. Bizim sonuçlarımız, Anjiyotensinojen T207M, Faktör II ve V polimorfizmlerinin koroner arter hastalığı ile ilişkili olmadığını ortaya koymuştur. ©2006, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Koroner Arter Hastalığı, Anjiyotensinojen T207M, Faktör II ve V geni

ABSTRACT

Association Between Angiotensinogen T207M and Factor II, Factor V Gene Polymorphism with Coronary Artery Disease

The relations of the angiotensinogen (AGT) T207M, Factor V and Factor II gene polymorphisms to the risk of coronary artery disease (CAD) have been investigated in only a few studies with conflicting results. We analysed the relationships of AGT T207M gene and Factor II and Factor V polymorphisms to CAD whose coronary anatomy was defined by means of coronary angiography. Polymerase Chain Reaction (PCR) and agarose gel electrophoresis techniques were used to determine the Angiotensinogen gene and real time PCR were used to determine Factor V and II gene polymorphism. Our results indicate that the angiotensinogen T207M, Factor II and Factor V polymorphisms are not related to CAD. ©2006, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Key words: Coronary Artery Disease, Angiotensinogen T207M, Factor II and V gene

Koroner Arter Hastalığı (KAH), multifaktoriyel bir hastalık olup hem çevresel hem genetik faktörler etyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda Renin Anjiyotensin Sisteminin (RAS); KAH'nın patogenezi ve miyokard infarktüsünün prognozuna olan etkileri gösterilmiştir (1,2). Koroner arter hastalığı (KAH)'nın patogenezi katkısında bulunan aday genleri çalışmak, KAH'nın etyolojisini anlamak için güzel bir yaklaşım olabilir. Anjiyotensin Konverting Enzim (ACE) geninin I/D polimorfizmi ve Anjiyotensin II Tip 1 reseptör A1166C gen varyasyonlarının yanı sıra Anjiyotensinojen (AGT) geninin varyantları da koroner arter hastalığının patogenezi rolü olabileceği düşünülmüştür (3-5).

Anjiyotensinojen ve son ürünleri olan anjiyotensin I ve anjiyotensin II kan basıncının önemli düzenleyicileridir. Anjiyotensinojen için gen, AGT, iki yaygın tek nükleotid polimorfizmi ile karakterize olup T207M ve M268T'dir. Bu tek nükleotid polimorfizmler daha önceden T174M (Thr→Met, kodon 174'de) ve M235T (Met→Thr, kodon 235'de) olarak adlandırılmış ancak bu gösterim insan gen mutasyonu için bilimsel sınıflandırmaya uymamaktadır ve bu nedenle bizim yaptığımız çalışmada da T174M yerine T207M kullanılmıştır (7).

AGT polimorfizmleri; anjiyotensinojen düzeyleri ve hipertansiyonun genetik belirleyicileri olarak daha önceleri

çalışılmış ancak çelişkili sonuçlar bulunmuştur (8-10). Her ne kadar bu varyantlar RAS'nin kinetiğini değiştirdiği kanıtlanamamışsa da M268T'nin yüksek plazma AGT düzeyleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (5).

KKH sonucu oluşan Akut Miyokard İnfarktüsü (AMI) koroner arterlerin stenoz ve/veya oklüzyonunun bir sonucu olarak meydana gelir. Bu prosesin bir parçası olarak hemostatik sistemdeki bir anormallik trombozisi destekleyebilir ve böylece MI için bir risk oluşturabilir. Koagülasyon faktörlerinin aktivitesi; koroner arter hastalığı için önemli bir risk olup (11,12), dolaşımdaki düzeyleri koagülasyon proteinlerinin aktivitesini ve lokal konsantrasyonlarını kesin bir şekilde yansıtmaz, bunun nedeni de bu proteinlerin diyet, egzersiz ve ilaçlardan etkilenebilmesidir (13,14). Protrombin (Faktör II) (G20210A) ve Faktör V (Faktör V Leiden, FVL)'in genetik varyantları venöz tromboz riskinde artış ile ilişkili olarak bulunmuştur (15-17). Yapılan çalışmalarda; AMI için farklı risk faktörlerine sahip popülasyonlarda; KAH için bir genetik predispozisyonun olduğu öne sürülmüştür (18,19). Faktör II geninde (G20210A) ve Faktör V geninde (G1691A); glutamin aminoasidinin arjinin aminoasidi ile yer değiştirmesi sonucu nokta mutasyonlarını içeren genetik anomaliler saptanmıştır.

Bu çalışmada koroner arter hastalığının etyolojisini anlamak için anjiyografik olarak koroner arter hastalığı tanısı

^a Yazışma Adresi: Dr. Dilara Seçkin, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ELAZIĞ
Tel: 0 424 2333555 Faks: 0 424 2388660 e-mail: drdilara_76@hotmail.com

alan hastalarda ve sağlıklı kontrollerde AGT T207M, Faktör V Leiden ve Faktör II (Protrombin) gen polimorfizmleri çalışılmış ve AGT gen polimorfizmi ile lipid profilleri arasındaki ilişkiyi saptamak amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Fırat Tıp Merkezi Kardiyoloji Kliniğine başvuran, anjiyografik olarak koroner arter hastalığı tanısı alan (yaşları 58.64 ±9.3) toplam 158 hasta ile yine anjiyografik olarak normal koroner arter saptanan 68 birey (yaşları 53.7±10.5) dahil edilmiştir. Toplam 226 bireyin tümüne bir anket uygulanarak çalışmanın amacı, yapılacak işlemler anlatılarak yazılı izinleri alınmıştır. Ayrıca, KAH risk faktörleri ile ilgili olarak vücut kitle indeksi (kg/m²), aile hikayesi, arteriyel hipertansiyon (≥140 mmHg sistolik kan basıncı, ≥90 mmHg diastolik kan basıncı), hiperlipidemi (total kolesterol >240 mg/dl and trigliserid >250 mg/dl) değerlendirilmiştir

DNA izolasyonu

Çalışmaya dahil edilen bireylerden her iki EDTA'lı tüpe 2'şer ml kan alındı. Tüplerden biri hastaların DNA izolasyonlarını yapmak için kullanıldı. Tam kandan DNA izolasyonu DNA izolasyon kiti kullanılarak (High Pure PCR Template Preparation kit, Roche Diagnostic, Germany) yapıldı ve -20oC'de saklandı. Diğer tüp ise 2500 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma örneklerinde; Total Kolesterol, Trigliserid , HDL-Kolesterol ve LDL-Kolesterol düzeyleri Olympus AU 600 marka Otoanalizör cihazı kullanılarak (Olympus Optical Co Ltd, Japan) kendi ticari kit içeriğine uygun olarak tayin edildi.

Anjiyotensinojen (T207M) gen polimorfizminin saptanması

AGT gen bölgesi için kullanılan primer dizileri: (5' CAG GGT GCT GTC CAC ACT GGA CCC C 3'), (5' CCG TTT GTG CAG GGC CTG GCT CTC T 3') şeklindedir. Bireylere ait genomik DNA örneklerinde AGT lokusuna ait alleller polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. AGT gen bölgesinin çoğaltılması için 94oC'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 95oC'de 1 dakika denatürasyon, 60 oC'de 1 dakika bağlanma ve 72 oC'de 1 dakika uzama üzere 30 döngüden oluşan bir PCR programı kullanıldı. PCR ile

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin karakteristik özellikleri

	Kontrol	Hasta	P değeri
n	68	158	
Yaş (yıl)	58.64±9.3	53.7±10.5	AD
Cinsiyet (K/E)	12/56	26/132	AD
Hipertansiyon (%)	47.1	53.2	AD
Sigara içimi (%)	41.2	46.8	AD
T-Kolesterol (mg/dl)	186.13±25.8	223.85±38.1	<0.0001
Trigliserid (mg/dl)	158.2±49.5	178.5±76.7	AD
HDL-Kolesterol (mg/dl)	49.34±9.6	42.7±7.6	<0.05
LDL-Kolesterol (mg/dl)	128.8±29.08	146.4±34.42	<0.05

AD, Anlamli değil

Tablo 2. Hasta ve Kontrollerde AGT Genotipinin Dağılımı

Genotip	Kontrol n (%)	Hasta n (%)
TT	50 (% 73.5)	132 (%83.5)
TM	10 (%14.7)	22 (%13.9)
MM	8 (%11.8)	4 (%2.5)

çoğaltılan AGT lokusuna ait fragman NcoI restriksiyon endonükleaz ile kesilmiş ve daha sonra %1.5 luk agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur. DNA fragmanları UV altında görüntülenip genotipleme yapılmıştır.

Protrombin (Faktör II) ve Faktör V Leiden gen mutasyonunun saptanması:

Gen mutasyonlarını belirlemek için LC Faktor V Leiden Mutation Detection (Roche Diagnostica, Katalog No:2212161) ve LC Protrombin (G20210A) Mutation Detection (Roche Diagnostica, Katalog No:2236842) kitleri kullanıldı. Protrombin geninin 165 bp fragmanı ile Faktör V geninin 222 bp fragmanı insan genomik DNA'sından sağlanan spesifik primerler ile amplifiye edildi. Reaksiyon karışımı (20µl) insan genomik DNA'sı kullanılarak cam kapiller tüplerde hazırlandı ve real time PCR cihazı (Light Cycler, Roche Diagnostic, GmBh, Germany) kullanılarak ölçüldü.

İstatiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 10.0 istatistik paket programı kullanılarak yapılmış olup, P<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Faktör II, V ve Anjiyotensinojen gen polimorfizmlerinin genotip ve allellerin görülme sıklığının gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde χ² testi kullanılmıştır. Genotiplere göre lipid dağılımları için ANOVA testi, allellere göre lipid dağılımlarının belirlenmesi için ise student t testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Hasta ve kontrol grubunun karakteristik özellikleri

Çalışma grubunu oluşturan kişilerin karakteristik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. Hasta popülasyonunda; Total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre (sırası ile, P<0.0001, P<0.05), kontrol grubunda ise HDL kolesterol düzeyi hasta grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur (P<0.05). Plazma trigliserid düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına rağmen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunda Anjiyotensinojen gen polimorfizmi

Allel	Kontrol (%)	Hasta (%)
T alleli	80.9*	90.5
M alleli	19.1	9.5

P<0.05, kontroller ile karşılaştırıldığında

Çalışma gruplarına ait AGT gen polimorfizminin genotip ve allel dağılımları

AGT T207M gen polimorfizmlerinin frekansı TT için 0.74, TM için 0.15, MM için 0.12 olup hasta grubunda bu değerler TT için 0.84, TM için 0.14, MM için 0.02'dir. KKH'larında TT genotipinin frekansı kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen (0.84 vs 0.74) bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P>0.05$) (Tablo 2).

AGT geninin T ve M allellerinin frekansları KKH'larında sırasıyla 0.91 ve 0.09, kontrol grubunda ise 0.81 ve 0.19 olup

Tablo 4. Plazma lipid düzeylerinin Anjiotensinojen gen polimorfizminin genotiplerine bağlı olarak değişimi

	Total kolesterol(mg/dl)	HDL kolesterol (mg/dl)	LDL kolesterol (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)
TT	222.50±38.40	42.36±7.29	144.89±34.71	182.86±70.33
TM	222.60±33.39	42.71±9.14	146.10±29.25	160.40±115.53
MM	274.00±28.67	54.50±0.70	196.50±30.40	127.00±18.38

Tablo 5. Plazma lipid düzeylerinin Anjiotensinojen gen polimorfizminin allellerine bağlı olarak değişimi

Allel	Total kolesterol (mg/dl)	HDL kolesterol (mg/dl)	LDL kolesterol (mg/dl)	Trigliserid (mg/dl)
T	222.51±37.81	42.39±7.37	145.02±33.95	181.25±73.85
M	237.28±38.25	46.07±9.04	160.50±35.96	150.85±97.66

Tablo 6. Protrombin (F II) ve Faktör V Leiden için heterozigot frekansları

Polimorfizm	Hasta Grubu N:114	Kontrol Grubu N:57	P Değeri
G20210A	(9) %7.9	(3) %5.3	0.71
G1691A	(15) %13.2	(3) %5.3	0.36

Allellere göre lipid dağılımı ise Tablo 5'de verilmiş olup plazma lipid düzeyleri ile AGT gen polimorfizminin allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Faktör V Leiden ve Faktör II gen polimorfizmi

Çalışmamızda koroner kalp hastaları ve kontrol grubunda faktör II polimorfizmi için heterozigot olanların frekansları sırasıyla %7.9, ve %5.3 olarak bulunmuştur. Bu frekans değerleri Faktör V Leiden için ise %13.2 ve %5.3 olarak bulunmuştur. (Tablo 6). Her iki polimorfizm için homozigot olan bireylere rastlanamamıştır. Koroner kalp hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hem FV Leiden hem de Faktör II (Protrombin) açısından anlamlı bir farklılık saptanamamıştır.

TARTIŞMA

Anjiotensinojen genindeki varyasyonların KKH ile ilişkisi:

Yapılan çeşitli çalışmalarda RAS'nin KKH'nin gelişiminde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (20-23). Bu bulgular araştırmacıları RAS'nin ana bileşenlerinin genetik varyasyonlarını saptamaya yönlendirmiştir. AGT T207M gen varyasyonunun koroner kalp hastalığı ile ilişkisi ilk olarak Ko ve arkadaşları (6) ile Turet ve arkadaşları (24) tarafından incelenmiştir. Bu araştırmacıların yaptığı çalışmalarda, bu gen polimorfizminin MI için risk faktörü olduğuna yönelik önemli bulgular saptanamamıştır. Yine Caufield ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada M235T ve T174M varyantları ile hipertansiyon arasında bir ilişki gösterilememiştir (25). Nair ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise anjiyografi ile tanı konulmuş 141 KAH ile 131

hasta grubunda T alleli kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur ($P<0.05$) (Tablo 3).

Anjiotensinojen gen polimorfizmine göre plazma lipid düzeyleri

Lipid düzeylerinin Anjiotensinojen gen polimorfizmine göre saptanan değerleri ise Tablo 4'de verilmiştir. Plazma total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

sağlıklı birey karşılaştırılmış ve T207M gen polimorfizmi ile aralarında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (26). Yu-Lin Ko ve arkadaşlarının; Çin popülasyonunda 338 kontrol ve 268 koroner arter hastalığı olan bireyler üzerinde yaptıkları bir çalışmada KAH'larında T alleli kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek frekansda olduğu görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (27). Bu çalışma ile uyumlu olacak şekilde bizim çalışmamızda da koroner kalp hastalığı olan bireylerde TT genotipinin frekansı koroner arter hastalarında sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında (%83.5 vs %73.5) daha yüksek frekansda olup bu istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak çalışma popülasyonunda allel dağılım frekansları incelendiğinde koroner arter hastalarında T allelinin

frekansı kontrol grubuna göre (%90.5 vs %80.9) daha yüksek olup istatistiksel açıdan anlamlıdır ($P<0.05$). Gardemann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise (28) T207M genindeki varyasyonlar KAH'nin şiddeti ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Yapılan çalışmaların sonuçlarında da görüldüğü gibi anjiotensinojen gen polimorfizminin sonuçları açısından çelişkili bilgiler bulunmuştur. Bu genetik çalışmalar arasındaki farklılığın etnik farklılıklar nedeniyle veya kontrol ve hasta grupları için farklı seçim kriterleri nedeni ile olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda plazma lipid düzeyleri ile T ve M allelleri arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Ancak lipid düzeyleri ile AGT T207M polimorfizmi arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar bulunmadığı için bu çalışma diğer çalışmalar ile karşılaştırılmamaktadır.

Faktör V ve Faktör II gen polimorfizmlerinin KKH ile ilişkisi:

Koagülasyon, hem intrinsek hem de ekstrinsek yolda bir seri reaksiyon ile etkileşime giren bir çok gen ürününü içerir (29). Bu genlerdeki genetik anormallikler koagülasyon faktör proteinlerinde kantitatif bir artışa yol açarak tromboembolik olayların gelişiminde artmış bir risk ile sonuçlanabilir (12,17,19, 30).

Protrombin ve Faktör V; tripsin ile homoloji gösteren bir serin proteaz bölge içerir. Protrombin; 21 kb'lık 14 ekzon içeren bir gen tarafından kodlanır ve hemostaz ve trombozise anahtar bir rol oynar. Faktör V, Faktör Xa'yı etkileyerek protrombinin trombine dönüşümünün sağlayan tek zincirli bir glikoproteindir. Faktör V geninde 1691. pozisyonda bulunan adeninin guanin ile yer değiştirmesi sonucu tek bir baz değişikliği Faktör V Leiden mutasyonu olarak bilinir ve aminoasit sırasında (Arg-Gln) dönüşümü şeklinde bir değişiklikte sonuçlanır, bu da aktive protein C kompleksi tarafından degradasyona direnç oluşmasına yol açar (31). Bizim yaptığımız çalışmada FVL ve protrombin gen varyantı ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişki gösterilememiştir. Her ne kadar her iki polimorfizmin frekansı koroner arter hastalarında daha yüksek bulunmuşsa da bu istatistiksel olarak anlamlı değildir.

FVL mutasyonu otozomal dominant bir kalıtım gösterip etnik gruplar arasında FVL mutasyonu oldukça fazla heterojenite gösterir. Avrupalılar arasında yaygın, Asya ve Afrikalılar arasında ise daha ender görülmektedir (32). FVL için homozigot durumlar genç yaşdaki bireylerde venöz tromboembolizm için daha yüksek risk taşıırken, FVL için heterozigotluk durumları tromboz riski genel populusyoya göre 7 kat daha fazla risk getirmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda FVL ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki için çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bazı çalışmalarda FVL taşıyıcılarında

KAYNAKLAR

- Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-1346.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S. et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
- Russ AP, Maerz W, Ruzicka V, Stein U, Gross W. Rapid detection of the hypertension-associated Met235.Thr allele of the human angiotensinogen gene. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 609-610.
- Katsuya T, Koike G, Yee TW, Sharpe N, Jackson R, Norton R, et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary artery disease. *Lancet* 1995; 345: 1600-1603.
- Ludwig EH, Borecki IB, Ellison RC, Folsom AR, Heiss G, Higgins M, et al. Associations between candidate loci angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen with coronary heart disease and myocardial infarction: the NHLBI family heart study. *Ann Epidemiol* 1997; 7: 3-12.
- Ko YL, Ko YS, Wang SM, Chu PH, Teng MS, Cheng NJ, et al. Angiotensinogen and angiotensin I converting enzyme gene polymorphisms and the risk of coronary artery disease in Chinese. *Hum Genet* 1997; 100: 210-214.
- Antonarakis SE Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. *Hum Mutat* 1998; 11: 1-3
- Kunz R, Kreutz R, Beige J, Distler A, Sharma AM. Association between the angiotensinogen 235-T variant and essential hypertension in whites: a systematic review and methodological appraisal. *Hypertension* 1997; 30: 1331-1337
- Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP, Celerier J, Corvol P. Angiotensinogen variants and human hypertension. *Curr Hypertens Rep* 1999; 1: 31-41
- Wang JG, Staessen JA. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. *Eur J Pharmacol* 2000; 410: 289-302
- Ruddock V, Meade TW. Factor VII activity and ischemic heart disease: fatal and non-fatal events. *Q J Med* 1994; 87: 403-406.
- Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North WR, et al. Haemostatic function and ischemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*. 1986;2:533-537.
- De Boever E, De Bacquer D, Braeckman L, et al. Relation of fibrinogen to lifestyles and to cardiovascular risk factors in a working population. *Int J Epidemiol*. 1995; 24: 915-921.
- Eliasson M, Asplund K, Evrin PE, Lundblad D. Relationship of cigarette smoking and snuff dipping to plasma fibrinogen, fibrinolytic variables and serum insulin: the Northern Sweden MONICA study. *Atherosclerosis* 1995; 113: 41-53.
- Cumming AM, Keeney S, Salden A, Bhavnani M, Shwe KH, Hay CR. The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. *Br J Haematol* 1997; 98: 353-355.
- Martinelli I, Sacchi E, Landi G, Taioli E, Duca F, Mannucci PM. High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *N Engl J Med* 1998; 338: 1793-1797.
- Bertina RM. Factor V Leiden and other coagulation factor mutations affecting thrombotic risk. *Clin Chem* 1997; 43: 1678-1683.
- de Maat MPM, Green F, de Knijff P, Jespersen J, Kluff C. Factor VII polymorphisms in populations with different risk of cardiovascular disease. *ArteriosclerThrombVasc Biol*. 1997; 17: 1918-1923.

19. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1995; 332: 912–917.
20. Powell JS, Clozel JP, Muller RK, Kuhn H, Hefti F, Hosang M, et al. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Sciencem* 1989; 245: 186–8.
21. Chobanian AV, Haudenschild CC, Nickerson C, Drago R. Antiatherogenic effect of captopril in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Hypertension* 1990; 15: 327–31.
22. Aberg G, Ferrer P. Effects of captopril on atherosclerosis in cynomolgus monkeys. *Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15(Suppl 15): S65–S72.
23. Wang DH, Prewitt RL. Captopril reduces aortic and microvascular growth in hypertensive and normotensive rats. *Hypertension* 1990; 15: 68–77.
24. Tiret L, Ricard S, Poirier O, Arveiler D, Cambou JP, Luc G, et al. Genetic variation at the angiotensinogen locus in relation to high blood pressure and myocardial infarction. *J Hypertens* 1995;13:311–7.
25. Caulfield M, Lavender P, Newell-Price J, Farrall M, Kamdar S, Daniel H, et al. Linkage of the angiotensinogen gene locus to human essential hypertension in African Caribbeans. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 687–692.
26. Nair KG, Shalia KK, Ashavaid TF, Dalal JJ. Coronary Heart Disease, Hypertension, and Angiotensinogen Gene Variants in Indian Population. *J Clin Lab Anal.* 2003; 17: 141–146
27. Ko YL, Ko YS, Wang SM, Chu PH, Teng MS, Cheng NJ, et al. Angiotensinogen and angiotensin-I converting enzyme gene polymorphisms and the risk of coronary artery disease in Chinese. *Hum Genet* 1997;100: 210–214
28. Gardemann A, Stricker J, Humme J, Nguyen Q, Katz N, Philipp M, et al. Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 145 309–314
29. Davie EW. Biochemical and molecular aspects of the coagulation cascade. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1–6
30. Simioni P, Prandoni P, Lensing AW, Scudeller A, Sardella C, Prins MH, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with an arg 506gln mutation in the gene for factor V (factor V Leiden). *N Engl J Med* 1997; 336: 399–403.
31. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64–67.
32. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995; 346: 1133-1134.
33. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Beverly RK, Psaty BM, Longstreth WT, et al. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1997; 89: 2817-21
34. Mansourati J, Da Costa A, Munier S, Mercier B, Tardy B, Ferec C, et al. Prevalence of factor V Leiden in patients with myocardial infarction and normal coronary angiography. *Thromb Haemost* 2000; 83: 822-825.
35. Cushman M, Rosendaal FR, Psaty BM, Cook EF, Valliere J, Kuller LH, et al. Factor V Leiden is not a risk factor for arterial vascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study. *Thromb Haemost* 1998; 79: 912-915.
36. Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Kofoed S, Jensen G, Nordestgaard BG. Factor V Leiden: The Copenhagen City Heart Study and 2 meta-analyses. *Blood* 2002; 100: 3-10.
37. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Heras I, Vicente V. The venous thrombosis risk factor 20210 A allele of the prothrombin gene is not a major risk factor for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol* 1997; 99: 304-307
38. Russo C, Girelli D, Olivieri O, Guarini P, Manzato F, Pizzolo F, et al. G20210A prothrombin gene polymorphism and prothrombin activity in subjects with or without angiographically documented coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2436-40.
39. Coulet F, Godard V, Verdy E, Soubrier F. Lack of association of the prothrombin gene variant G20210A with myocardial infarction in Caucasian males. *Thromb Haemost* 2000; 83: 796-7.
40. Croft SA, Daly ME, Steeds RP, Channer KS, Samani NJ, Hampton KK. The prothrombin 20210A allele and its association with myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1999; 81: 861-4.

Kabul Tarihi: 17.05.2006