

Koroner Arter Hastalarında VDBP ve VDR Mutasyonlarının ve Diğer Risk Faktörlerinin Stent Trombozu Oluşumuna Etkisi

Effects of VDBP and VDR Mutations and Other Factors to the Development of Stent Thrombosis in Coronary Artery Disease Patients

Deniz Kırac¹, Aysun Erdem², Hazal Gezmiş¹, Kemal Yeşilçimen², Elif Çiğdem Altunok³, Turgay İsbir¹

¹Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

³Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Kırac D, Erdem A, Gezmiş H, Yeşilçimen K, Çiğdem Altunok E, İsbir T. Effects of VDBP and VDR Mutations and Other Factors to the Development of Stent Thrombosis in Coronary Artery Disease Patients. Clin Exp Health Sci 2018; 8: 1-8.

Öz

Amaç: Bu çalışmada koroner arter hastalığı (KAH) olan hastalarda stent takılmasını takiben stent trombozu (ST) oluşumuna etki ettiği düşünülen genetik ve çevresel faktörler arasındaki ilişkinin araştırılması hedeflenmiştir.

Yöntemler: Çalışmaya stent takılan 73 KAH hastası dahil edilmiştir. ST gözlenen 37 kişi hasta grubunu, tromboz gözlenmeyen 36 kişi ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Hastalardan alınan kanlardan DNA izolasyonu yapılmıştır. Vitamin D reseptör (VDR) genindeki rs2228570 ve rs1544410 mutasyonları ile vitamin D bağlayıcı protein (VDBP) genindeki rs4588 ve rs7041 mutasyonları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile incelenmiştir. D vitamini, lipid seviyeleri vb. gibi biyokimyasal analizler uygun kitler kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Hasta grubunda VDBP genindeki rs4588 mutasyonunu homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan bireylerin sayısı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0,027). Hasta grubunda D vitamini düzeyi ve hemoglobin seviyesi anlamlı düzeyde düşük; D vitamini eksikliği olması durumu, C reaktif protein seviyesi, sigara içme hikayesi, hipertansiyon olması durumu ve KAH olma hikayesi ise anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0,05). Ek olarak diyabet hastalığı olan bireylerde VDR genindeki rs1544410 mutasyonunun olması durumu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0,035). Hemoglobin A1c (Hb1Ac) ile rs1544410 mutasyonu arasında da genotip dağılımları açısından anlamlılıklar tespit edilmiştir (p<0,05).

Sonuç: D vitamini metabolizmasında görev alan VDBP genindeki rs4588 mutasyonunun, bireylerdeki D vitamini eksikliğinin ve diğer bazı risk faktörlerinin, ST oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koroner arter hastalığı, stent trombozu, vitamin D reseptör geni, vitamin D bağlayıcı protein geni, D vitamini eksikliği

Abstract

Objective: This study aimed to investigate the relationship between genetic and environmental factors that are believed to have an effect on stent thrombosis (ST) in coronary artery disease (CAD) patients after stent implantation.

Methods: Seventy-three CAD patients who were implanted with stents by surgical intervention were enrolled. Thirty-seven patients with ST were included in the patient group, and 36 patients without ST were included in the control group. After obtaining necessary information from the patients, DNA was isolated from blood. Rs2228570 and rs1544410 mutations in the vitamin D receptor (VDR) gene as well as rs4588 and rs7041 mutations in the vitamin D-binding protein (VDBP) gene were investigated by performing real-time polymerase chain reaction. Biochemical measurements, such as those of vitamin D and lipid levels, were performed using appropriate kits. Results were evaluated using statistical methods.

Results: The number of individuals who carry homozygous or heterozygous alleles of the rs4588 mutation in the VDBP gene was found to be statistically high in the patient group (p=0.027). Vitamin D and hemoglobin levels were significantly low and C-reactive protein levels were significantly high, while the occurrence of vitamin D deficiency, hypertension, and familial history of CAD as well as the current status of smoking were significantly high in the patient group (p<0.05). Additionally, the presence of a homozygous rs1544410 mutation in the VDR gene of individuals who have diabetes mellitus was statistically high (p=0.035). According to genotype distribution, statistical significance was observed between hemoglobin A1c (HbA1c) levels and the rs1544410 mutation (p<0.05).

Conclusion: The rs4588 mutation, which plays a role in vitamin D metabolism, vitamin D deficiency, and some other risks, in the VDBP gene may cause ST.

Keywords: Coronary artery disease stent thrombosis, vitamin D receptor gene, vitamin D binding protein gene, vitamin D deficiency

GİRİŞ

Koroner arter hastalığı (KAH), koroner arterlerdeki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler sonucu iskemi veya plak rüptürü görülebilen ve endotel fonksiyon bozukluğuyla yakından ilişkili olduğu bilinen oldukça yaygın bir hastalıktır (1). Dünya Sağlık Örgütü, 2004 yılında kardiyovasküler hastalıklar sonucu 17,1 milyon olan ölüm oranının, 2030 yılında 23,4 milyon olacağını öngörmektedir (2). Hastalığın tedavisinde 90'lardan bu yana kullanılan en yaygın tedavi yöntemi ise hastalara stent takılmasıdır. Perkütan koroner girişim (PKG) sırasında stentlerin kullanımının yaygınlaşması, temeli gecikmiş endotel oluşumuna dayanan stent restenozunu ve stent trombozunu önlemeye yö-

nelik çalışmaları da beraberinde getirmiştir. Stent trombozu (ST), PKG sonrası ortaya çıkabilen nadir ancak tehlikeli bir komplikasyondur (3). Akademik Araştırma Konsorsiyumu (ARC)'na göre ST, stent implantasyonunu takip eden 0-24 saat içinde gerçekleşirse "akut"; 24 saat ile 30 gün arasında gerçekleşirse "subakut"; 30 gün ile 1 yıl arasında gerçekleşirse "geç"; 1 yıldan daha uzun bir süre sonra gözlemlenirse "çok geç" tromboz olarak sınıflandırılmaktadır. Akut ve subakut tromboz, erken ST olarak da adlandırılmaktadır (4).

PKG sırasında kullanılan stentler başlıca çıplak-metal stentler (bare-metal stent/BMS) veya ilaç salınımlı stentler (drug eluting stent/DES)dir. KAH tedavisi için kullanılan BMS'lerden kaynaklı restenoz gelişimini azaltmak için klinikte DES'ler kullanılmaya başlanmıştır. Olumlu sonuçlara rağmen bazı çevrelerce "geç" ve "çok geç" ST oluşumunda DES tipi stentlerin riskli sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir (5). Ortaya çıkan farklı tromboz tiplerinde, kullanılan farklı stent tiplerinin rolü olduğu düşünülmektedir. İlk nesil DES implantasyonu geç ve çok geç ST oluşumunda özellikle ikili antitrombosit tedavi sonrasında artmış insidansa sahiptir. Özellikle kompleks lezyonlara sahip uzun süreli takip edilen hastalarda çok geç ST denilen durumla karşılaşmaktadır (6, 7). İlk nesil ilaç salınımlı stentlerin, BMS implantasyonu ile kıyaslandığında yeniden endotel oluşumunda ve arteriyel iyileşmesinde belirgin gecikmeye neden olduğu bilinmektedir (8). Ancak bazı çalışmalarda da DES ve BMS arasında oldukça benzer bir insidans olduğu ortaya konulmuştur (4).

Araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre trombositlerin aterotrombozunun patojenezinde kritik rol oynadığı düşünülmektedir. Kesin risk grubunda bulunan hastalarda özellikle düşük dozda aspirinin iskemik sonuçların ortaya çıkışını azalttığı görülmüştür. Yine de aspirinin tek başına özellikle yüksek risk grubundaki hastalarda iskemik sonuçları önlemede etkili bir tedavi olmadığı birçok vakada gözlemlenmiştir. Benzer iskemik durumla karşılaşılan hasta grubunda klopidogrel (P2Y₁₂-reseptör antagonisti) ve aspirinin birlikte kullanıldığı ikili antiplatelet tedavisinin etkinliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür (9). Daha etkin bir tedavi yönteminin ortaya konulamaması genetik araştırmalar sonrası kişiye özgü tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini mecbur kılmaktadır.

D vitamini, insan sağlığı için önemli biyolojik fonksiyonların gerçekleşmesinde rolü olan temel mikro besin maddelerinden biridir. Dünya çapında yaklaşık 1 milyar insanın D vitamini eksikliği veya etkinsizliği sorunu olduğu bilinmektedir (10). D vitamini temelde kalsiyum ve kemik metabolizmasıyla ilişkilidir. Günümüzde D vitamini eksikliğinin kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon, diyabet ve obezite gelişim riskini arttırdığı yönünde bulgular ortaya konulmaktadır (11, 12). Uzmanlara göre in vivo D vitamini seviyesi 30 ng/mL üzeri normal, 20–30 ng/mL arası yetersiz ve 20 ng/mL altı eksiklik olarak kabul edilmektedir (13). Yapılan çalışmalar D vitamini tedavisinin endotelial fonksiyonda, özellikle plak oluşumu ve progresyonu yoluyla kardiyovasküler hastalıklarda kritik rolü olduğu düşünülmektedir (12). 25[OH]D, D vitamininin birincil formu ve 1,25[OH]D aktif formunun da öncüsüdür. Bu aktif formun, D vitamini metabolitlerini, vitamin D reseptör (VDR) proteinine bağlanarak biyolojik aktivitesini gerçekleştirdiği hedef organlara taşınımı için vitamin D bağlayıcı proteine (VDBP) bağlandığı bilinmektedir (14).

1,25[OH]D, hormonal yapıdaki VDR yoluyla 200'den fazla heterojen genin transkripsiyonunu düzenlemektedir (15). VDR, 12q13 kromozom bölgesinde yer almaktadır ve neredeyse vücudun tüm hücre-

lerinde bulunduğu bilinmektedir (16). Şimdiye kadar VDR geni üzerinde birçok mutasyon tanımlanmakla birlikte genin ikinci ekzon bölgesinde gözlemlenen rs2228570 mutasyonuna sık olarak rastlanmaktadır. Bu mutasyon T>C değişikliğine sebep olup (ATG<ACG) 3 aminoasitlik protein kısalmasıyla sonuçlanan birinci transkripsiyon başlangıç kodonunda gözlenmektedir. Bu başlangıç kodonu Fok1 restriksiyon enzimi kullanılarak tanımlandığından Fok1 mutasyonu olarak da isimlendirilmektedir (17). VDR geninde tanımlanmış bir diğer önemli mutasyon Bsm1 restriksiyon enzimi kullanılarak tespit edilen rs1544410'dur. Bsm1 mutasyonu genin 8. intron bölgesinde lokalizedir. G>A polimorfik değişimi sonucunda mRNA stabilitesi bozulmakta ve VDR proteini miktarında azalma gözlenmektedir (18). GC geni tarafından kodlanan VDBP, dolaşımdaki 25 (OH) D'nin %85-90'na bağlanmakta ve böylece D vitamini biyoyararlanımını düzenlemektedir (19). VDBP geninde 3 ortak allel bilinmektedir: Gc1s (yavaş), Gc1f (hızlı) ve Gc2. Bu alleller, rs4588 ve rs7041 olarak bilinen iki tek nükleotid polimorfizminin (SNP) kombinasyonlarıyla birbirinden ayrılmaktadır. VDBP genindeki iki polimorfizm VDBP genindeki glikolizasyon paternleri ve aminoasit yer değiştirmesi yoluyla farklı fenotipik alleller ortaya koymaktadır. Gc1s ve Gc1f allellerinde bu yolla galaktoz ve sialik asit değişimi gözlemlenirken Gc2'de yalnızca galaktoz aminoasidinde farklılık gözlemlenmektedir. rs7041 (G>T) polimorfizmi glutamik asidin aspartik aside dönüşümünü, rs4588 (C>A) ise treonin aminoasidinin lizine dönüşümünü sağlamaktadır (20).

Morbidite ve mortalitesi nedeniyle ST'yi takip eden sonuçlar üzerinde çok fazla verinin bulunmaması nedeniyle günümüzdeki araştırmalar genel olarak farklı stent tiplerinin implantına bağlı olarak çeşitli hasta alt gruplarındaki ST frekansını ve zamanlamasının yanı sıra diğer prediktif faktörlerinde anlaşılmasına odaklanmıştır (21). Şimdiye kadar ST ile ilişkili olduğu düşünülen birçok faktör tanımlanmıştır. Diabetes mellitus, stent strutlarında endotel örtü gözlemlenmesi, prematüre anti-platelet tedavisinin kesilmesi, böbrek yetmezliği, bifurkasyon lezyonları ve düşük ejeksiyon fraksiyonu bunlardan başlıcaları olarak kabul edilmektedir. ST için kullanılan stentin uzunluğunda oldukça önemli olduğu, her 1 milimetrik uzunluğun tromboz gözlenme riskini 1,03 kat arttırdığı tespit edilmiştir (4, 22, 23).

Günümüzde antiplatelet tedaviye yanıtla yakından ilişkili genomik faktörler hakkında yeni bilgiler elde edilmeye devam edilmektedir. Çeşitli genetik ve diğer ilişkili risk faktörlerinin belirlenmesi, özellikle ST için büyük risk grubunda olan hastalarda, optimal önlem stratejilerini geliştirilebilecek ve ani ölümlerin önüne geçilebilecektir. Yapılan çalışmalar genellikle antiplatelet tedavisinde kullanılan etken maddesi klopidogrel olan ilaç grubunun metabolizmasında etkili olan CYP2C19 enzimini kodlayan genlerdeki mutasyonların ST oluşumu ile ilgili yapmış olduğumuz çalışmada özellikle CYP2C19*2 mutasyonu ile ST oluşumu arasında bir ilişki olduğu, CYP2C19*17 mutasyonunun ise bu süreçte koruyucu rol üstlenmiş olabileceği belirlenmiştir (24). Bu çalışmada ise stent takılan KAH hastalarında, D vitamini metabolizmasında etkili olan VDR ve VDBP genlerindeki mutasyonların, D vitamini düzeylerinin ve diğer risk faktörleri ile ST oluşumu arasındaki ilişkinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran, günlük 75 mg klopidogrel ve 100 mg

aspirin tedavisi uygulanan 73 KAH'ı olan birey dahil edilmiştir. PKG sonrası bir yıllık takip süresince ST gözlenen 37 kişi hasta grubunu, ST de dahil olmak üzere herhangi bir istenmeyen kardiyovasküler hastalık durumu gözlenmeyen 36 kişi ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Çalışma retrospektif ve gözlemsel bir olgu-kontrol çalışması olarak gerçekleştirilmiştir. Her iki grubu oluşturan bireylere deney sonuçlarını daha iyi yorumlayabilmek için aynı tipte çıplak metal stent (ilaçsız stent) takılmıştır.

Son üç ay içerisinde inme geçirmiş olan, hemodinamik instabilite, maligniteler, aktif kanama veya kanama diyatezi, bir ay öncesinde geçirilen büyük bir ameliyat veya yakın zamanda travma, şüpheli aort diseksiyonu olan, 14 gün içinde glikoprotein IIb/IIIa inhibitörü veya 7 gün içinde oral antikoagülasyon almış bireyler, uygulanan ilaçlara alerjik reaksiyon gösteren ya da gebelik durumu veya şüphesi bulunan bireyler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Helsinki deklarasyonuna uygunluğu bulunan çalışma, Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır

(26.04.2017, Karar no: 713). PKG öncesi her bir birey çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş ve kendilerinden yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Hastaların Takip Edilmesi

PKG sonrası çalışmaya dahil edilen hastalar en az 2 gün süreyle hastanede kontrol altında tutulmuştur. Hastalar ameliyattan 180 gün (± 7 gün) sonra telefonla aranarak genel durumları sorulmuş; ihtiyaç duydukları takdirde istedikleri zaman bu konudaki uzman kişilerle iletişime geçebilecekleri konusunda bilgilendirilmiştir. Kardiyak semptomları olan hastalar ile poliklinikte tam klinik, elektrokardiyografi (EKG) ve laboratuvar tetkikleri için görüşülmüştür. Hasta verileri titizlikle toplanmış ve bilgisayar veri tabanına girilmiştir. İlgili doktorlardan, hasta yakınlarından ve hastane dökümanlarından elde edilen hastalar ile ilişkili veriler dikkatlice bilgisayar ortamına geçirilmiştir. Hastalar 1 yıl süre ile takip edilmiştir.

Kan Örneği Toplanması ve Genotipleme Çalışmaları

Tüm hastaların arteriyel kılıfından, PKG öncesi direkt tanısal anji-

Tablo 1, Çalışma gruplarının karakteristik özellikleri

Karakteristik Özellikler	Gruplar (Katılımcı Sayısı)		p
	Kontrol (n=36)	Hasta (n=37)	
D vitamini seviyesi (ng/mL)	17,83 \pm 5,12	14,77 \pm 5,05	0,012*
Yaş (yıl)	59,31 \pm 10,24	58,81 \pm 11,84	0,849
Açlık kan şekeri düzeyi (mg/dL)	117,17 \pm 37,52	116,92 \pm 35,22	0,977
Total kolesterol (mg/dv)	184,06 \pm 50,73	191,65 \pm 53,41	0,536
Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) (mg/dL)	129,08 \pm 127,08	115,75 \pm 38,15	0,544
Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) (mg/dL)	40,42 \pm 9,04	39,41 \pm 8,12	0,618
Trigliserit (mg/dL)	164,44 \pm 100,92	172,70 \pm 106,49	0,735
Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği (RDW) (%)	13,24 \pm 1,42	13,81 \pm 1,44	0,095
Ortalama trombosit hacmi (MPV) (fl)	8,97 \pm 1,04	9,12 \pm 0,85	0,536
Beyaz kan hücreleri (WBC) (x1000/ μ l)	9,12 \pm 2,73	9,41 \pm 2,57	0,643
Ejeksiyon fraksiyonu (EF) (%)	54,17 \pm 8,66	51,35 \pm 8,87	0,174
HbA1c (%)	6,13 \pm 1,21	6,11 \pm 0,91	0,924
C reaktif protein (CRP) (mg/mL)	0,91 \pm 0,45	1,78 \pm 0,87	<0,001**
Hemoglobin (Hb) (g/dL)	13,99 \pm 1,27	13,17 \pm 1,70	0,024*
Serum kreatinin (mg/dL)	0,95 \pm 0,21	1,09 \pm 1,03	0,406
Trombosit sayısı (x100,000/ μ l)	238,94 \pm 77,89	243,24 \pm 78,96	0,816
Stent uzunluğu (mm)	19,72 \pm 8,13	20,93 \pm 8,78	0,543
Stent çapı (mm)	3,06 \pm 0,41	3,05 \pm 0,43	0,919
Hiperlipidemi (%)	13 (%36,1)	17 (%45,9)	0,393
Hipertansiyon (%)	15 (%41,7)	29 (%78,4)	0,001*
Sigara içme hikayesi (%)	11 (%30,6)	20 (%54,1)	0,042*
Diabetes mellitus (%)	11 (%30,6)	10 (%27)	0,739
Önceden miyokard infarktüsü geçirme durumu (%)	29 (%80,6)	23 (%62,2)	0,083
PCI endikasyonunu gösteren akut koroner sendrom varlığı (%)	30 (%83,3)	35 (%94,6)	0,124
Ailesel KAH hikayesi (%)	19 (%52,8)	28 (%75,7)	0,041*
D vitamini eksikliği	20 (%55,6)	30 (%81,1)	0,019*
Koroner arter by-pass greft hikayesi	2 (%5,6)	4 (%10,8)	0,414
Uyku apnesi	5 (%13,9)	3 (%8,1)	0,479

*p<0,05 **p<0,001

yografi yapıldıktan sonra tam kan örnekleri alınmıştır. Genomik DNA, firma talimatlarına uygun olarak kandan DNA izolasyon kiti (Roche) kullanılarak 200 mL kan içinden izole edilmiştir. DNA saflığı ve konsantrasyonu NanoDrop spektrofotometre (Thermo Scientific) ile ölçülmüştür. VDR genindeki rs2228570 ve rs1544410; VDBP genindeki rs4588 ve rs7041 mutasyonlarının tayini 7500 Hızlı Gerçek-Zamanlı PZR (GZ-PZR) sisteminde (Applied Biosystems) gerçekleştirilmiştir. rs7041, rs4588, rs1544410 ve rs2228570 mutasyonlarının tayini için sırasıyla C-3133594-30, C-8278879-10, C-8716062-10, C-12060045-20 numaralı Taqman genotipleme kitleri kullanılmıştır. Deneyler ilgili firmanın kit protokollerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler için Statistical Packages for the Social Sciences (SPSS) 24.0 versiyonu (IBM Corp.; Armonk, NY, USA) kullanılmıştır. Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma (SD) olarak ifade edilirken kategorik değişkenler, frekanslar ve yüzdeler olarak ifade edilmiştir. Normal dağılım varsayımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin iki grup arasındaki ortalamalarını karşılaştırmak için iki bağımsız örneklem t testi kullanılmıştır. Normal dağılıma uymayan risk faktörlerinin genotipler arasındaki karşılaştırması için Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık varsa, çift karşılaştırma için Mann-Whitney U testi uygulanmıştır ve p değerlerine Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Genotiplerin gruplara göre dağılımı kıyaslamak için Ki-kare analizi yapılmıştır. Tek değişkenli ve çokterimli (multinomial) lojistik regresyon analizi yöntemi ile istatistiksel olarak anlamlı bulunan risk faktörlerinin gruplara göre odds oranı hesaplanmış ve her değişken için bu değerlerin %95 güven aralıkları verilmiştir. Çok değişkenli analizde, tek değişkenli analizlerde hastalık durumunu öngörmedeki istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenen bağımsız faktörler, ileri koşullu yöntem kullanılarak çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. p değerlerinin 0,05'den küçük olması (p<0,05) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma Grupları

Tablo 1'de çalışmaya katılan bireylerin temel karakteristik özellikleri gösterilmiştir. Gruplar arasında karşılaştırılma yapıldığında D vitamini seviyesi, hipertansiyon, sigara içme hikayesi, ailesel KAH hikayesi, hemogloblin, D vitamini eksikliği ve C reaktif protein (CRP) seviyesi hasta grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05).

Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlılık bulunan risk faktörlerinin odds oranları, odds oranlarına göre %95 güven aralıkları ve p değerleri Tablo 2'de sunulmuştur.

VDR ve VDBP Genotiplemesi

Tablo 3'te gruplar arasındaki genotip dağılımları görülmektedir. Hasta grubunda VDBP genindeki rs4588 mutasyonunu homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan bireylerin sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0,05).

Gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunan Tablo 1, 2 ve 3'teki veriler incelendikten sonra, bağımsız değişkenlerin birlikte bağımlı değişken olan hastalık durumunu etkileyip etkilemediği ileri koşullu yöntem kullanılarak çok değişkenli lojistik regresyon ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda tek başına hipertansiyon varlığının bağımlı

Tablo 2. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlılık bulunan risk faktörlerinin odds oranları, odds oranlarına göre % 95 güven aralıkları ve p değerleri

Karakteristik Özellikler	Odds oranları	Odds oranlarına göre % 95 güven aralıkları	p
D vitamini eksikliği	3,42	1,196-9,828	0,022*
D vitamini seviyesi (ng/mL)	0,88	0,806-0,978	0,016*
C reaktif protein (CRP) (mg/mL)	1,2	0,913-1,576	0,191
Hemogloblin (Hb) (g/dL)	0,692	0,498-0,961	0,028*
Hipertansiyon (%)	5,075	1,82-14,152	0,002*
Sigara içme hikayesi (%)	2,674	1,024-6,98	0,045*
Ailesel KAH hikayesi (%)	2,78	1,028-7,537	0,044*

*p<0.05

Tablo 3. Gruplar arasındaki genotip dağılımları

Gen, genotip ve nükleotid varyasyonu	Gruplar (Katılımcı sayısı)		p
	Kontrol (n=36)	Hasta (n=37)	
VDBP			
rs4588			
CC	30 (%83,3)	22 (%54,5)	0,027*
CA	6 (%16,7)	10 (%27)	
AA	0 (%0)	5 (%13,5)	
rs7041			
GG	10 (%27,8)	10 (%27)	0,985
GT	11 (%30,6)	12 (%32,4)	
TT	15 (%41,7)	15 (%40,5)	
VDR			
rs2228570			
TT	7 (%19,4)	2 (%5,4)	0,187
TC	11 (%30,6)	14 (%37,8)	
CC	18 (%50)	21 (%56,8)	
rs1544410			
GG	8 (%22,2)	15 (%40,5)	0,238
GA	21 (%58,3)	17 (%45,9)	
AA	7 (%19,4)	5 (%13,5)	

*p<0.05

değişkende (hastalık gelişmesinde) istatistiksel olarak anlamlı bir risk faktörü oluşturduğu tespit edilmiştir (p=0,04, odds oranı=4,592 %95 GA(1,631-12,924).

Tablo 4'te gruplar arasındaki allel frekansı dağılımları görülmektedir. Hasta grubunda VDBP genindeki rs4588 mutasyonunun A allelini taşıyanların sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0,05). Kontrol grubunda ise aynı

Tablo 4. Gruplar arasındaki allel frekansı dağılımları

Nükleotid varyasyonları	Gruplar ve allel dağılımları		Odds oranları	Odds oranlarına göre % 95 güven aralıkları	p
	Kontrol (n=72)	Hasta (n=74)			
VDBP					
rs4588					
C	66 (%91,7)	54 (%73)	0,245	0,092-0,654	0,003*
A	6 (%8,3)	20 (%27)			
rs7041					
G	31 (%43,1)	32 (%43,2)	1,008	0,523-1,940	0,982
T	41 (%56,9)	42 (%56,8)			
VDR					
rs2228570					
T	25 (%34,7)	18 (%24,3)	0,604	0,294-1,241	0,168
C	47 (%65,3)	56 (%75,7)			
rs1544410					
G	37 (%51,4)	47 (%63,5)	1,647	0,85-3,191	0,138
A	35 (%48,6)	27 (%36,5)			

Tablo 5. rs1544410 mutasyonu ile HbA1c arasındaki ilişki

Risk faktörleri-mutasyon ilişkisi	Genotip dağılımları			p
	Yabanıl tip	Homozigot mutasyon	Heterozigot mutasyon	
rs1544410				
HbA1c	5,88±0,96*	6,95±1,35*'	6±0,91'	p=0,008*, p=0,044'

*Yabanıl tip-homozigot mutasyon arasındaki kıyaslamayı ifade etmektedir (p<0,05).
 'Homozigot mutasyon ile heterozigot mutasyon arasındaki kıyaslamayı ifade etmektedir (p<0,05).

mutasyonun C allelini taşıyanların sayısı hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak tespit edilmiştir (p<0,05).

Tespit edilen mutasyonların allel frekansları ki-kare testi ile incelenmiştir.

Risk Faktörleri, VDR ve VDBP Mutasyonları Arasındaki İlişki

Risk faktörleri ile mutasyonlar arasında ilişki incelenmiş olup sadece diyabet hastalığı ve HbA1c ile rs1544410 mutasyonu arasında anlamlılık tespit edilmiştir. Diyabet hastalığı olan bireylerde VDR genindeki rs1544410 mutasyonunun olması durumu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0,035). Hb1Ac ile rs1544410 mutasyonu arasındaki ilişki ise Tablo 5'te özetlenmiştir.

HbA1c değeri ile genotipler arasındaki ilişki Kruskal Wallis testi ile incelenmiştir.

Diyabet hastalığı olan bireylerde genotipler arasındaki ilişki ki-kare testi ile incelenmiştir.

TARTIŞMA

KAH'ı olan bireylerde stent implantasyonu hastalığın tedavisinde kullanılan en yaygın ve etkili yöntemler arasında yer almaktadır. Hastalara stent takılmasını takip eden belli dönem aralığında hastalarda nadir ancak oldukça tehlikeli kabul edilen ST oluşum riski bulunmaktadır (25). ST'yi tetikleyen en önemli faktör, ilgili stentin yerleştirildiği

damar duvarında endotel hücre oluşumunun görülmesidir. Sağlıklı endotel hücreleri trombolizi, trombosit ve lökosit etkileşimini, vasküler büyümeyi düzenlemektir. Endotel fonksiyon kaybıysa vasospazm, vazokonstriksiyon, aşırı tromboz ve anormal vasküler proliferasyonu tetikleyebilmektedir (1). Çalışmalar D vitamini eksikliğinin vasküler fonksiyonu büyük ölçüde, yapılan D vitamini takviyesinin ise endotel fonksiyonunu olumlu şekilde etkilediğini göstermektedir (26). Ayrıca olası D vitamini eksikliğinin sistemik ve vasküler inflamasyonu tetiklediği buna karşılık, D vitamininin biyolojik açıdan aktif formunun birçok immün düzenleyici fonksiyonunun olduğu bilinmektedir (12, 27). Bu çalışmada stent yerleştirilmiş KAH hastalarında, özellikle mevcut D vitamini seviyesinin ve D vitamini eksikliğinin istatistiksel açıdan anlamlı bulunması benzer diğer çalışmalarla örtüşmektedir (sırasıyla p=0,012 ve 0,019) (2, 28). Yine de D vitamini eksikliğinin düzeltilmesinin kardiyovasküler hastalığın önlenmesine katkıda bulunup bulunmadığının belirlenmesi için daha ileri klinik ve deneysel çalışmalar yapılmalıdır.

Birçok çalışmada, hipertansiyonun kardiyovasküler hastalıklar üzerinde önemli bir etkisi olduğu belirlenmiştir (2, 12, 28, 29). Özellikle D vitamini eksikliği görülen hipertansiyon hastalarında, D vitamini düzeyi normal olan hipertansiyon hastalarına oranla KAH görülme riskinin yaklaşık 2 kat arttığı gösterilmiştir (27). Hipertansiyonlu hastalarda, haftada üç kez 3 ay süreyle ultraviyole B radyasyonuna maruz kalan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, 25-hidroksivitamin D düzeyleri yaklaşık %180 arttığı ve kan basıncının normale döndüğü (sistolik ve diyastolik kan basıncı 6 mm Hg olarak) gösterilmiştir (30). Çalışma-

mızda ST gözlenen KAH hastalarında hipertansiyon görülmesi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Ancak hastalığın multifaktöriyel ve genetik kökenli oluşu, hipertansiyonun tek başına öngörücü bir faktör olarak değerlendirilmesini sınırlar niteliktedir (31, 32).

Ailede KAH geçmişinin oluşu, hastalığın progresyonunda geleneksel risk faktörleri arasında yer almakta olup herhangi bir kardiyovasküler rahatsızlığı bulunmayan bireyler için de öngörücü faktör konumunda yer almaktadır (29). Genel popülasyon göz önünde bulundurulduğunda bir hasta bireyin birinci dereceden akrabalarında KAH görülme durumu varsa, o bireyde, KAH görülme riskinin 1 ile 12 kat arasında arttığı belirlenmiştir (33). Günümüzde 84,373 hasta katılımıyla gerçekleştirilen ortalama 5,6 yıllık bir takip periyodu bulunan geniş çaplı bir premature KAH ailesel geçmişinin, hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen diğer faktörlere bağlı ölüm oranında yaklaşık %23'lük bir azalma olduğu bulunmuştur (29). Bizim çalışmamızda ise ailesel KAH geçmişinin, ST oluşumunda etkili olduğu ve bu durumun istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p=0,041). Bununla birlikte çalışmamızda ve benzer diğer çalışmalarda kardiyovasküler hastalıkların progresyonunu etkilediği varsayılan temel sosyoekonomik ve psikolojik faktörlerin incelenememiş olması sınırlayıcı bir durum olarak kabul edilmektedir.

Sigara kullanımı ve sigara dumanı solumak, periferik, koroner ve serebral aterosklerotik vasküler hastalığın erken veya hızlandırılmış gelişimi için önemli risk faktörleri arasında gösterilmektedir (34). Sigara kullanımının, radikal türlerin doğrudan hasarlanması ve sigara içilmesinin neden olduğu iltihaplanma yanıtı dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalara bağlı olarak artmış oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir (35). Ülkemizde KAH'dan kaynaklanan morbidite ve mortalite oldukça yüksektir (36). Yapılan bir çalışmada, Türkiye'de kardiyovasküler arter hastalığına yakalanmış bireylerin %50'sinin 50 yaşın altında olduğu tespit edilmiştir. Ülkemiz tüm popülasyonlar içinde erken KAH prevalansına en yüksek oranla sahip ülke konumundadır. Başlıca nedenlerden biri de yüksek oranda sigara tüketimidir (37). Bir diğer çalışmada koroner obstruktif akciğer hastalığı (KOA) olan bireylerde stent implantasyonunu takip eden yıllarda ST oluşum riskinin arttığı tespit edilmiştir (38). Çalışmamızda diğer çalışmalarla benzer olarak sigara kullanan KAH'lı bireylerde ST oluşumunun arttığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen bir diğer önemli sonuç ise, inflamasyonla ilişkili olduğu düşünülen CRP seviyesinin ST hasta grubunda, kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan oldukça yüksek bulunmuş olmasıdır (p<0,001). Bilindiği kadarıyla KAH, trombosit aktivasyonu, tromboz oluşumu, endotel disfonksiyonu, vasküler düz kas hücreleri üretimi veya inflamasyon nedeniyle oluşabilmektedir (28). Ayrıca D vitamini eksikliğinin CRP seviyesinde artışa neden olabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, 6 ay süreyle, her iki haftada bir, 50,000-IU D vitamini takviyesi yapılan (D vitamini grubu) ve yapılmayan (plasebo grubu) diyabetli KAH hastalarından oluşan iki grupta, 6 ayın sonunda D vitamini grubunun CRP seviyesinde plasebo grubuna göre istatistiksel düzeyde anlamlı bir azalma belirlenmiştir (39). Çalışmamızda da D vitamini seviyesinde ve eksikliğinde, ST hastalarında anlamlı düzeyde düşüklüğün belirlenmiş oluşu, ST hastalığı ile D vitamini ve CRP arasında kuvvetli muhtemel bir ilişkinin olduğunu düşündürmektedir.

Miyokard infarktüsü (MI) ve PKG sonrası KAH'ı olan hastalarda daha düşük hemoglobin değeri bir risk faktörü olarak kabul görmektedir. Düşük kreatinin ve hemoglobin düzeyi hem iskemik hem de kanama

komplikasyonları ile ilişkili bulunmuştur. Yine aynı çalışmada, ölçülen klopidogrel ve aspirinin bozulmuş trombosit yanıtının ST ve kardiyak ölüm riskinde artışa neden olduğu belirlenmiştir (40). Çalışmamıza dahil olan bireylerin klopidogrel ve aspirin tedavisi gördüğü düşünüldüğünde düşük hemoglobin seviyesi beklenebilecek bir durum olarak görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, hemoglobin düzeyinin <15 veya ≥17,0 g/dL olduğu yetişkin bireylerde, KAH ile ilişkilendirilen kardiyak olaylarda, hemoglobin artmış risk faktörü olarak gösterilmektedir (41). Günümüzde, arteriyel intima-media kalınlaşmasının görülmesi, sempatik sinir sistemi ve renin-anjyotensin-aldosteron ekseninin aktivasyonu ve artmış proinflamatuvar sitokin seviyelerini de içeren çeşitli varsayımsal mekanizmalar tanımlanmış olmasına rağmen, düşük hemoglobin değerinin, KAH'a neden olan diğer risk faktörleriyle ilişkili olup olmadığı halen belirsizliğini korumaktadır. Çalışmamızda ise düşük hemoglobin değeri ile KAH hastalarında ST oluşumu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

D vitamini seviyesinin ve eksikliğinin kardiyovasküler hastalıklar ile yakından ilişkili olduğunu gösteren birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (2, 42, 43). Özellikle D vitamininin, VDR ve VDBP proteinlerinin görev aldığı yollarla yoluyla hastalığın progresyonunu önemli ölçüde etkilediği düşünülmektedir. Şimdiye kadar D vitamini metabolizmasında etkili olduğu düşünülen genlerde gözlenen SNP'ler ile KAH hastalarında ST oluşumunu ilişkilendiren bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada, bildiğimiz kadarıyla ilk defa, ST gözlenen grupta VDBP genindeki rs4588 mutasyonunu homozigot ya da heterozigot olarak taşıyan bireylerin sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

D vitamini eksikliği, artmış insülin direncine ve pankreatik beta hücre işlev bozukluğuna yol açan reseptör aracılı etkileri nedeniyle diabetes mellitus ve metabolik sendrom ile ilişkilendirilmiştir (44). Çalışmamızda risk faktörleri ile mutasyonlar arasındaki anlamlılık incelendiğinde diyabet hastalığı olan bireylerde rs1544410 mutasyonunun homozigot olarak bulunması durumunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. VDR gen varyantları ile aynı zamanda diyabet hastası olan KAH hastaları arasında olası bir ilişki olup olmadığını araştırmak için yapılan bir çalışmada ise Bsm1 polimorfizminin A alleli ile diyabetli KAH hastaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık tespit edilmiştir (45).

Çalışmamızda Hb1Ac ile rs1544410 mutasyonu arasında da benzer bir anlamlılık tespit edilmiş olup, hastalarda ilgili mutasyon olması durumunda glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) düzeyinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. HbA1c, diyabet hastalarında uzun süreli glisemik kontrolün belirleyici bir işareti olarak kabul edilmektedir ve yüksek HbA1c seviyesinin daha ileri mikrovasküler ve makrovasküler hastalık riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışmada KAH için HbA1c'nin prognostik önemi gösterilmiştir (46). Çalışmamızda aynı mutasyonun (rs1544410) diyabet hastalığı ile de ilişkili olduğu göz önünde bulundurulduğunda elde edilen sonuç önemli bir bulgu olarak göze çarpmaktadır. Ancak bu allelik ilişkinin altında yatan mekanizmaları ortaya koyan ileri araştırmalar yapılmalı, bulunan veriler desteklenmelidir.

SONUÇ

Bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda, özellikle D vitamini eksikliğinin, VDBP genindeki rs4588 mutasyonunun ve KAH oluşumunda etkili olan diğer birkaç risk faktörünün KAH hastalarına stent takılmasını takiben ST oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için Etik komite onayı Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'dan alınmıştır (27.04.2017, protokol no: 713).

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Tasarım - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Denetleme - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Kaynaklar - D.K., T.İ., K.Y.; Malzemeler - D.K., T.İ., K.Y.; Veri Toplanması ve/veya işleme - D.K., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Analiz ve/veya Yorum - D.K., T.İ., K.Y., E.Ç.A.; Literatür taraması - D.K., H.G.; Yazıyı Yazan - D.K., T.İ., K.Y., H.G.; Eleştirel İnceleme - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Yeditepe University Clinical Researches Ethics Committee (27.04.2017, protocol number: 713).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author contributions: Concept - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Design - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Supervision - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Resource - D.K., T.İ., K.Y.; Materials - D.K., T.İ., K.Y.; Data Collection &/or Processing - D.K., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.; Analysis &/or Interpretation - D.K., T.İ., K.Y., E.Ç.A.; Literature Search - D.K., H.G.; Writing - D.K., T.İ., K.Y., H.G.; Critical Reviews - D.K., T.İ., K.Y.; A.E., E.Ç.A., H.G.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Hamasaki S, Tei C. Effect of coronary endothelial function on outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *J Cardiol* 2011; 57: 231-8. [CrossRef]
2. Dhibar DP, Sharma YP, Bhadada SK, Sachdeva N, Sahu KK. Association of Vitamin D Deficiency with Coronary Artery Disease. *J Clin Diagn Res* 2016; 10: OC24-OC8. [CrossRef]
3. Reejhsinghani R, Lotfi AS. Prevention of stent thrombosis: challenges and solutions. *Vasc Health Risk Manag* 2015; 11: 93-106.
4. Lemesle G, Delhay C, Bonello L, de Labriolle A, Waksman R, Pichard A. Stent thrombosis in 2008: definition, predictors, prognosis and treatment. *Arch Cardiovasc Dis* 2008; 101: 769-77. [CrossRef]
5. Buchanan GL, Basavarajaiah S, Chieffo A. Stent thrombosis: incidence, predictors and new technologies. *Thrombosis* 2012; 2012: 956962. [CrossRef]
6. Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, Abrecht L, Vaina S, Morger C, et al. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *Lancet* 2007; 369: 667-78. [CrossRef]
7. Balghith MA, Alghamdi AM, Ayoub KM, Saleh AA, Aziz MS, Algahtany M, et al. Stent thrombosis is a major concern in clinical practice: A single Saudi center experience. *J Saudi Heart Assoc* 2013; 25: 233-8. [CrossRef]
8. Joner M, Finn AV, Farb A, Mont EK, Kolodgie FD, Ladich E, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 193-202. [CrossRef]
9. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006; 354: 1706-17. [CrossRef]
10. Yu JR, Lee SA, Lee JG, Seong GM, Ko SJ, Koh G, et al. Serum vitamin D status and its relationship to metabolic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus. *Chonnam Med J* 2012; 48: 108-15. [CrossRef]
11. Pilz S, Tomaschitz A, Ritz E, Pieber TR. Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review. *Nat Rev Cardiol* 2009; 6: 621-30. [CrossRef]
12. Sen F, Yilmaz S, Balci KG, Sen O, Gul M, Cay S, et al. The relationship between vitamin D levels and saphenous vein graft patency. *Coron Artery Dis* 2015; 26: 328-32. [CrossRef]
13. Gupta GK, Agrawal T, Del Core MG, Hunter WJ 3rd, Agrawal DK. Decreased expression of vitamin D receptors in neointimal lesions following coronary artery angioplasty in atherosclerotic swine. *PLoS One* 2012; 7: e42789. [CrossRef]
14. Young KA, Snell-Bergeon JK, Naik RG, Hokanson JE, Tarullo D, Gottlieb PA, et al. Vitamin D deficiency and coronary artery calcification in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34: 454-8. [CrossRef]
15. Hamid H, Coltart J. 'Miracle stents'--a future without restenosis. *Mcgill J Med* 2007; 10: 105-11.
16. Abu El Maaty MA, Hassanein SI, Gad MZ. Genetic variation in vitamin D receptor gene (Fok1:rs2228570) is associated with risk of coronary artery disease. *Biomarkers* 2016; 21: 68-72. [CrossRef]
17. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338: 143-56. [CrossRef]
18. Laczanski L, Milewicz A, Lwow F, Puzianowska-Kuznicka M, Pawlak M, Kolackov K, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism and cardiovascular risk variables in elderly Polish subjects. *Gynecol Endocrinol* 2013; 29: 268-72. [CrossRef]
19. Yao P, Sun L, Lu L, Ding H, Chen X, Tang L, et al. Effects of Genetic and Non-genetic Factors on Total and Bioavailable 25(OH)D Responses to Vitamin D Supplementation. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102: 100-10.
20. Verschuren JJ, Trompet S, Sampietro ML, Heijmans BT, Koch W, Kastrati A, et al. Pathway analysis using genome-wide association study data for coronary restenosis--a potential role for the PARVB gene. *PLoS One* 2013; 8: e70676. [CrossRef]
21. Holmes DR, Jr, Kereiakes DJ, Garg S, Serruys PW, Dehmer GJ, Ellis SG, et al. Stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56: 1357-65. [CrossRef]
22. Finn AV, Joner M, Nakazawa G, Kolodgie F, Newell J, John MC, et al. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization. *Circulation* 2007; 115: 2435-41. [CrossRef]
23. Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G, et al. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA* 2005; 293: 2126-30. [CrossRef]
24. Kirac D, Erdem A, Avcilar T, Yesilcimen K, Guney AI, Emre A, et al. Effects of genetic factors to stent thrombosis due to clopidogrel resistance after coronary stent placement. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2016; 62: 51-5.
25. Tuncez A, Cetin MS, Cetin EH, Yilmaz S, Korkmaz A, Ucar FM. Association between RDW and stent thrombosis in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e5986. [CrossRef]
26. Kassi E, Adamopoulos C, Basdra EK, Papavassiliou AG. Role of vitamin D in atherosclerosis. *Circulation* 2013; 128: 2517-31. [CrossRef]
27. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 117: 503-11. [CrossRef]
28. Chen WR, Qian YA, Chen YD, Shi Y, Yin DW, Wang H, et al. The effects of low vitamin D on coronary artery disease. *Heart Lung Circ* 2014; 23: 314-9. [CrossRef]
29. Abdi-Ali A, Shaheen A, Southern D, Zhang M, Knudtson M, White J, et al. Relation Between Family History of Premature Coronary Artery Disease and the Risk of Death in Patients With Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2016; 117: 353-8. [CrossRef]

30. Krause R, Bühring M, Hopfenmüller W, Holick MF, Sharma AM. Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet* 1998; 352: 709-10. [\[CrossRef\]](#)
31. Valerio L, Peters RJ, Zwinderman AH, Pinto-Sietsma SJ. Association of Family History With Cardiovascular Disease in Hypertensive Individuals in a Multiethnic Population. *J Am Heart Assoc* 2016; 5: e004260. [\[CrossRef\]](#)
32. Lin MJ, Chen CY, Lin HD, Wu HP. Impact of diabetes and hypertension on cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease receiving percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord* 2017; 17: 12. [\[CrossRef\]](#)
33. Rissanen AM, Nikkila EA. Coronary artery disease and its risk factors in families of young men with angina pectoris and in controls. *Br Heart J* 1977; 39: 875-83. [\[CrossRef\]](#)
34. Kamceva G, Arsova-Saradinovska Z, Ruskovska T, Zdravkovska M, Kamceva-Panova L, Stikova E. Cigarette Smoking and Oxidative Stress in Patients with Coronary Artery Disease. *Open Access Maced J Med Sci* 2016; 4: 636-40. [\[CrossRef\]](#)
35. Bruno RS, Traber MG. Vitamin E biokinetics, oxidative stress and cigarette smoking. *Pathophysiology* 2006; 13: 143-9. [\[CrossRef\]](#)
36. Tokgozoglu L, Baris Kaya E. Atherosclerotic vascular disease and risk factors in Turkey: from past to present. *J Atheroscler Thromb* 2008; 15: 286-91. [\[CrossRef\]](#)
37. Tokgozoglu L, Kaya EB, Erol C, Ergene O, Group EITS. EUROASPIRE III: a comparison between Turkey and Europe. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2010; 38: 164-72.
38. Jatene T, Biering-Sorensen T, Nochioka K, Mangione FM, Hansen KW, Sorensen R, et al. Frequency of Cardiac Death and Stent Thrombosis in Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease Undergoing Percutaneous Coronary Intervention (from the BASKET-PROVE I and II Trials). *Am J Cardiol* 2017; 119: 14-19. [\[CrossRef\]](#)
39. Farrokhian A, Raygan F, Bahmani F, Talari HR, Esfandiari R, Esmaillzadeh A, et al. Long-Term Vitamin D Supplementation Affects Metabolic Status in Vitamin D-Deficient Type 2 Diabetic Patients with Coronary Artery Disease. *J Nutr* 2017; 147: 384-9. [\[CrossRef\]](#)
40. Kukula K, Klopotoski M, Kunicki P, Jamiolkowski J, Debski A, Bekta P et al. Platelet aggregation and the risk of stent thrombosis or bleeding in elective percutaneous coronary intervention patients. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2017; 28: 383-8. [\[CrossRef\]](#)
41. Chonchol M, Nielson C. Hemoglobin levels and coronary artery disease. *Am Heart J* 2008; 155: 494-8. [\[CrossRef\]](#)
42. Aggarwal R, Akhthar T, Jain SK. Coronary artery disease and its association with Vitamin D deficiency. *J Midlife Health* 2016; 7: 56-60. [\[CrossRef\]](#)
43. Modarresi-Ghazani F, Hejazi ME, Gharekhani A, Entezari-Maleki T. Role of Vitamin D in Cardiovascular Disease. *Arch Iran Med* 2016; 19: 359-62.
44. Pittas AG, Dawson-Hughes B. Vitamin D and diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 425-9. [\[CrossRef\]](#)
45. Pleva L, Kovarova P, Faldynova L, Plevova P, Hilscherova S, Zapletalova J, et al. The rs1803274 polymorphism of the BCHE gene is associated with an increased risk of coronary in-stent restenosis. *BMC Cardiovasc Disord* 2015; 15: 135. [\[CrossRef\]](#)
46. Malmberg K, Ryden L, Wedel H, Birkeland K, Bootsma A, Dickstein K, et al. Intense metabolic control by means of insulin in patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction (DIGAMI 2): effects on mortality and morbidity. *Eur Heart J* 2005; 26: 650-61. [\[CrossRef\]](#)