T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet Kenan YALTA

BÖLGEMİZDE KORONER YAVAŞ AKIM SAPTANAN HASTALARDA ENOS GENİNİN GLU 298-ASP VE T786-C POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Cihan ÖZTÜRK

EDİRNE-2017

TEŞEKKÜR

Bilgisi, tecrübesi ve cana yakın kişiliğiyle uzmanlık eğitimimde ve tez hazırlama sürecinde yanımda olan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Kenan YALTA'ya, Kardiyoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Hanefi Yekta GÜRLERTOP'a, bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yanımızda olan değerli hocalarıma, çalıştığım tüm asistan doktor arkadaşlarıma, tezim konusunda katkıda bulunan Biyofizik ABD'de görevli Dr.Metin BUDAK'a ve beraber çalışma fırsatı bulduğum tüm branşlardaki çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca beni büyütüp bugünlere getiren canım aileme ve bu mesleğe atıldığım ilk günden beri yanımda olan ve her zaman desteğini yanıbaşımda hissettiğim eşim Nagehan Esra ÖZTÜRK'e en içten teşekkürlerimi sunarım. İyi ki varsınız…

Bu tez TÜBAP'ın 2017728 numaralı projesi ile finanse edilmiştir.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- KORONER AKIM ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ 3
- KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN FİZİKSEL FAKTÖRLER 3
- KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN METABOLİK FAKTÖRLER 4
- KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN HUMORAL FAKTÖRLER 4
- KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN NÖRAL FAKTÖRLER 4
- KORONER YAVAŞ AKIM FENOMENİ 5
- NİTRİK OKSİT ÖZELLİKLERİ 9
- NİTRİK OKSİT SENTEZİ VE NİTRİK OKSİT SENTAZ 11
- ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİ 13
- GENETİK VE GEN POLİMORFİZMİ İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER 13
- ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİ'NİN POLİMORFİZMLERİ 14
- ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİNİN T-786C VE GLU-298ASP POLİMORFİZMLERİ 14

GEREÇ VE YÖNTEMLER 15

BULGULAR 22

TARTIŞMA 32

SONUÇLAR 36

ÖZET 37

SUMMARY 38

KAYNAKLAR 39

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ACEi : Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
Ach : Asetilkolin
AKS : Akut koroner sendrom
AMP : Adenozin monofosfat
Asp : Aspartat
AT2 : Anjiotansin 2
ATP : Adenozin trifosfat
Ca : Kalsiyum
cAMP : Siklik adenozin monofosfat
cGMP : Guanozin monofosfat
CX : **S**irkumfleks arter
DM : Diyabetes mellitus
EF : Ejeksiyon fraksiyonu
eNOS : Endotelyal nitrik oksit sentaz
ET-1 : Endotelin-1
Fe : Demir
Glu : Glutamat
HDL : Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HL : Hiperlipidemi
HT : Hipertansiyon
iNOS : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KAH : Koroner arter hastalığı

LAD **:** Sol ön inen arter

LDL **:** Düşük yoğunluklu lipoprotein

LMCA **:** Sol ana koroner arter

MI **:** Miyokard infarktüsü

NADPH **:** Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat

nNOS **:** Nöronal nitrik oksit sentaz

NO **:** Nitrik oksit

Non-ST MI **:** ST yükselmesiz miyokard infarktüsü

NOS **:** Nitrik oksit sentaz

RCA **:** Sağ koroner arter

Rs **:** Araştırmacılar tarafından kullanılan polimorfizm erişim numarası

STEMI **:** ST yükselmeli miyokard infarktüsü

TFC **:** TIMI kare sayısı

TIMI **:** Thrombolysis in Myocardial Infarction

USAP **:** Kararsız angina pektoris

GİRİŞ VE AMAÇ

Anjiyo ya da anjiyografi özellikle atardamar, toplardamar ve kalbin lümenini görüntüleyen medikal görüntüleme tekniğidir. Anjio, kelime anlamı olarak Yunanca angeion "damar" ve graphein "yazmak" anlamlarına gelmektedir. Anjiyografinin tarihi ise yaklaşık 100 yıllık bir geçmişe dayanmaktadır. 1929 yılında Werner Forssmann, 65 cm'lik bir kateter ile ön kol damarından girerek, x-ışını altında, kendi kalbinin görüntüsünü elde etti(1). Bu günden sonra başlayan araştırma ve bilim fırtınası bir çığ gibi büyüyerek bugünlere gelmiştir. Yıllar geçtikçe koroner kan akımının anatomisi ve fizyolojisi daha da araştırılır ve bilinir olmuştur. Ancak bu süreçte ortaya aydınlatılması gereken kimi sorunlar da çıkmıştır. Bunlardan biri olan koroner yavaş akım fenomenini Tambe ve arkadaşları 1972 yılında ilk olarak tanımlamışlardır (2). Anjiyografi sırasında epikardiyal koroner arterlerde herhangi bir engel oluşturacak darlık olmamasına rağmen kanın arterde yavaş ilerlemesi olarak tanımlanabilir. Bu durumun yapılan çalışmalarda ortalama olarak koroner anjiyografilerin %1-7 arasında saptandığını biliyoruz (3,4). Koroner yavaş akımlı hastaların klinik prezantasyonları çok çeşitli olabilir. Genellikle koroner arter hastalığı(KAH) benzeri semptom ve bulgularla hastaneye yatarlar. Efor anginası, kararsız angina pektoris (USAP), ST yükselmesiz (Non-ST MI) veya ST yükselmeli miyokard infarktüsü (STEMI) şeklinde gelebilirler (5). Bu kadar ciddi klinik başvurular ile gelebilen bu fenomenin etyopatolojisi hakkında değişik teoriler mevcuttur. Bunların başında kalbin mikrovasküler yatağının patolojileri olabileceği düşünülebilir. Nitekim daha önce yapılan bir çalışmada da sklerodermalı hastalarda koroner yavaş akım saptanmıştır (6). Fakat bu konudaki teorileri Li JJ ve arkadaşları sınıflandırmışlardır (7). Buna göre koroner yavaş akım fenomeni, bazı hastalarda aterosklerozun erken evresinin bir formu olabilir (4). Küçük damar fonksiyon bozukluğu da yine yavaş akıma yol açabilecek faktörlerden. Hatta yapılan bir çalışmada sol

ventrikül endomiyokardiyal biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemesi de bu teoriyi destekler niteliktedir (4). Koroner damar çaplarının artışı ve kan vizkositesinin artması da yine başka bir açıklama olabilir (8). Trombosit fonksiyon bozukluğu da yavaş koroner akım fenomeni patogenezinde rol oynayabilir (9,10). Ayrıca inflamasyonun da yavaş akım yapabileceğine dair kanıtlar vardır (7). Diğer bir teori ise vazokonstriktör ve vazodilatör faktörler arasındaki dengesizliğin mekanizması, koroner yavaş akıma neden olabileceği yönündedir (11,12). Bu durumda ise çok önemli bir vazodilatör molekül olan nitrik oksit (NO) akla gelmektedir.

Nitrik oksit güçlü bir vazodilatatördür ve vasküler bütünlüğü koruyan ve endotel fonksiyonunun düzenlenmesinde, kan basıncının kontrolünde ve kardiyovasküler homeostazda önemli bir rol oynayan önemli birçok potansiyel görevi vardır (13). Diğer hücresel mediatörler hücre yüzeyindeki kendilerine ait reseptörlere bağlanarak hücre içi cAMP miktarını artırarak etki gösterir, NO ise üretildiği hücreden direkt kendisi dışarı çıkar ve hedef hücreye ulaşıp direkt kendisi etki ederek istenen etkiyi oluşturur. NO, nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığıyla L-argininden sentezlenir. NOS tek bir enzim olmayıp üç izoenzimden oluşan bir izoenzim ailesidir. Bunlar endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve nöronal nitrik oksit sentazdır (nNOS). NOS izoenzimlerinin hepsinin ortak ürünü NO'dur fakat bulundukları yerler ve üstlendikleri roller farklıdır (14). Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS), düz kas gevşemesini sağlayarak hem kan basıncıyla hem kan akış hızıyla ilgili etkiler yapar (15,16). Yapılan çalışmalarda eNOS geninin Glu298Asp (894G / T) polimorfizminin allellerinden birinin, eNOS 'un aktivitesini azalttığına, dolayısıyla NO üretiminin azalmasına neden olduğuna inanılmaktadır.

Ayrıca yapılan gen çalışmalarında eNOS geninin promotor bölgesindeki T-786C baz değişiminin eNOS transkripsiyonunda %50 azalmaya neden olduğu ve bunun serum NO seviyelerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (17).

Bu nedenle, endotel disfonksiyonuyla ilişkili eNOS polimorfizmleri de koroner yavaş akımla ilişkili olabilir.

Literatürde koroner yavaş akımlı hastalarda eNOS gen polimorfizmini araştıran üç çalışma vardır (18-20). Bu çalışmalarda sadece tek bir polimorfizm çalışıldığından ve farklı sonuçlar elde edildiğinden biz bölgemizdeki aynı anda iki polimorfizmi Glu298-Asp (Rs1799983) ve T-786C (Rs2070744) birden çalışıp araştırmak istedik.

GENEL BİLGİLER

KORONER AKIM ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Miyokardın beslenmesi koroner arterler ile olur. Koroner arterler aort kapağın üzerinden ascenden aortadan iki ayrı ostiumdan çıkarlar. Sol koroner sinüsten sol ana koroner arter (LMCA), sağ koroner sinüsten sağ koroner arter(RCA) çıkar. LMCA daha sonra sol ön inen arter (LAD) ve sirkumfleks arter (CX) olarak devam eder. Miyokardın venöz sistemi ise LAD komşuluğunda ve ona paralel seyreden büyük kardiyak ven olarak başlayan koroner sinüs ve ona drene olan orta kardiyak ven ile kalbin lateralini drene edip yine koroner sinüse drene olan posterolateral ven şeklinde özetlenebilir. Koroner sinüs ise sağ atriyuma dökülür.

Miyokardın beslenmesini sağlayan koroner arterlerde kan sabit perfüzyon sağlamaz. Miyokardın ihtiyacına göre kan akımı artırılabilir hatta ihtiyacın durumuna göre koroner akım 5-6 kat artırılabilir (21). Koroner arterlerin bu değişken kan akım sağlama kapasitesine koroner kan rezervi denir. Normalde koroner kan akımı 60-90 ml/100gr/dk, O_2 tüketimi ise 8-10 ml/100gr/dk'dır (21). Fakat bu değişken durum bazı faktörler ile sağlanır. Bunlar fiziksel değişkenler, metabolik değişkenler, humoral değişkenler ve nöral değişkenlerdir.

KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN FİZİKSEL FAKTÖRLER

Fiziksel değişkenler koroner kan akımı üzerinde majör etkilere sahiptir. Örneğin ateroskleroz, konjenital anomaliler, tromboz ve vazokonstriksiyon koroner kan akımını azaltan bazı faktörlerdir (22). Bunlarında dışında miyokardın kasılması da koroner akımı azaltabilir. Miyokardın kasılması ile miyokard içi yerleşimli kapiller kompresyona uğrar. Bu durumda ileri akım engellenebileceği gibi bazen geri akım dahi oluşabilir (23). Ayrıca koroner damarlar sistol sırasında kıvrılma hareketi (twisting) yapabilir bu da koroner kan akımının engellenmesine

neden olabilir (24). Bu yüzden koroner arter akımı diyastol fazında gerçekleşir. Sol ventrikülde (SoV) daha belirgin olan bu durum sağ ventrikül (SaV) kasılma basıncının daha düşük olması sebebiyle sağ ventrikülde aynı değildir ve sağ ventrikül beslenmesi sistol ve diyastolde eşittir.

KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN METABOLİK FAKTÖRLER

En önemli metabolik faktörler adenozin, endoteliyal orijinli faktörler ve prostaglandinlerdir. Adenozin monofosfat'ın (AMP) yıkımı sonucu oluşan adenozin çok önemli bir koroner vazodilatördür ve koroner akımın metabolik kontrolünde esas rolü oynar (25). Endotelyal orijinli NO ve endotelin ya da anjiotensin 2(AT2) gibi maddeler de koroner kontraksiyonuna etki ederek koroener kan akımının düzenlenmesine etki eder (26). Tromboksan A2 (TxA2), seratonin ile vazopresin vazokonstriksiyon şeklinde etki ederler. Diğer çoğu prastaglandin koroner vazodilatasyon yapmalarına rağmen, koroner akıma etkileri hala net olarak aydınlatılmış değildir.

KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN HUMORAL FAKTÖRLER

Bilindiği gibi epinefrin (E) ve norepinefrin (Ne) periferik vasküler sistemde vazokonstrüksiyon yaparak vasküler etki sağlar. Aynı vazokonstriksüyonu koroner arterlerde de yaparlar. Ve bunu direkt etki ile yaparlar. Ancak indirekt etki ile de vazodilatasyon yaptığı da bilinmektedir. Bunu da pozitif inotropi ve kronotropik etki göstererek yaparlar.

Dopaminin etkisi doz bağımlıdır. Asetilkolin (Ach) ve adenozin belirgin vazodilatasyon yaparlar. Prostaglandinlerden tromboksan A2 (TXA2) vazokonstriksiyon yaparken, prostasiklin (PGI2) vazodilatasyon yapar (27). Vazopresinin yüksek konsantrasyonları direkt etkiyle koroner vazokonstriksiyon yaparken glukagon ile tiroid hormonları indirekt olarak vazodilatasyon yaparlar (27).

KORONER KAN AKIMINI ETKİLEYEN NÖRAL FAKTÖRLER

Otonom sinir sistemi koroner kan akımının kontrolünü sağlayan ana sistemdir. Epikardiyal arterler α ve β2, koroner arteriyoller ise dominant olarak β2 adrenerjik reseptörler içerirler, bu arteriyoller β1 reseptör ise içermezler (28).

Otonom sinir sistemi koroner arterlerdeki etkisini damar çapı ve damar içi basınca etki ederek yapar. Örneğin sempatik sinirlerin uyarılması koroner sistemde direkt etki olarak vazokonstrüksiyon yapar(damar içi basınç artışı), ancak bu etki sempatik sistemin yarattığı

pozitif inotropik ve kronotropik etkiyle oluşan miyokard metabolizma artışına sekonder vazodilatasyonla(damar çapı artışı) yok edilir (29).

KORONER YAVAŞ AKIM FENOMENİ

Tanım ve Etyopatogenez

Koroner yavaş akım ilk olarak Tambe ve ark. tarafından 1972 yılında tanımlanmıştır (2). Anjiyografi sırasında epikardiyal koroner arterlerde herhangi bir engel oluşturacak darlık olmamasına rağmen kanın arterde yavaş ilerlemesi olarak tanımlanabilecek bu durumun yapılan çalışmalarda ortalama olarak koroner anjiyografilerin %1-7 arasında saptandığını biliyoruz (3,4). Sigara kullanan genç erkek bireylerde daha sık gözlendiğine dair de bir çalışma vardır(30).

Küçük koroner arterlerin oklüzif hastalığı, koroner yavaş akım fenomenine neden olan sebeplerden biri olarak önerilmiştir. Bu hipoteze dayanarak, koroner yavaş akım fenomeni bazı hastalarda aterosklerozun erken evresinin bir formu olabilir (4). Nitekim birçok intravasküler ultrasonografi (IVUS) çalışması, anjiyografik olarak normal koroner arterlerde bile yaygın aterosklerozun olabileceğinin bulgularını göstermiştir. Ayrıca bazı veriler bize, yoğun koroner risk faktörleri varlığında koroner arter hastalığı gelişmeden önce bile koroner arteriollerin vazodilatasyon kapasitesinin bozulabileceği ve bunun da koroner yavaş akıma sebep olabileceğini göstermiştir (8).

Küçük damar hastalığı da koroner yavaş akıma sebep olabilir. Bunun kanıtı, Mosseri ve ark. tarafından koroner yavaş akımlı altı hastanın sağ ventrikülünden alınan biyopsi örneklerinde miyokard hipertrofisi ve yamalı fibroz ile birlikte küçük koroner arter anormalliklerini gördüklerini bildirmişlerdir (31).

Koroner yavaş akım ile ilgili ortaya atılan teorilerden biri de bir denklem üzerine kurgulanmıştır. Adına Hagen-Poiseuille denklemi denilen bu denkleme göre bir tüp içindeki direnç, borunun boyutlarına ve içindeki akışkanın viskozitesine bağlıdır (8). Bu da koroner arter ektazisi ya da anevrizmasının bu patolojiye sebep olabileceği gibi kanın vizkositesinin artışının da(hiperlipidemi ve yüksek fibrinojen seviyeleri sebep olabilir) sebep olabileceğini göstermiştir.

Trombosit fonksiyon bozukluğunun da koroner yavaş akım fenomeninin patogenezinde rol oynayabileceği gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda trombosit agregabilitesi koroner yavaş akımlı hastalarda normale göre anlamlı derecede yüksekti. Bu da koroner yavaş akımın etyopatolojisini açıklayabilir (9,10).

Enflamasyonun, birçok kardiyovasküler olayda katkısı olduğu ve koroner arter hastalığının farklı klinik tipleri ile ilişkide olduğu gösterilmiştir. Koroner yavaş akım etyopatolojisinde de yeni bir görüş bu sebeple enflamasyonun etkisidir. Enflamasyonun, aterosklerozun başlangıcında, gelişmesinde ve evriminde önemli bir rol oynadığını düşündüren kanıtlar vardır. Ayrıca bunlar aterosklerozun da bir enflamatuar proçes olduğunu desteklerler(7). Bu konuda yapılan çalışmalardan biri de ülkemizde yapılmıştır. Turhan ve ark. yaptığı çalışmada koroner yavaş akımlı hastalarda endotelyal aktivasyon veya iltihaplanmanın olası mediatörleri olan ICAM-1(interselüler adhezyon molekülü-1), VCAM-1(vasküler hücre adhezyon molekülü-1) ve E-selektin serum düzeylerinin normal koroner akımlı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur(32).

Son dönemde koroner yavaş akım ile ilgili en çok yoğunlaşılan alan vazokonstriktör ve vazodilatör faktörler arasındaki dengesizliğin değerlendirilmesi olmuştur. Bu konuda da en çok Endotelin-1 (ET-1) ve NO ön plana çıkmaktadır (33). Çünkü bu mediatörler strese karşı vazodilatör cevabı modüle eden en önemli moleküllerdir. Bu konuda yapılan çalışmalarda koroner yavaş akımlı hastaların bazal ET-1 seviyelerinin normal koronerlere göre daha yüksek saptandığı ve koroner sinüs ET-1 düzeylerini anlamlı derecede yüksek olduğu yönündedir. Ayrıca aynı çalışmada düzeltilmiş TIMI kare sayısı(CTFC) arttıkça koroner sinüs ET-1 düzeyinin de arttığı yönündedir (12).

Klinik Prezentasyon

Koroner yavaş akımlı hastaların semptom ve bulguları çok çeşitli olsa da genellikle KAH benzeri semptom ve bulgularla hastaneye yatarlar. Efor anginası, kararsız angina pektoris (USAP), ST yükselmesiz (Non-ST MI) veya ST yükselmeli miyokard infarktüsü (STEMI) şeklinde gelebilirler (5). Hemodinami laboratuarında kateter ile ilişkili koroner yavaş akım gelişmesi de litaratürde bildirilmiştir (34).

Kardiyak sendrom X ile bir takım benzerlikleri olan koroner yavaş akım fenomeninin sendrom X'ten bazı klinik farklılıkları vardır. Örneğin sendrom X hastaları genelde stres altında angina ile prezente olurlar(efor anginası). Koroner yavaş akım sendromu hastalar ise istirahat anginası tarif ederler(35). Sendrom X, bozuk koroner akım rezervi ile karakterize iken, koroner yavaş akımda bu normal hatta supranormaldir(36). Ayrıca, sendrom X postmenopozal kadınlarda daha sık görüldüğü konusunda genel bir karar olmakla birlikte koroner yavaş akım sigara içen genç erkeklerde daha sık görülür(37). Ayrıca belki de en önemlisi koroner yavaş akımda hayatı tehdit eden aritmiler ve ani kalp ölümü bazı hastalarda tanımlanmıştır(38). Bu da koroner yavaş akım fenomeninin tamamen masum bir hastalık olmaktan çıkarmaktadır.

Bu sendromun demografik özellikleri ile ilgili yeterince çok veri olmamakla birlikte ülkemizde 2003 yılında yapılan bir çalışmada koroner yavaş akımlı hastalarda hipertansiyon (HT) oranı %58, sigara içme oranı %80, ailede koroner arter hastalığı(KAH) öyküsü oranı %45, diyabetes mellitus (DM) %22 ve hiperlipidemi (HL) oranı %45 saptanmıştır(39). Ancak yapılan bu çalışmada az hasta sayısı olmakla birlikte efor testi pozitif olanlar dışlandığı için demografik veriler açısından güvenilirlik sorunu teşkil edebileceğinden bu konuda ülkemizde daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Tanı

Koroner akımın değerlendirilmesi yıllar içinde değişen ve gelişen metotlar sayesinde daha objektif olmuştur. İlk olarak koroner akım değerlendirmesi koroner anjiyografi sırasında opak maddenin koroner arterleri tamamen doldurduğu sürede kalbin atım sayısının hesaplanması olarak bakılırdı(5). Fakat bunun yeterli görülememesi nedeniyle yeni yöntemlere ihtiyaç duyuldu ve 1985 yılında oluşturulan TIMI(Thrombolysis in Myocardial Infarction) çalışma grubu, TIMI akım derecelendirilmesini oluşturdu (Tablo 1) (40).

Buna göre perfüzyonun olmaması yani herhangi bir tıkanıklığın ya da darlığın distalinde hiç akım olmaması TIMI 0(perfüzyon yok) olarak tanımlanıyor. Opak maddenin tıkanıklığı ya da darlığa penetre olması ancak distalinde opaklaşma olmaması TIMI 1(penetrasyon var) olarak tanımlandı. Opak maddenin tıkanıklığın ya da darlığın distaline geçmesi ama yavaş ve geç oluşması ise TIMI 2(kısmi perfüzyon var) olarak adlandırıldı. Opak maddenin tıkanıklığın ya da darlığın distaline normal hızda geçmesi ise TIMI 3(tam perfüzyon) olarak tanımlandı (40).

Tablo 1. TIMI Akım Derecelendirilmesi

TIMI 0 (Perfüzyon Yok)	**Tıkanma noktasının ilerisinde antegrad akım yok.**
TIMI 1 (Penetrasyon Var)	Opak madde obstruksiyonun ilerisine geçer, fakat obstuksiyonun distalinde tüm koroner yatağa ulaşamaz.
TIMI 2 (Kısmi Perfüzyon Var)	Opak madde obstruksiyonu geçer, koroner yatağın distaline de ulaşır. Ancak buna rağmen distal damara opak maddenin girişi, ilerlemesi ve/veya distal yataktan temizlenmesi diğer koronerlere kıyasla daha yavaştır.
TIMI 3 (Tam Perfüzyon)	Obstruksiyonun distaline geçen antegrad akım ve temizlenme hızı, proksimal akım ve diğer koronerler kadar hızlı olur.

TIMI: Thrombolysis in Myocardial Infarction.

Ancak yıllar geçtikçe bu derecelendirme sistemi yetersiz kaldı. Zira bu sistemde objektif bir değerlendirme yoktu ve vizüel değerlendirme ile operatör görüşü değişikliği sebebiyle yeni bir derecelendirme sistemine ihtiyaç duyulmaktaydı. Bu nedenle TIMI-4 çalışması yapıldı ve TIMI kare sayısı (TIMI frame count -TFC-) kavramı geliştirildi(41). İlerleyen zamanlarda objektiviteyi artıprıp operatörler arasında farklılıkları kaldırmak için Gibson ve ark. tarafından niceleyici değerlendirme olacak şekilde düzenlendi (42).

Yapılan çalışmaya göre seçilen ilk kare, arter orijinini tamamıyla doldurup her iki kenarına dokunması ve ilerlemeye başlaması olarak; son kare ise, her bir koroner için belirleyici bir distal damara ulaşması olarak belirlenmiştir (42).

TIMI kare sayısında belirleyici distal nokta LAD için bıyık "moustache" olarak adlandırılan apikal ayrım, Cx için sorumlu lezyonun en uzun dalının en distal bifurkasyonu, RCA için ise posterolateral arterin (PL) ilk yan dalının çıktığı nokta olarak belirlenmiştir (42).

TIMI kare sayısında yapılan ölçümler ve hesaplamalara göre LAD TIMI kare sayısı RCA ve Cx TIMI kare sayısından anlamlı şekilde yüksek saptandı. Bunun sebebi LAD'nin proksimalden distal çatala kadar olan mesafesinin diğer koroner arterlerden daha uzun olması olarak belirlendi(yaklaşık 1.7 kat). Bu nedenle LAD'nin diğer koroner arterlerle ortak standardizasyonu için bir sabit katsayı ile düzeltilmesi planlandı. Tüm koroner arterlerin standardize edilmesi için Gibson ve ark, LAD kare sayısını 1.7 sabit sayısına bölerek düzeltilmiş TIMI kare sayısını elde etmişlerdir (42).

Yine bu çalışmada normal koroner artere sahip olan 78 hastadan elde edilen verilerle; koroner arter kare sayıları 30 kare/sn çekimlere göre, LAD için 36.2±2.6, LCx için 22.2±4.1 ve RCA için 20.4±3.0 kare olarak bildirilmiştir. Koroner arterinde koroner akışı bozacak bir darlık olmayıp bu kare sayıların ve standart sapmaların üzerinde kare sayısına sahip koroner akımı olanlar koroner yavaş akım hastası olarak tanımlandı (42).

Tedavi

Genel olarak bakıldığında koronerlerinde tıkayıcı bir hastalık olmadan kanın yavaş akması endotelyal kaynaklı sebeplerden dolayı olabileceğinden endoteli koruyucu yaklaşım ile tedaviye yaklaşmak doğru seçenek gibi duruyor. Bu durumda endotel fonksiyonlarını düzenleyici anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEi) ya da statinler verilebilir (43). Daha önce denenmiş ilaçlar ve bu konuda yapılan çalışmalar da vardır. Örneğin ülkemizde yapılan bir çalışmada hastalara oral dipiridamol verilmiştir ve bu tedavi sonrası hastaların hem klinik şikâyetlerinde hem de anjiyografik görüntülerinde düzelme saptanmıştır (44).

Bir başka çalışamda mibefradil kullanılmıştır. Mibefradil, T-tipi kalsiyum kanallarını seçici olarak bağlayan ve inhibe eden bir benzimidazoil-substituted tetralindir. T kanallarına daha fazla seçiciliği olmakla birlikte kardiyak ve vasküler düz kasın T (düşük voltajlı) ve L (yüksek voltajlı) kalsiyum kanallarındaki kalsiyum iyonlarının akışını engelleyerek vazodilatasyon, periferik damar direncinde düşme ve kan basıncında azalmaya sebep olur. Ayrıca Mibefradil, sinüs ve atriyoventriküler (AV) düğüm iletimini yavaşlatarak kalp atış hızında hafif azalma ile PR aralığında hafif artış meydana getirir. Bu etkilerin sonucu, kalp yükü ve miyokardiyal oksijen talebinde bir azalma sağlar. Bu çalışamda hastalara anjiyografi esnasında mibefradil verişmiş ve 30 dk sonra yapılan koroner çekimlerde koroner akımda düzelme saptanmıştır (45). Ayrıca yine idame tedavide mibefradil verilen hastaların iskemik semptomları azalmıştır (45).

2010 yılında yapılan bir çalışmada koroner yavaş akım fenomenli hastalarda intrakoroner nitrogliserin ve verapamil'in etkinliği değerlendirilmiştir. Koroner anjiyografi sırasında intrakoroner veramapil ve nitrogliserin uygulanan hastaların alınan anjiyografi çekimlerinde TIMI kare sayılarında anlamlı derce azalma olduğu hatta verapamil grubunda bu anlamlılığın daha da yüksek olduğu saptandı(46).

Görüldüğü üzere bu konuda yapılmış çalışmalar ve denenmiş ilaçlar varsa da koroner yavaş akım fenomeninde kanıta dayalı tıp ile saptanmış ve kanıtlanmış bir tedavi protokolü şuan için bulunmamaktadır.

NİTRİK OKSİT ÖZELLİKLERİ

Nitrik oksit, 6-30 saniye yarılanma ömrüne sahip olan, membranlardan kolayca geçebilen, küçük moleküllü serbest radikal bir gazdır. İlk olarak 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki isimli araştırıcılar endotel hücrelerinin ürettiği bir faktörün damar gevşemesine neden olduğunu bulmuşlar ve bu faktöre endotelyumdan elde edilen gevşeme faktörü (EDRF) adını vermişler (47). Sonrasında Palmer ve arkadaşları bu kimyasal yapının nitrik oksit (NO) olduğunu tanımlamışlardır (48). Önceleri basit bir molekül olduğu düşünülüyor ve 1987 yılına kadar insan vücudunda bulunuş nedeni ya da mekanizması ile ilgili çok az şey biliniyordu. Ancak ilerleyen yıllarda çok hızlı bir şekilde NO'nun önemi anlaşılmış ve 1992 yılında yılın molekülü seçilmiştir (49).

NO; suda ve yağda çözünür. Böylece hücrelerin çevresinde serbestçe diffüze olabilir. Ayrıca diğer serbest radikaller gibi çok kısa yarılanma ömrüne sahiptir. Ancak diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücre için zararlı iken NO ancak aşırı sentezi durumunda

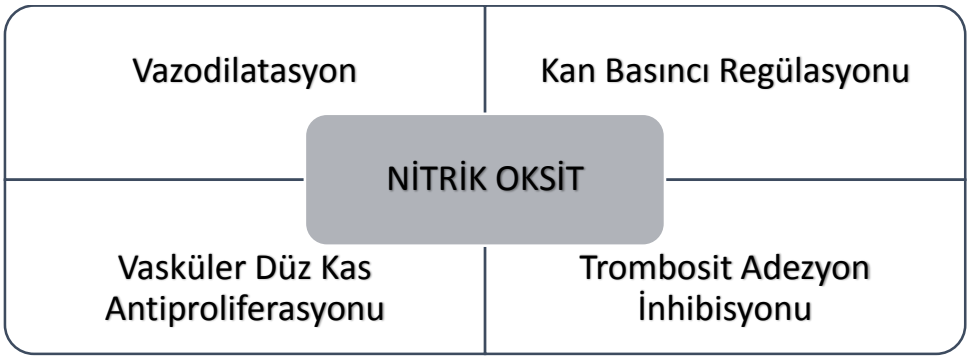
hücreye zarar verir. Düşük konsantrasyonlarda ise hücre için ideal bir fizyolojik haberci özelliği vardır.

Nitrik oksidin vazodilatör, nörotransmitter, antimikrobiyal efektör molekülü ve immünomodülatör gibi çok çeşitli patofizyolojik ve fizyolojik rolleri vardır. Aynı zamanda birçok dokuda NO üretimi olduğu saptanmıştır. Örneğin makrofajlar, endotel hücreleri, nöronlar, hepatositler, fibroblastlar, epitel hücreleri, düz kas hücreleri, kardiyak miyositler ve daha birçok hücre tiplerinin NO ürettiği gösterilmiştir.

Nitrik oksidin etkilerini kabaca 4 ana grupta toplayabiliriz. Bunlar kardiyovasküler sistem etkileri, pulmoner sistem etkileri, sinir sistemi etkileri, immün sistem etkileridir.

Damar endotelinden salınan NO'nun etkisi damar düz kas hücrelerinde guanilat siklazın aktivasyonu ile başlar ve hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) konsantrasyonunun artışı ve düz kasların gevşemesi ile sonlanır. Bu da vazodilatör etkiyle kan basıncı ve akışını düzenler (50). NO, prostasiklinle sinerjist etkileşimle trombosit agragasyonunu ve adezyonunu engeller (51,52). Ayrıca trombositler de NO sentez ederek trombosit aktivasyonunun kontrolüne katkıda bulunurlar (53) (Tablo 2).

Tablo 2. Nitrik oksitin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri



İnhale edilen NO'nun özellikle akciğer alveollerinde kapiller damarları genişlettiği ve vantilasyon/perfüzyon oranını düzelttiği saptanmıştır. Akciğer fonksiyonları bozulmuş hastalarda 7 günlük NO tedavisi solunum fonksiyonlarını düzeltmiştir. Bu sonuçlar NO'nun pulmoner fonksiyonlarını düzelttiğini göstermektedir (54).

NO, merkezi ve periferik sinir sisteminde bir nörotransmitter gibi rol oynayarak sinirlerden impuls geçişini etkilemektedir. Yapılan bazı çalışmalarda hafıza oluşumunda da kısmen de olsa rol aldığı gösterilmiştir (50). Koku alma, görme duyusu ve ağrı duyusun da

fizyolojik aracı olarak görev yapmaktadır (55). Ayrıca penil ereksiyonunun da önemli bir modülatörüdür (56).

Nitrik oksit bakteri, parazit gibi birçok patojenin ve tümör hücrelerinin adenozin trifosfat (ATP) üreten oksidatif fosforilasyonun, glikolizin, TCA siklusunun, demir (Fe) içeren bazı enzimlerini inhibe etmekte ve böylece bakteri, parazit, tümör hücrelerini öldürmektedir (57,58). Ayrıca NO'nun bazı viruslarda viral replikasyonu inhibe ederek antiviral etki oluşturduğu da belirtilmektedir (59).

NİTRİK OKSİT SENTEZİ VE NİTRİK OKSİT SENTAZ

Nitrik oksit, NOS aracılığıyla oluşan bir reaksiyon ile L-arginin'den sentezlenir. NOS'un tüm izoformları, substrat olarak L-arjinin ile birlikte moleküler oksijen ve azaltılmış nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADPH) kullanır. Birinci aşamada, NOS, L-arginin'i N-hidroksi-L-arginin'e hidroksiller. İkinci aşamada; NOS, N-hidroksi-L-arginin'i L-sitrulin ve NO'ya okside eder. Bu reaksiyonun son ürünlerinden olan sitrüllin aslında aynı zamanda bir substrat olup L-arginin'in tekrar sentezlenmesi için bir hammadde göre görür. Böylece vücutta L-arginin'nin miktarı devamlı olarak salınan NO ihtiyacını karşılayacak sevide tutulur.

Memelilerin hücrelerinde üç farklı çeşit nitrik oksit sentaz (NOS) izoformu tanımlanmıştır. Bunlar; nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS; NOS-I), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS; NOS-II) ve endotelyal nitrik oksit sentazdır (eNOS; NOS-III) (Tablo 3).

Tablo 3. NOS genlerinin gen yapısı ve kromozomal lokalizasyonu (60)

NOS Tipleri	Bulunduğu Hücreler	Kromozom	Gen Boyutu	Gen Yapısı
nNOS (NOS-1) (Nöronal Tip)	Nöron, İskelet Kası ve Kalp Kası	12	160 kb	29 ekson 28 intron
iNOS (NOS-2) (İndüklenebilir Tip)	Endotel Hücreleri	7	21 kb	26 ekson 25 intron
eNOS (NOS-3) (Endotelyal Tip)	Birçok Hücre Tipi	17	37 kb	26 ekson 25 intron

NOS: Nitrik oksit sentaz, **eNOS:** Endotelyal nitrik oksit sentaz, **nNOS :**Nöronal nitrik oksit sentaz, **iNOS :** İndüklenebilir nitrik oksit sentaz.

Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)

Nöronal NOS, yapısal olarak beynin spesifik nöronlarında eksprese edilir. Ayrıca beyin dışında; omurilikte, sempatik gangliyonlar ve adrenal bezlerde, periferik sinirlerde, çeşitli organ epitel hücrelerinde immünhistokimyasal olarak da tanımlanmıştır. Ancak memelilerde doku kitlesi bakımından nNOS'un en büyük kaynağı iskelet kasıdır (60).

İşlevsel olarak nNOS; öğrenme, hafıza ve nörogenez gibi fizyolojik işlevleri düzenleme ile ilişkilendirilmiştir (60). Ayrıca, iNOS'un santral sinir sisteminde oluşturduğu NO'nun kan basıncının merkezi regülasyonu ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar vardır (60). nNOS içeren nitrik sinirler penil ereksiyondan da sorumludur (61). Anormal NO sinyali, felç, multipl skleroz, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları sonrası eksitotoksisite gibi çeşitli nörodejeneratif patolojilere katkıda bulunabilir (62). Yüksek düzeylerde NO, mitokondriyal solunumun inhibisyonu yapabilir ve glikoliz inhibisyonuna bağlı enerji tüketimini de sağlayabilir (63).

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

İndüklenebilir NOS normalde hücrelerde bulunmaz ancak bakteriyel lipopolisakkarid, sitokinler ve diğer ajanlar tarafından indüklendiğinde hücreden eksprese edilir. Bir kez eksprese edildiğinde ise sürekli aktiftir ve hücre içi Ca konsantrasyonundan etkilenmez (60).

İndüklenebilir NOS makrofajlarda indüklendiğinde yüksek miktarlarda NO üreterek hücre içi sitostatik ve sitotoksit faaliyetler gösterir. Böylece hedef hücrelerin DNA'sına doğrudan müdahale edebilir ve iplikçik kopuşlarına ve parçalanmaya neden olabilir. Bu durumda immün sistemin sitotoksik faaliyetlerinin çoğundan iNOS'un sorumlu olduğu düşünülebilir. Aktif makrofajlar (muhtemelen nötrofiller ve diğer hücreler) tarafından üretilen yüksek NO seviyeleri, istenmeyen mikroplar, parazitler veya tümör hücreleri için toksik olabilir, ancak yanlış yerde salındığında sağlıklı hücrelere zarar verebilir (60). Örneğin iNOS'un aşırı NO üretimi, septik şokta çok önemli bir rol oynamaktadır. Arteriolar vazodilatasyon ve kan basıncındaki düşmeden de aşırı iNOS aktivasyonu sorumludur (64).

Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)

İlk defa endotel hücresinde tanımlandığı için bu isim verilmiştir. Dolaşımdaki NO'nun kaynağıdır. Hücrede normalde inaktif halde bulunan eNOS, hücre içinde Ca bağımlı bir mekanizma ile aktif hale gelir. Bu yüzden konstitutif NOS olarak adlandırılır(nNOS ile beraber). Nöronlardan ve endotelyal hücrelerden izole edilen konstitutif NOS'un sentez süresi çok kısadır. Ayrıca üretilen NO miktarı da çok düşüktür. Bu durumun sebebi, hücre içi iyonize Ca konsantrasyonun azalmaya başladığı gibi enzimin inaktif duruma geçmesidir (65). Hücre içi

Ca seviyerinde artma ise eNOS'un kalmoduline bağlanmasını sağlar ve eNOS 'u aktifleştirir. Ca bağımlı eNOS 'un NO üretimine başlamasına sebep olan başlıca etmen ise damarlarda "shear stres" olarak adlandırılan kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endotelinde oluşturduğu mekanik etkidir. Bu etkinin yanında asetil kolin, serotonin, trombin, bradikinin gibi bazı biyolojik moleküller de eNOS enzimini uyarır. Endotel hücreleri bu mekanik ve biyolojik etkilerle hücre iskeleti aracılığı ile hücre içine sinyaller gönderir. Protein Kinaz G aktive olarak eNOS'u fosforile edip aktivasyonuna neden olur. Sonuç olarak, endotel hücresinden sürekli NO üretilir (66).

ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİ

Endotelyal NOS geni; 1203 amino asitten oluşur. İlk olarak 1993'te Marsden ve arkadaşları tarafından 7. kromozomun uzun kolunun 35. ve 36. lokalizasyonunda tespit edilmiştir. Bu gen eNOS enziminin transkripsiyonundan ve sentezinden sorumludur (67).

GENETİK VE GEN POLİMORFİZMİ İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

Gen; kopyalanabilen, ifade edilebilen, mutasyona uğrayabilen ve bilgiyi depolayan birimdir yani kalıtımın işlevsel birimidir (68). Gen mutasyonları ise DNA'da depolanan kimyasal bilgideki değişim sonucu ortaya çıkar. Genin, mutasyon sonucunda oluşmuş alternatif varyasyonlarına allel adı verilir. Örneğin göz rengini belirleyen genin mavi rengi ortaya çıkaran varyasyonu ile yeşil rengi ortaya çıkaran versiyonundan her biri alleldir.

Genetik polimorfizm bir populasyonda farklı allellere bağlı olarak, genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin aynı anda görülmesi durumudur (69). Bir polimorfizm birey ya da popülasyon için avantajlı sonuçlar doğurabilir de doğurmayabilir de. Bu durumda yani bir polimorfizmi bir avantaj ya da dezavantaj sağlamıyorsa polimorfizm doğal olarak kabul edilir.

Polimorfizmler geçici de olabilir kalıcı da olabilir. Kuşaklar boyu süren bu kalıcı polimorfizmi durumu dengeli polimorfizm olarak adlandırılır (70).

Polimorfizm fenotipten anlaşılmaz. Genellikle laboratuar yöntemleri ile saptanır. Genetik polimorfizmlerinin belirlenmesinde PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), VNTR (Variable Number of Tandem Repeates=Değişken Ardışık Tekrarlar), RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi), SSCP (Single Stranded Conformational Polimorpism=Tek İplikçik Yapısal Çeşitlilik) gibi laboratuvar yöntemleri kullanılabilir.

ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİ'NİN POLİMORFİZMLERİ

Polimorfizmlerin oluş şeklinin yanında genin hangi bölgesinde meydana geldiği çok önemlidir. İnsan eNOS geninde intron, ekson ve promotor bölgesinde olmak üzere üç çeşit polimorfizm tanımlanmıştır (71).

Promotor bölge, genin dışında bulunan ve kopyalamanın başladığı kısa DNA dizisidir. Promotor bölgedeki polimorfizmler mRNA kopyalanmasını etkileyerek enzim düzeyini değiştirirler. Ekzon bölgeleri protein yapımından sorumlu bölgelerdir. Ekzon'lardaki polimorfizmler protein yapıyı etkileyerek enzim aktivitelerini değiştirirler. İntronlar protein yapımı için gerekli bir şifre içermezler. Bunlara kodlanmayan bölgeler de denebilir. Genin fonksiyonlarının düzenlenmesi görev alır. Bu yüzden intronlardaki polimorfizmlerin bölgelere göre daha az işlevsel role sahip olduğu düşünülür (72).

eNOS geninin promotor bölgesinde tanımlanan üç adet polimorfizm; 'Thr 786 Cys', 'Thr 1468 Ala', 'Ala 922 Gly'dir. Bu polimorfizmler transkripsiyonu etkilediğinden dolayı enzim seviyelerini etkilerler (71).

eNOS geninin ekzon bölgesinde tanımlanan polimorfizmi ekzon 7'de tanımlanmıştır. Tek nükleotid polimorfizmi şeklinde olan bu polimorfizmde esas sorun 894. pozisyondaki guanin (G) bazının, timin (T) bazı ile yer değiştirmesidir. Bu durumda normalde eNOS geninde 298. Pozisyonundaki glutamat (Glu) amino asiti yerine, aspartat (Asp) amino asiti yerleşir (73). Bu varyant proteinin primer yapısını değiştirir aynı zamanda direkt olarak enzimin fonksiyonel özelliğini değiştirme potansiyeli de vardır (71).

ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ GENİNİN T-786C VE GLU-298ASP POLİMORFİZMLERİ

Glu 298-Asp veya T-786 C Polimorfizmlerinin birçok hastalıkla ilişkili olabileceğine dair çalışmalar yapılmıştır (73-76). Bu hastalıklardan bazıları KAH, MI, SVH, HT, gibi kardiyovasküler hastalıklar olabileceği gibi migren, Alzheimer gibi nörolojik hastalıklar da olabilir (73-76). Bunlarla ilgili yapılan çalışmalarda örneğin japonlarda hipertansiyonun intron 4 lokasyonunda VNTR (27 bp)4 (ecNOS 4a)c polimorfizmi ile ya da beyaz ırkta miyokard infaktüsünün Ekzon7(Glu298Asp) lokalizasyonunda Gly894Thr polimorfizimin anlamlı ilişkili olduğu saptanmıştır (77).

Bu hastalıklar ve daha fazlasının araştırılması ve hastalık ile polimorfizm ilişkilerinin daha net anlaşılması için daha birçok çalışmaya ihtiyaç duyulacağından Trakya bölgesinde koroner yavaş akım saptanan hastalarda Glu 298-Asp veya T-786 C Polimorfizmlerini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza 01/01/2015 ile 31/08/2016 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim dalı kalp kataterizasyonu laboratuarında selektif koroner anjiyografi olmuş AKS(akut koroner sendrom) tanısı dışındaki ve koroner yavaş akım fenomeni saptanan hastalardan seçilen 74 hasta ve koroner anjiyografi ile normal koroner arterler saptanan 74 normal birey alınmıştır. Bu çalışmanın yapılabilmesi için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulundan gerekli izin ve onay alınmıştır (Ek-1). Çalışmaya katılanlara aydınlatılmış onam formu imzalatıldı (Ek-2).

Çalışmaya alınan hastalar iki gruba ayrılmıştır;

1.Grup, koroner yavaş akım fenomeni saptanan hastalar

2.Grup, normal koroner arterler saptanan hastalar

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. Belirtilen tarihler arasında yapılan selektif koroner anjiyografide koroner yavaş akım fenomeni saptanan hastalar
2. Belirtilen tarihler arasında yapılan selektif koroner anjiyografide normal koroner arterler saptanan hastalar
3. 18 yaşından büyük olmak
4. Kişinin kan vermeye bir engelinin bulunmaması
5. Yazılı onamı imzalayıp çalışmayı kabul etmiş olan hastalar (Ek-2).

Hastaların çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. Dahil edilme kriteri taşımamak
2. Kalp yetmezliği(EF<%50)
3. Akut miyokard enfarktüsü

4. Tiroid fonksiyon testlerinde bozukluk
5. Koroner ektazi
6. Otoimmün hastalık
7. Koroner arterde %50'den fazla darlık
8. Kronik böbrek yetmezliği
9. Kronik karaciğer hastalığı

Çalışmaya alınma özelliklerini taşıyan ve dışlanma kriteri taşımayan koroner yavaş akım fenomeni saptanan 74 hasta ve koroner anjiyografide koroner damarları tamamen normal ve koroner yavaş akımı olmayan 74 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların bazı demografik özellikleri sorgulandı. Bu sorgulama sonucunda;

Daha önceden hipertansiyon tanısı alıp o an antihipertansif ilaç kullananlar ya da sistolik kan basıncı 140 mm Hg'nin ve/veya diyastolik kan basıncı 90 mm Hg'nin üzerinde olanlar hipertansif kabul edildi.

Daha önceden DM tanısı alıp o an antiyabetik ilaç ve/veya insülin tedavisi görenler ya da açlık kan şekeri 126 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi.

Hastaların açlık Trigliserid, HDL, Total Kolesterol, LDL değerleri ayrıntılı olarak sorgulanıp kaydedildi. Trigliserid düzeyi 150 mg/dl'nin üzerinde olanlar hipertriglisedemik, LDL düzeyi 130 mg/dl'nin üzerinde olanlar hiperlipidemik olarak kabul edildi.

Hastalardan aktif alkol kullanıcıları ile hiç alkol kullanmamış veya alkolü bırakmış olanlar iki ayrı grup olarak ayrıldı. Aktif alkol kullanıcılığı için haftada en az bir sefer ya da daha çok 50ml'den fazla alımlar kabul edildi.

Hastalardan aktif sigara içenler sigara içicisi, hiç sigara içmemiş veya sigarayı bırakmış olanlar sigara içmeyen grup olarak ayrıldı. Sigara içiciliği için günde en az 1 adet sigara yeterli görüldü.

Ailesinde birinci derece yakınlarında koroner arter hastalığı olanlar aile öyküsü pozitif olarak gruplandırıldı.

Hastaların ejeksiyon fraksiyonu değerleri ve sol ventrikül duvar hareket kusurları olup olamaması ayrıntılı olarak sorgulanıp kaydedildi. Duvar hareket kusuru olanlar ile olmayanlar gruplandırıldı.

Hastaların yaşı ve cinsiyetleri gruplandırma ve istatiksel anlamlılık açısından kaydedilip gruplandırıldı.

Koroner anjiyografi yapılmış bu hastaların anjiyografi endikasyonları da sorgulanıp kaydedildi.

Koroner anjiyografi işlemi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim dalındaki Axiom Artis Zee(Siemens) ve Allura Centron(Philips) anjiografi cihazları ile yapıldı. Anjiyografi çoğunlukla femoral arter ponksiyonu ve standart 6 F Judkins sol ve sağ kateterler kullanılarak kimi zaman ise sol radial ponksiyon ve standart 6 F Judkins sol ve sağ kateterler kullanılarak yapıldı. Radyo opak madde olarak iohexol(Omnipaque) kullanıldı. Sol koroner sistemi için üç veya dört, sağ koroner sistemi için bir veya iki projeksiyonda görüntü sine filme kaydedildi.

Koroner akım, ilk olarak Gibson ve ark. tarafından açıklanan TIMI kare sayısı yöntemiyle tespit edildi(42). Çekimler 15kare/sn olarak alınmış olup 30 kare/sn'ye uyarlandı. LAD ve CX için kaudal açılı sağ anterior oblik görüntü, RCA içinse genellikle kraniyal açılı sol anterior oblik projeksiyon görüntüsü kullanıldı(42). Koroner arterler için TIMI kare sayısı hesaplama işi iki kardiyolog tarafından birbirinden bağımsız olarak yapıldı. Her koroner arter için literatürde bildirilmiş olan normal ve yavaş koroner akım paterni sınırları LAD için 36.2 ±2.6 kare, CX için 22.2 ±4.1 kare ve RCA için 20.4±3 kareydi(42). TIMI kare sayısı listesindeki yavaş akım paterni LAD için ≥40, CX için ≥ 27, RCA için ≥24 olanlar olarak kabul edildi. Sadece LAD, CX veya RCA'da koroner yavaş akım saptanan hastalar tek damar tutulumu, LAD ve CX, LAD ve RCA, CX ve RCA'da koroner yavaş akım saptanan hastalar iki damar tutulumu, her üç damarda da koroner yavaş akım saptanan hastalar çok damar tutulumu olarak sınıflandırıldı.

Hastaların biyokimyasal analizler daha önceden kliniğimizde koroner anjiografi oldukları için arşiv sisteminden temin edildi. Tüm arşiv sisteminden temin edilen bilgiler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında daha önceden çalışılmış olan tetkiklerdir.

DNA İzolasyon Yöntemi

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler, çözeltiler ve cihazlar aşağıda belirtilmiştir.

Kullanılan kimyasal malzemeler:

- DNA marker seti, 50bç-100bç (Fermentas, ABD)
- DNA saflaştırma kiti (Invitrogen, Almanya)
- Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (Sigma,)
- Magnezyum klorür (Fermentas)

- Primerler (Fermentas)
- Proteinaz K (eZNA)
- Taq DNA polimeraz seti (Fermentas, ABD)
- Taqman prop (Thermo Fisher, ABD)
- Trisma (Base) (Bio Basic)

Kullanılan cihazlar:

- Agaroz elektroforez tankı (Minicell Primo EC 320, ABD)
- Real-Time (Bioner Exicycler 96, Kore)
- Derin dondurucu (AEG, Almanya)
- Güç kaynağı (EC-105, USA)
- Manyetik karıştırıcı (Nüve, Türkiye)
- Otoklav (Heraeus, Almanya)
- Otomatik mikro pipetler (ISOLAB, Almanya)
- Ph metre (Hanna, İtalya)
- Santrifüj (Allegra X-22R, ABD)
- Terazi (Sartorius, Almanya)
- Thermal Cycler (Boeco TS-100, Almanya)
- Vorteks (VELP Scientifica, ABD)

Kullanılan çözeltiler:

- 10xTris Borat Elektroforez (TEB) Çözeltisi (1 litre) pH: 7.4
- 60.5 gr Tris
- 3.72 gr $Na_2EDTA.2H_2O$
- 30.85 gr borik asit

Örneklerin Toplanması ve İncelenmesi

Koroner yavaş akım teşhisi konulduktan sonra çalışmaya kabul edilen 74 adet hasta ve 74 kontrol grubu dahil olmak üzere toplamda 148 kişiden; kardiyoloji servisinde 5 cc EDTA'lı kan alındı. Alınan kanlar kardiyoloji servisinde doktor odasında +4 derecede saklandı. Yeterli sayıya ulaşıldığında saklanan kanlar T.Ü Biyofizik ABD'ye çalışılması için götürüldü. Bütün deneysel aşamalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik ABD'de gerçekleştirildi. Bu çalışma iki ayaktan oluşmaktaydı. Birinci aşamada hasta ve kontrollere ait EDTA'lı kanlardan

DNA izolasyonu yapıldı ikinci aşamasında florasan işaretli (Taqman Proplar ile) Real-Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QT-PCR) ile ENOS genine ait iki genotip belirlendi.

Polimorfik Genotiplerin Belirlenmesi

Her iki polimorfizm için aşağıdaki deney protokolleri gerçekleştirildi.

DNA izolasyon yöntemi: Alınan kan örneklerinden DNA saflaştırma kiti kullanılarak DNA'lar aşağıdaki adımlar uygulanarak izole edildi.

1. 200 µl tam kan 2 ml'lik ependorfların içerisine konulup üzerine 20 µl proteinaz K çözeltisi ve 400 µl Liziz çözeltisi eklendi. Çözeltiler ilave edildikten sonra homojen bir karışım elde etmek için kısa bir süre vortekslendi.

2. Hücre zarlarını tamamen parçalanana kadar karışımlar 56°C'de 10 dk inkübe edildi.

3. 200 µl etanol (% 96-100) eklendi ve kısa bir süre vorteks yapıldı.

4. Kolona, hazırlanmış olan karışım ilave edildikten sonra 1 dk 6000xg'de santrifüj edildi. Atığı içeren toplama tüpü atılıp ve yeni toplama tüpün içerisine kolon yerleştirildi.

5. 500 µl Wash Buffer I (etanol ilave edilmiş) eklendi ve 1 dk 8000xg'de santrifüj edildi.

6. Toplama tüpün içerisindeki atık ayrıldı ve kolon içerisine tekrar yerleştirildi.

7. 500 µl Wash Buffer II (etanol ilave edilmiş) eklendi ve 3 dk 12000xg'de santrifüj edildikten sonra kolon 2 ml'lik ependorf içerisine yerleştirildi.

8. 100 µl Elution Buffer ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 dk beklendikten sonra 1 dk 8000xg'de santrifüj edildi.

9. Son olarak, kolon atılacak ve saf DNA -20°C'de saklandı.

Bu araştırmada polimorfizmleri belirlemek için Real-Time Cihazı kullanılmış olup florasan işaretleyici olarak Taqman prop kullanıldı.

Aşağıda çalışılacak polimorfizmlerin rs numaraları ve protokolleri verilmiştir.

1) ENOS Geninin (Glu 298 Asp) (rs1799983) Polimorfizmi için;

primer sense 5′-AAG GCA GGA GAC AGT GGA TGGA-3'

anti sense 5′- CCC AGT CAA TCC CTT TGG TGC TCA-3'

(Ürün uzunluğu 248 baz çifti).

Başlangıç: 94ºC'de 5 dakika
94ºC'de 20 saniye
57ºC'de 20 saniye } 40 döngü
72ºC'de 22 dakika
Tarama (Scan)

Sonlanma: 72ºC'de 10 dakika

Analiz: Erime ve her döngü sonucu yapılacak tarama sonuç analizi ile genotipleme yapılacaktır.

2) ENOS Geninin (T 786 C) (rs2070744) Polimorfizmi için;

primer sense 5′- CACCTGCATTCTGGGAACTGTA -3′

anti sense 5′- GGCAGAGGCGGTAGACCC -3′

(Ürün uzunluğu 250 baz çifti).

Başlangıç: 94ºC'de 5 dakika
94ºC'de 20 saniye
62ºC'de 20 saniye } 40 döngü
72ºC'de 22 saniye
Tarama (Scan)

Sonlanma: 72ºC'de 5 dakika

Analiz: Erime ve her döngü sonucu yapılacak tarama sonuç analizi ile genotipleme yapıldı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Literatürde koroner yavaş akımlı hastalarda eNOS gen polimorfizmini araştırmak istediğimiz çalışma için belli sürede toplanan gerçek verilerin istatistiksel olarak incelemesi yapılmış olup, bu çalışmada yapılmış olan işlemler; veri özelliklerine göre, hangi tür gruplar arasında olduğu, doğru testin seçilmesi ile birlikte, elde ettiğimiz analiz uygulamamızda ortaya çıkan yaklaşık sonuçlar, genel çalışmamız hakkında bize net bilgiler vermektedir.

Görülmüş olduğu üzere iki tür verimiz mevcuttur. Nitel (sayılamayan) ve Nicel (sayılabilen) olmak üzere iki türde incelenmektedir. Türlere göre ayrılan verilere uygulanan işlemler de farklılık göstermektedir. Gen polimorfizmi araştırılmasında kullanmış olduğumuz nitel veriler için karşılaştırma veya aralarındaki farklılıkları oransal ya da yüzdelik olarak

açıklama durumlarını elde etmiş olup bu testlere bağlı bulunan p değerlerini Ki-Kare testi ve yöntemleri ile kurulan hipotezlerin kabul edilebilir ya da reddedilebilir olduğunu elde ettiğimiz sonuçlara göre yorumlamış bulunmaktayız.

BULGULAR

HASTALARIN ÖZELLİKLERİ

Çalışma dâhilinde olan hastaların demografik ve özgeçmiş özellikleri ayrıntılı incelendiğinde koroner yavaş akım grubundaki hastaların 54'ü erkek (%73.0), 20'si kadındı (%27.0). Kontrol grubundaki hastaların 52'si erkek (%70.3), 22'si kadındı (%29.7). İki grup arasındaki yaş ortalamalarındaki fark ise p:0.156 olacak şekilde anlamlı değildi. Hipertansiyon (p:0.511), Diyabet (p:0.408), sigara kullanımı (p:0.868) ve aile öyküsü (p:0.096) olanlarda da iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Ancak alkol kullanımı koroner yavaş akım grubunda 11 adet (%14.9), kontrol grubunda 2 adet (%2.7) şeklinde (p:0.009) olacak şekilde anlamlı fark saptandı. Bu veriler Tablo 4'da gösterilmiştir.

Tablo 4. Koroner yavaş akım ve kontrol grubunun demografik verileri

		Koroner Yavaş Akım Grubu (n=74)	Kontrol Grubu (n=74)	P* değeri
Yaş		53.6± 10.7	51.1± 10.2	0.156
Cinsiyet n(%)	Erkek	54 (73.0)	52 (70.3)	0.715
	Kadın	20 (27.0)	22 (29.7)	
Diyabet n(%)	Yok	57 (77.0)	62 (83.8)	0.408
	Var	17 (23.0)	12 (16.2)	
Hipertansiyon n(%)	Yok	36 (48.6)	41 (55.4)	0,511
	Var	38 (51.4)	33 (44.6)	
Sigara kullanımı n(%)	Yok	43 (58.1)	42 (56.8)	0.868
	Var	31 (41.9)	32 (43.2)	
Aile Öyküsü n(%)	Yok	55 (74.3)	64 (86.5)	0.096
	Var	19 (25.7)	10 (13.5)	
Alkol kullanımı n(%)	Yok	63 (85.1)	72 (97.3)	**0.009***
	Var	11 (14.9)	2 (2.7)	

n: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi, ***:**anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

Hastaların açlık kan şekeri değerleri ve lipid profilleri karşılaştırıldığında koroner yavaş akım grubunda ortalama 110.5± 47.0, normal hastalarda 105.4± 28.1saptandı (p: 0.420). Lipid profillerinde de HDL, LDL, Total kolesterol ve Trigliserid karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunamadı (Tablo 5).

Tablo 5. Koroner yavaş akım ve kontrol grubunun açlık kan şekeri ve lipid profil verileri

	Koroner Yavaş Akım Grubu (n=74)	Kontrol Grubu (n=74)	P* değeri
Açlık kan şekeri (mg/dl)	110.5± 47.0	105.4± 28.1	0.420
Total kolesterol (mg/dl)	184.1± 40.1	193.6± 46.4	0.189
HDL-K (mg/dl)	39.9± 9.1	42.2± 11.3	0.168
LDL-K (mg/dl)	106.4± 30.1	116.1± 35.8	0.079
Trigliserid (mg/dl)	185 (55-858)	175 (65-753)	0.554

n: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi. *:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

Hardy-Weinberg prensibine göre gen frekansını etkileyen mutasyon, doğal seçilim gibi bazı faktörler olmazsa populasyonun gen havuzunda alel, genotip, frekanslar nesiller boyu sabit şekilde kalır. Çalışmamızda değerlendirilen polimorfizmler için Hardy-Weinberg denge analizinde T-786 C ve Glu 298-Asp allelerinin dağılımlarında T-786 C'nin p değeri 0,05'den büyük olduğu için Hardy-Weinberg dengesine uygun olduğu, Glu 298-Asp'ın p değerinin 0,05'ten küçük olduğu için Hardy-Weinberg dengesine uygun olmadığı gözlendi (Tablo 6).

Tablo 6. Çalışma grubumuzda Hardy-Weinberg dengesi

T786-C	Genotipler	Gözlenen değer	Beklenen değer	Ki-kare	p-değeri*
Koroner yavaş akım grubu	CC	15	15,5	5,865	<0,053
	TC	31	31,5		
	TT	28	27		
Kontrol grubu	CC	16	15,5	5,297	<0,071
	TC	32	31,5		
	TT	26	27		
Glu298-asp					
Koroner yavaş akım grubu	GG	33	39,5	16,892	>0,000
	GT	33	26,5		
	TT	8	8		
Kontrol grubu	GG	46	39,5	30,595	>0,000
	GT	20	26,5		
	TT	8	8		

*"H0 hipotezi gözlenen genotipik varyasyonların beklenen genotipik varyasyonlarla uyumlu bir dağılım göstermemektedir; H1 hipotezi gözlenen genotipik varyoslarla beklenen genotipik varyasyonlarla uyumlu bir dağılım göstermektedir." olarak kabul edildiği için p değeri 0,05'ten büyük olan olasılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir. **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi.

Hasta ve kontrol grubunda yapılan genotipik polimorfizm incelemesinde T786-C polimorfizminde CC, CT ve TT genotipine sahip bireyler arasında anlamlı fark saptanmadı (p:0.941). Glu298-asp polimorfizminde GG, GT ve TT genotipine sahip bireyler arasında da anlamlı fark saptanmadı (p:0.070) Tablo 7'de şematize edilmiştir.

Tablo 7. Koroner yavaş akım ve kontrol grubunun genotip polimorfizm ilişkisi

	Koroner Yavaş Akım Grubu (n=74)	Kontrol Grubu (n=74)	P* değeri
T786-c			
CC n (%)	15 (20.3)	16 (21.6)	0.941
CT n (%)	31 (41.9)	32 (43.2)	
TT n (%)	28 (37.8)	26 (35.2)	
GLU 298-ASP			
GG n (%)	33 (44.6)	46 (62.2)	0.070
GT n (%)	33 (44.6)	20 (27.0)	
TT n (%)	8 (10.8)	8 (10.8)	

n: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi. *:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

Glu298-asp ve T786-c polimorfizmlerinin cinsiyetlere göre dağılımı incelendiğinde (Tablo 8) Glu298-asp polimorfizminde GG genotipine sahip 52 erkek hasta (%49.1), 27 kadın hasta (%64.3) vardır. GT genotipine sahip 41 erkek hasta (%38.7), 12 kadın hasta (%28.6) vardır ve TT genotipine sahip 13 erkek hasta (%12.3), 3 kadın hasta (%7.1) vardır. T786-c polimorfizminde ise CC genotipine sahip 26 erkek hasta (%24.5), 5 kadın hasta (%11.9) vardır. CT genotipine sahip 47 erkek hasta (%44.3), 16 kadın hasta (%38.1) vardır ve TT genotipine sahip 33 erkek hasta (%31.1), 21 kadın hasta (%50) vardır. Bu veriler ile cinsiyet açısından anlamlı fark saptanmadı (p:0.235).

Tablo 8. Glu298-asp ve T786-c polimorfizmlerinin cinsiyetlere göre dağılımı

	Erkek	Kadın	P* değeri
Glu298-asp			
GG n(%)	52 (49.1)	27 (64.3)	0.235
GT n(%)	41 (38.7)	12 (28.6)	
TT n(%)	13 (12.3)	3 (7.1)	
T786-c			
CC n(%)	26 (24.5)	5 (11.9)	0.064
CT n(%)	47 (44.3)	16 (38.1)	
TT n(%)	33 (31.1)	21 (50.0)	

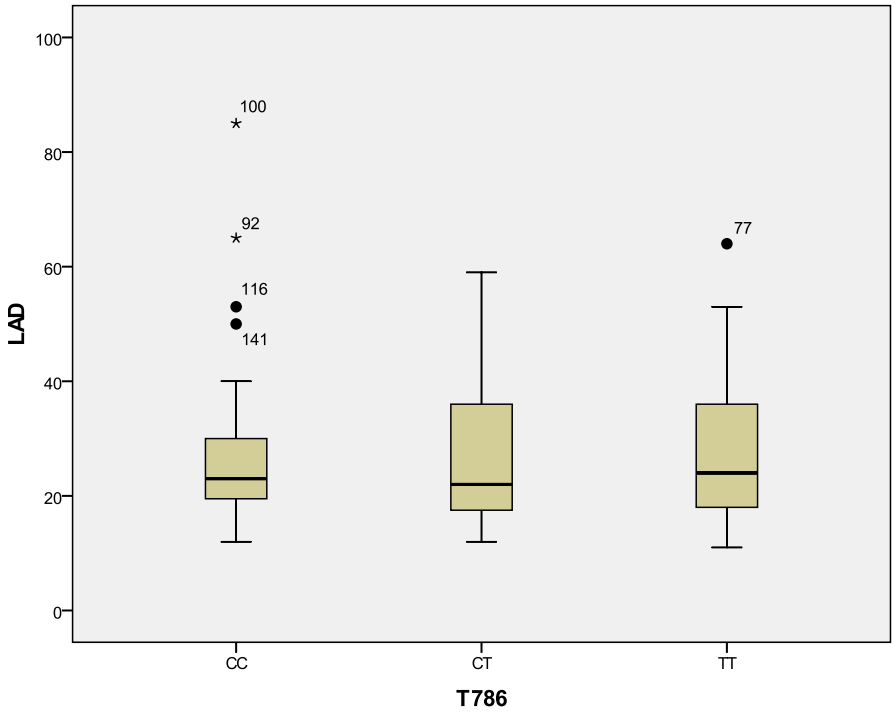
n: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi. *:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

Koroner damarlara göre genotipik polimorfizm dağılımı incelendiğinde; T786-c polimorfizminde LAD TIMI kare sayısı CC genotipi olanlarda 27.9±15.9, CT genotipi olanlarda 27.4±12.7, TT genotipi olanlarda 27.5±11.8 saptandı ve anlamlı fark bulunamadı (p:0.224). Cx TIMI kare sayısı CC genotipi olanlarda 25.1±10.6, CT genotipi olanlarda 29.2±16.2, TT genotipi olanlarda 25.5±10.2 saptandı ve anlamlı fark bulunamadı (p:0.708). RCA TIMI kare sayısı CC genotipi olanlarda 26.3±11.7, CT genotipi olanlarda 29.1±15.2, TT genotipi olanlarda 26.1±12.0 saptandı(Tablo 9, Şekil 1-2-3) ve anlamlı fark bulunamadı (p: 0.720).

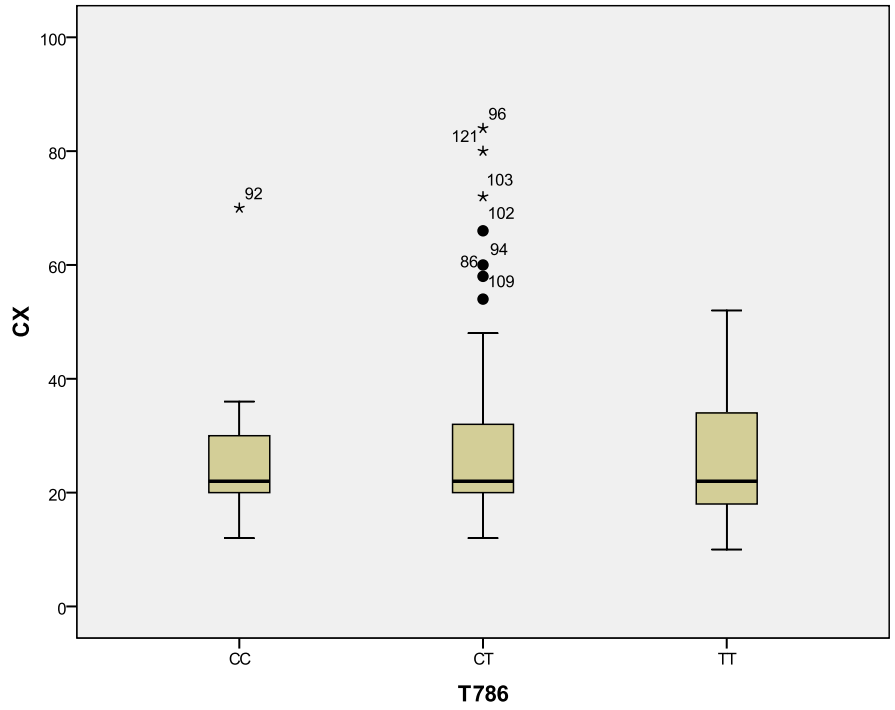
Tablo 9. T786-c genotip polimorfizm grubunun koroner damarlara göre dağılımı

	LAD		CX		RCA	
T786-C						
CC	27.9 ± 15.9		25.1 ± 10.6		26.3 ± 11.7	
CT	27.4 ± 12.7	p*:0.224	29.2 ± 16.2	p*:0.708	29.1 ± 15.2	p*:0.720
TT	27.5 ± 11.8		25.5 ± 10.2		26.1 ± 12.0	

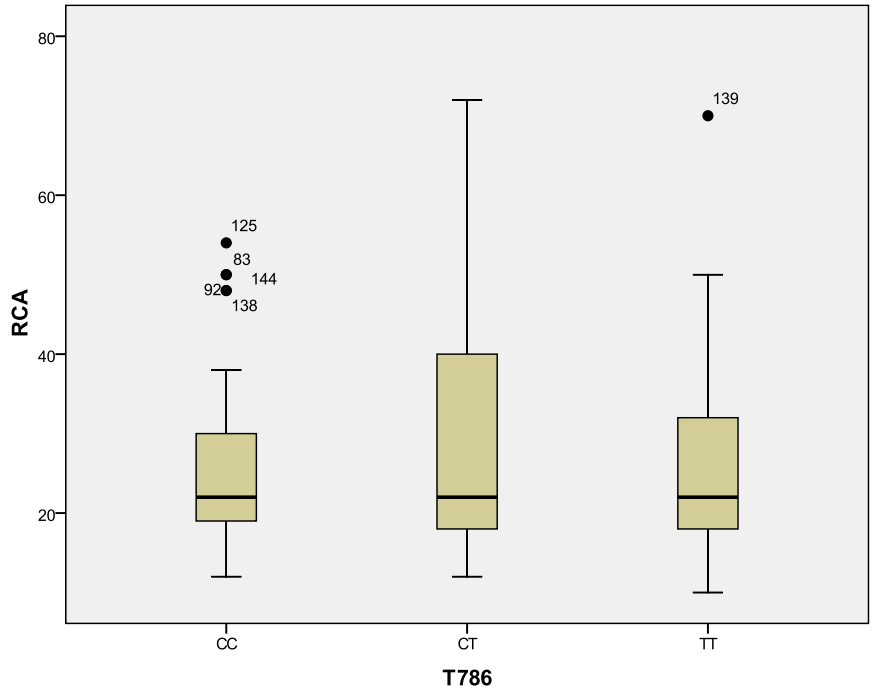
p: Gruplar arası anlamlılık derecesi. *:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.



Şekil 1. LAD TIMI kare sayısının T786-c genotip polimorfizm grubuna göre değişimi



Şekil 2. CX TIMI kare sayısının T786-c genotip polimorfizm grubuna göre değişimi



Şekil 3. RCA TIMI kare sayısının T786-c genotip polimorfizm grubuna göre değişimi

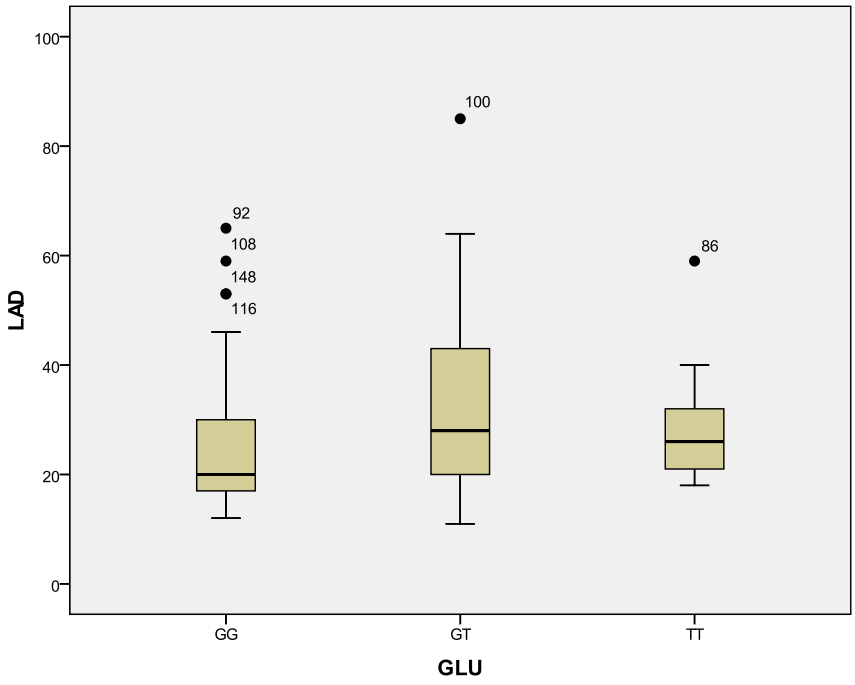
Glu298-asp polimorfizminde ise LAD TIMI kare sayısı GG genotipi olanlarda 24.6±11.3, GT genotipi olanlarda 31.6±15.0, TT genotipi olanlarda 28.2±10.6 saptandı ve

anlamlı fark bulunamadı (p: 0.350). Cx TIMI kare sayısı GG genotipi olanlarda 24.6±11.4, GT genotipi olanlarda 30.4±15.4, TT genotipi olanlarda 27.6±11.7saptandı ve anlamlı fark bulunamadı (p: 0.550). RCA TIMI kare sayısı GG genotipi olanlarda 25.4±12.6, GT genotipi olanlarda 30.1±14.7, TT genotipi olanlarda 29.0±11.7 saptandı (Tablo 10, Şekil 4-5-6) ve anlamlı fark bulunamadı (p: 0.377).

Tablo 10. Glu298-asp genotip polimorfizm grubunun koroner damarlara göre dağılımı

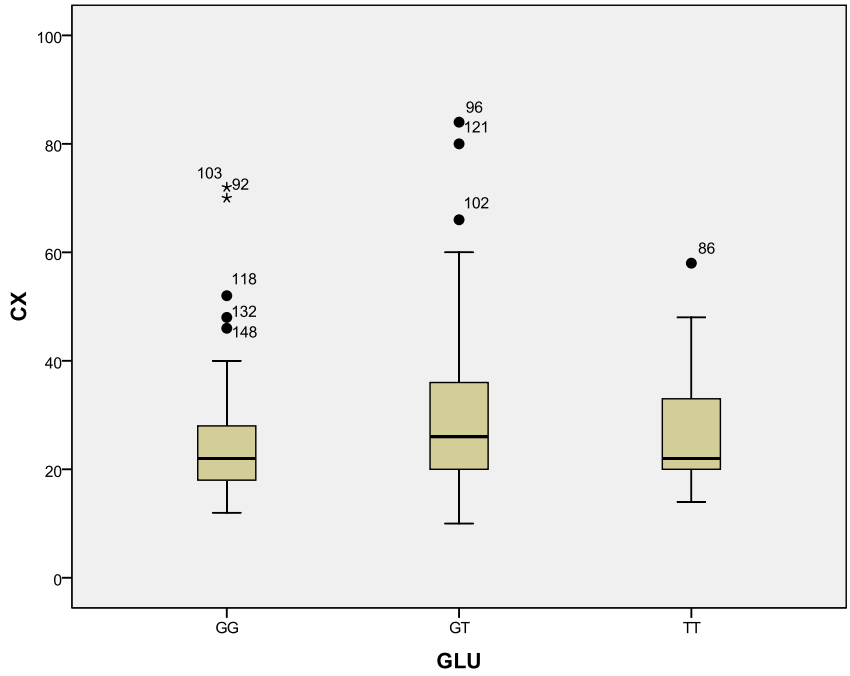
	LAD	CX	RCA
Glu 298-asp			
GG	24.6 ± 11.3	24.6 ± 11.4	25.4 ± 12.6
GT	31.6 ± 15.0 p*=0.350	30.4 ± 15.4 p*=0.550	30.1 ± 14.7 p*=0.377
TT	28.2 ± 10.6	27.6 ± 11.7	29.0 ± 11.7

p:Gruplar arası anlamlılık derecesi. *:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

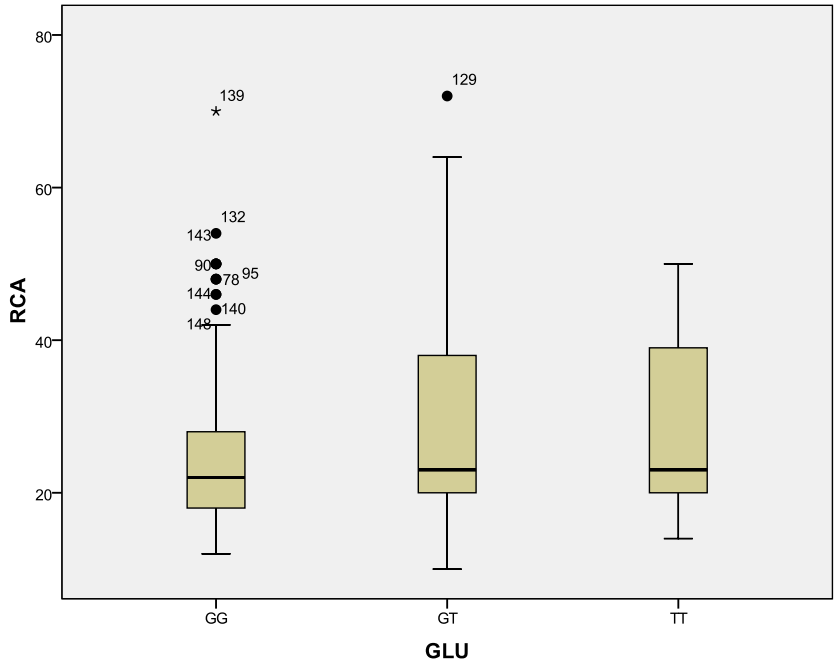


Şekil 4. LAD TIMI kare sayısının Glu298-asp genotip polimorfizm grubuna göre değişimi

Şekil 5. CX TIMI kare sayısının Glu298-asp genotip polimorfizm grubuna göre değişimi



Şekil 6. RCA TIMI kare sayısının Glu298-asp genotip polimorfizm grubuna göre değişimi



T-786 C polimorfizminin gruplar arasındaki ilişkisi incelendiğinde, koroner yavaş akım grubunda CC genotipi 15 (%20.3) hastada, TC genotipi 31 (%41.9) hastada, TT genotipi 28

(%37.8) hastada izlendi. Kontrol grubunda CC genotipi 16 (%21.6) kişide, TC genotipi 32 (%43.2) kişide, TT genotipi 26 (%35.1) bireyde gözlendi. Genotipik dağılımlara göre CC (p=0.775), TT (p=0.766) ve TC (p=0.758) yönünden istatistiksel anlamlı fark izlenmedi.

Dominant model karşılaştırmasında TT genotipine sahip bireyler ile CC+TC genotipine sahip bireyler arasında anlamlı fark izlenmedi (p=1,0).

Resesif model karşılaştırmasında da CC genotipine sahip olanlar ile TT+TC genotipine sahip olan bireyler arasında anlamlı fark (p=0,041) izlendi.

Allel frekansları açısından incelendiğinde koroner yavaş akım grubunda 87 (%58,8) T alleli, 61 (%41,2) C alleli; kontrol grubunda 84 (%56,8) T alleli, 64 (%43,2) C alleli saptandı. Bu gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark (p=0.724) tespit edilemedi(Tablo 11).

Tablo 11. Koroner yavaş akım ve kontrol gruplarında T-786 C genotipik polimorfizminin ilişkisi

T-786 C GENOTİP	KONTROL GRUBU n(%)	KORONER YAVAŞ AKIM GRUBU n(%)	RR (odd's oranı)	GÜVEN ARALIĞI	P*
CC	16(21,6%)	15(20,3%)	1,15	0,475-2,780	0,775
TC	32(43,2%)	31(41,9%)	1,11	0,537-2,300	0,758
TT	26(35,1%)	28(37,8%)	1(referans)		0,766
DOMİNANT MODEL					
CC+TC	48(64,9%)	48(64,9%)	1	0,509-1,964	1,00
TT	26(35,1%)	26(35,1%)	1(referans)		
RESRESİF MODEL					
TT+TC	58(78,4%)	59(79,7%)	0,922	0,417-2,035	0,840
CC	16(21,6%)	15(20,3%)	1(referans)		
ALEL SIKLIĞI					
C	64(43,2%)	61(41,2%)	1,087	0,685-1,724	0,724
T	84(56,8%)	87(58,8%)	1(referans)		

RR: Relative Risk, **n**: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi. *:ki-kare değeri altında Relative Risk değeri kullanılmıştır.

Koroner yavaş akım saptanan damarların tek damar tutulumu (LAD, CX veya RCA'dan yalnızca birinde yavaş akım olması) veya çok damar tutulumuna (LAD, CX veya RCA'dan en az iki veya daha fazlasında yavaş akım olması) göre dağılımı incelendiğinde (Tablo 12); T-786 C polimorfizminin genotipleri açısından, genotip dağılım, dominant model ve resesif model arasında ilişkide istatiksel anlam bulunmadı (p=0.220; p=0.197; p=0.590)

Tablo 12. T-786C polimorfizm genotiplerinin yavaş akım olan damar hastalığına göre dağılımı

T786-C	Tek Damar (n=30)	Çok Damar (n=44)	p*
CC	7(23,3%)	8(18,2%)	0,220
TC	9(30,0%)	22(50,0%)	
TT	14(46,7%)	14(31,8%)	
DOMİNANT MODEL			
CC+CT	16(53,3%)	30(68,2%)	0,197
TT	14(46,7%)	14(31,8%)	
RESESİF MODEL			
TT+TC	23(76,7%)	36(81,8%)	0,590
CC	7(23,3%)	8(18,2%)	

n: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi, **Tek Damar**:LAD, CX veya RCA'dan yalnızca birinde yavaş akım olması, **Çok Damar**: LAD, CX veya RCA'dan en az iki veya daha fazlasında yavaş akım olması
*:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

Glu 298-Asp polimorfizminin gruplar arasındaki ilişkisi incelendiğinde, koroner yavaş akım grubunda GG genotipi 33 (%44,6) kişide, GT genotipi 33 (%44,6) kişide, TT genotipi 8 (%10,8) kişide izlendi. Kontrol grubunda GG genotipi 46 (%62,2) hastada, GT genotipi 20 (%27,0) hastada, TT genotipi 8 (%10,8) hastada izlendi. Genotipik dağılımlara göre GG (p=0,381), GT (p=0.545) ve TT (p=0.463) yönünden istatistiksel anlamlı fark izlenmedi.

Dominant model karşılaştırmasında TT genotipine sahip bireyler ile GG+GT genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark izlenmedi (p:1.0).

Resesif model karşılaştırmasında da GG genotipine sahip olanlar ile GT+TT genotipine sahip olan bireyler arasında anlamlı fark (p=0,00) izlendi.

Allel frekansları açısından incelendiğinde koroner yavaş akım grubunda 99 (%66.9) G alleli, 49 (%33.1) T alleli; kontrol grubunda 112 (%75,7) G alleli, 36 (24,3) T alleli tespit edildi. Gruplar arasında allel sıklığı yönünden istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi (Tablo 13) (p=0.095).

Tablo 13. Koroner yavaş akım ve kontrol gruplarında Glu-298 Asp genotipik polimorfizminin ilişkisi

GLU298-ASP GENOTİP	KONTROL GRUBU n(%)	KORONER YAVAŞ AKIM GRUBU n(%)	RR (odd's oranı)	GÜVEN ARALIĞI	p*
GG	46(62,2%)	33(44,6%)	1,4	0,475-4,093	0,381
GT	20(27,0%)	33(44,6%)	0,606	0,196-1,869	0,545
TT	8(10,8%)	8(10,8)	1(referans)		0,463
DOMİNANT MODEL					
GG+GT	66(89,2%)	66(89,2%)	1	0,354-2,823	1,00
TT	8(10,8%)	8(10,8%)	1		
RESRESİF MODEL					
TT+GT	28(37,8%)	66(89,2%)	0,074	0,031-0,176	**0,00***
GG	46(62,2%)	8(10,8%)	1(referans)		
ALEL SIKLIĞI					
G	112(75,7%)	99(66,9%)	1,54	0,926-2,56	0,095
T	36 (24,3%)	49(33,1%)	1(referans)		

RR: Relative Risk, **n**: Hasta sayısı, **p**:Gruplar arası anlamlılık derecesi. hesaplanmıştır. *:ki-kare değeri altında Relative Risk değeri kullanılmıştır.

Koroner yavaş akım saptanan damarların tek damar tutulumu (LAD, CX veya RCA'dan yalnızca birinde yavaş akım olması) veya çok damar tutulumuna (LAD, CX veya RCA'dan en az iki veya daha fazlasında yavaş akım olması) göre dağılımı incelendiğinde(Tablo 14); Glu298-asp polimorfizminin genotipleri açısından, genotip dağılım, dominant model ve resesif model arasında ilişkide istatiksel anlam bulunmadı (p=0.378; p=0.461; p=0.212)

Tablo 14. Glu 298-Asp polimorfizm genotiplerinin yavaş akım olan damar hastalığına göre dağılımı

GLU298-ASP GENOTİP	Tek Damar (n=30)	Çok Damar (=44)	p*
GG	16(53,3%)	17(38,6%)	0,378
GT	12(40,0%)	21(47,7%)	
TT	2(6,7%)	6(13,6%)	
DOMİNANT MODEL			
GG+GT	28(93,3%)	38(86,4%)	0,461
TT	2(6,7%)	6(13,6%)	
RESESİF MODEL			
TT+GT	14(46,7%)	27(61,4%)	0,212
GG	16(53,3%)	17(38,6%)	

n: Hasta sayısı, **p:**Gruplar arası anlamlılık derecesi *:anlamlılık ki-kare testiyle hesaplanmıştır.

TARTIŞMA

Koroner yavaş akım fenomeni ilk olarak 1972 yılında tanımlanmış olan bir kardiyak fenomendir(2). Tanımlandığı günden bugüne kadar geçen sürede uzun yıllar üzerine araştırmalar yapılmış, oluşmasına neden olan birçok sebep irdelenmiş ve hala da irdelenmektedir. Koroner yavaş akımlı hastalar klinikte karşımıza çok çeşitli prezentasyonarla çıkabilirler. Tamamen semptomsuz olabilecekleri gibi efor anginası, USAP, Non-ST MI veya STEMI şeklinde klinik prezente olabilirler (5).

Koroner yavaş akım fenomeninin etyolojisi hakkında birçok teori mevcut olmakla birlikte bu teorileri ilk olarak Li JJ ve arkadaşları sınıflandırmışlardır (7). Daha sonraları da araştırılan bu çalışmalarda koroner yavaş akımın aterosklerozun erken evresi olabileceği (4), koroner damar çapıyla ilişkili ya da kan vizkositesiyle ilişkili olabileceği (8), trombosit fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olabileceği (9) ya da inflamasyonla ilişkili olabileceği (9,10) söylenmiştir. Ama en çok üzerinde durulan teori, vazokonstriktör ve vazodilatör faktörler arasındaki dengesizliğin koroner yavaş akıma neden olabileceği yönündedir (11,12). Bu noktada NO'nun önemi ortaya çıkmaktadır. Çünkü NO vasküler bütünlüğü koruyan, endotel fonksiyonunun düzenlenmesinde rol alan, kan basıncının kontrolünde önemli görevleri olan güçlü bir vazodilatatördür (13). Ayrıca NO tek tek bir enzim olmayıp üç izoenzimden oluşan bir izoenzim ailesidir. Bunlar endotelyal nitrik oksit sentaz(eNOS), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve nöronal nitrik oksit sentazdır (nNOS) (14). Bizim çalışmamızda da esas aldığımız eNOS, kan basıncı değişimi ve kan akış hızıyla ilgili etkiler yapar. Bunu da düz kas gevşemesini sağlayarak yapar (15,16).

Yapılan bazı gen çalışmalarında eNOS geninin promotor bölgesindeki T-786C baz değişiminin eNOS transkripsiyonunda %50 azalmaya neden olduğu ve bunun serum NO

seviyelerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir, ayrıca eNOS geninin Glu298Asp (894G / T) polimorfizminin allellerinden birinin, eNOS 'un aktivitesini azalttığına, dolayısıyla NO üretiminin azalmasına neden olduğuna inanılmaktadır (17). Ayrıca ülkemizde yapılan iki adet çalışmada da koroner yavaş akımlı hastaların plazma NO düzeyleri kontrol grubundaki hastalara göre düşük bulunmuştur (11,12). Buradan yola çıkarak koroner yavaş akımın sebebi olabilecek genetik bir polimorfizmlerin araştırılması üzerine çalışmaların daha çok yapılması gerekliliği doğmuştur.

Koroner yavaş akımın etyopatogenezi hala tam anlamıyla aydınlatılamamışken ve kliniğinin bu kadar değişken ve bazı durumlarda ölümcül olabileceği de düşünüldüğünde bu fenomenin araştırılması adına biz de üzerimize düşeni yapmak istedik. Bu bağlamda eNOS geninin Glu 298-Asp ve T-786 C polimorfizmlerinin koroner yavaş akım ile ilişkisini araştırdık. Bunun sayede hastanemizin bulunduğu Trakya bölgesinde hastalık-genetik ilişkisi ve hastalığın sebebi olabilecek bazı demografik verileri araştırmak istedik.

Çalışmamız Trakya bölgesinde yaşamakta olan olgular ile yapıldı. Olgularımız genellikle noninvaziv iskemi araştırması ile koroner anjiyografiye yönlendirilen veya tipik angına ile koroner anjiyografi yapılan vakalardan oluşmaktadır. Koroner anjiyografik görüntü kayıtları üzerinden alınan veriler göre çalışmaya alınan bireyleri koroner yavaş akım ve normal grup olmak üzere ikiye ayırdık.

Koroner yavaş akım grubumuzun yaş ortalaması 53.6± 10.7 yıl şeklinde kontrol grubumuzun yaş ortalaması 5.1± 10.2 yıl şeklinde olup aralarında istatistiksel anlamlı fark saptanmadığı gibi daha önce ülkemizde yapılan çalışmalar ile de benzerdi (19,20,38). Çalışmamızın cinsiyet dağılımında erkek oranı koroner yavaş akımda %73.0 ile yüksek olduğundan kontrol grubunun seçimi de buna yönelik yapılmış ve erkek oranı %70.3 olarak alınmıştır. Bu durum toplumdaki cinsiyet dağılımından farklılık yaratmış gibi gözükse de çalışmanın kendi içinde tutarlılığını artırması için planlanmıştır.

Koroner yavaş akım ve kontrol grubu, her iki polimorfizmin genotipleri açısından incelendiğinde kadın ve erkek cinsiyet arasında anlamlı fark saptanmadı. Daha önceki bir çalışmada sigara içen genç erkeklerde koroner yavaş akımın daha sık rastlandığını dair sonucu biliyoruz (30). Ancak çalışmamızda bunu destekleyecek herhangi bir sonuç saptamadık.

Çalışmamıza hipertansif ve diyabetik hastalar da dâhil edilmiştir. Bunun sebebi daha önce bu konuda yapılmış bir çok çalışmada da benzer hastalar çalışmaya dahil edilme kriterine alınmıştır (19,37,78).

Daha önceki bir çalışmada koroner yavaş akımın sigara kullanımı ile ilişkili olabileceği yönünde bulgular mevcuttu (30). Koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olan sigaranın

koroner yavaş akımda da bir risk faktörü olabileceği yönünde bulgular saptanması, koroner yavaş akımın aterosklerozun erken bir evresi olabileceğine dair hipotezleri de desteklemektedir. Ancak bizim çalışmamızda koroner yavaş akım grubu ile kontrol grubunun sigara kullanımı açısından anlamlı fark saptanamadı. Bu da çalışmamızdaki sigara kullanım şartının getirebileceği bir sonuç olduğu kanaatindeyiz. Zira çalışmamızda günde 1(bir) adet sigara kullanan her hasta yıldan bağımsız olarak sigara kullanan gruba dahil edilmiştir. Bu da sigaranın etkilerinin çok düşük olması sebebiyle sigarnın istatistiksel olarak anlamsız çıkabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca yine sigara kullanım durumunun benzer çıkması koroner yavaş akıma aterosklerozdan farklı etmenlerin ya da bir kaç etmenin birleşiminin yol açabileceğini de düşündürebilir.

Çalışmamızda koroner yavaş akım grubundaki hastalarda alkol kullanımı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Daha önceki çalışmalar incelendiğinde bununla ilgili bir veri saptamadık. Fakat bazı çalışmalarda alkol kullanımının koroner vazospazm yaptığı ve buna da alkol alımından sonra PGF1α düzeyinin ve cGMP seviyelerinin düşmesinin neden olduğu düşünülmektedir (79). Koroner yavaş akımın etyopatogenezinde en çok üzerinde durulan teori, vazokonstriktör ve vazodilatör faktörler arasındaki dengesizlik olduğu düşünüldüğünde alkol kullanımının koroner vazodilatasyonu bozup koroner yavaş akıma neden olabileceğini söyleyebiliriz. Ancak bunun için daha ayrıntılı çalışmalar yapılamasının daha belirleyici olacağı kanaatindeyiz.

Koroner arter hastalığının önemli bir risk faktörü olan hiperlipidemi açısından da HDL, LDL, Total kolesterol ve Trigliserid değerleri koroner yavaş akım ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı. Daha önce ülkemizde yapılan çalışmalarda da buna benzer sonuçlar alınmıştır (19,78,80).

Çalışmamızın koroner yavaş akım gurubundaki hastalarda T786-c polimorfizminin CC, CT VE TT genotiplerinin koroner damarların çeşitlerine göre TIMI kare sayıları karşılaştırıldı. Yani koroner damarların akım hızının polimorfizmin genotipine göre değişkenliği karşılaştırıldı. LAD, CX ve RCA akımının CC, CT VE TT genotipine göre anlamlı değişkenlik saptamadığının belirledik. Yine aynı şekilde Glu298-asp polimorfizminin GG, GT ve TT genotiplerinde koroner damarların akım hızının polimorfizmin genotipine göre değişkenliği araştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı. Ayrıca koroner yavaş akımı hastaları tek damar tutulumu veya çok damar tutulumu(birden çok damarda koroner yavaş akım olması) diye ayrıldı. Bu incelemede de tek veya çok damar tutulumları olan hastalar, T786-c polimorfizminin CC, CT VE TT genotiplerinin tek tek ve dominanat ile resesif modele göre gruplandırmaları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca yine tek ve çok damar tutulumu olan

hastalar, Glu 298-Asp polimorfizminin GG, GT VE TT genotiplerinin tek tek ve dominanat ile resesif modele göre gruplandırmaları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmamızda koroner yavaş akım ile hem eNOS geni T-786 C, hem eNOS geni Glu 298-Asp polimorfizmleri tüm alt genotipleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlılık saptamadık. Bu durumu yine ülkemizde yapılan iki çalışma ile karşılaştırıldığında Nurkalem ve ark. (19) yaptığı çalışmada eNOS geni T-786 C polimorfizmi koroner yavaş akım için risk faktörü olduğu saptanmıştır. Diğer bir ülkemizde yapılan çalışmada ise Çağlayan ve ark. (20) eNOS geni Glu 298-Asp polimorfizminin koroner yavaş akım ile ilişkisi olmadığını saptamışlardır. Bizim çalışmamızın bu ayağı Nurkalem ve ark.'nı desteklememekle beraber Çağlayan ve ark.'nı destekler niteliktedir. Ancak biz çalışmamızda eNOS geninin bu iki alt tipini dominant model ve resesif olarak gruplara ayırdık ve karşılaştırmayı tekrarladık. T-786 C polimorfizmi için gruplar dominant modele göre karşılaştırıldığında, gruplar arasında TC+CC genotipine sahip olanlar ile TT genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark bulunmadı. Resesif modele göre de, TT+TC genotipine sahip olanlar ile CC genotipine sahip olanların karşılaştırılmasında, anlamlı bir fark bulunmadı. Oysa Glu 298-Asp polimorfizmi için gruplar dominant modele göre karşılaştırıldığında, gruplar arasında GG+GT genotipine sahip olanlar ile TT genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark bulunmaz iken resesif modele göre, TT+GT genotipine sahip olanlar ile GG genotipine sahip olanlar arasında anlamlı fark tespit edildi. Yani resesif modelin dominant modele göre bireylerin genotipi bakımından koroner yavaş akıma sık yakalanması anlamlı derecede yüksek görülmüştür. Bu sonuç daha önce ülkemizde yapılan ve sonucunda Glu 298-Asp polimorfizminin koroner yavaş akım ile ilişkisi olmadığını gösteren çalışmadan (20) farklı sonuç vermekle beraber ülkemiz dışında yapılan ve Glu 298-Asp polimorfizminin koroner yavaş akım ile ilişkisi olduğunu gösteren çalışmayı destekler niteliktedir (18).

Koroner yavaş akımın etyolojisinde rolü olan etmenlerin belirlenmesinde hala net sonuçlar alınmamış olup, daha çok klinik, genetik ve biyokimyasal araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇLAR

Çalışmamıza 01/01/2015 ile 31/08/2016 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim dalı kalp kataterizasyonu laboratuarında selektif koroner anjiyografi olmuş ve koroner yavaş akım fenomeni saptanan AKS(akut koroner sendrom) tanısı dışındaki hastalardan seçilen 74 hasta ve koroner anjiyografi ile normal koroner arterler saptanan 74 normal birey alınmıştır. Bu hastaların kesitsel değerlendirmesinde, hastalar tekrar değerlendirilip onam alınıp demografik verileri, laboratuar verileri, eNOS geni T-786 C ve Glu-298 Asp polimorfizmleri karşılaştırıldı.

Bu karşılaştırma sonucunda;

1- T-786 C polimorfizmi ile koroner yavaş akım arasında ilişki saptamadık.

2- Glu 298-Asp polimorfizminde resesif modelin dominant modele göre bireylerin genotipi bakımından koroner yavaş akıma sık yakalanması anlamlı derecede yüksek saptadık.

3- Haftada en az bir sefer ya da daha çok 50ml'den fazla alkol kullanımı olanlarda koroner yavaş akımın daha sık görüldüğünü saptadık.

4- Koroner yavaş akım ile hiperlipideminin herhangi bir ilişkisini saptamadık.

5- Yaş veya cinsiyetin koroner yavaş akım üzerinde riski artırıcı bir etmen olduğu yönünde bir veri saptanmadık.

6- Sigara kullanımının koroner yavaş akımla herhangi bir ilişkisini saptamadık.

.

ÖZET

Koroner yavaş akım fenomeni, koroner arterlerde darlık olmaksızın kanın distale yavaş akması olarak tanımlanabilen bir kardiyak fenomendir. Bu konuda yapılmış çalışmalar olsa da etyopatolojisi hala net olarak aydınlatılamamıştır. Bu konuda ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılmış çalışmalar olsa da kimi çalışmalar birbirleriyle çelişmektedir. Trakya Bölgesine ait ise koroner yavaş akım ile ilgili bir çalışmanın olmaması bizi bu çalışmayı yapmaya itmiştir. Çalışmamızdaki amaç, Trakya Bölgesinde endolyal nitrik oksit sentaz geninin Glu 298-Asp ve T-786 C polimorfizmlerinin koroner yavaş akım ile ilişkisini araştırmak ve koroner yavaş akıma sahip hastaların demografik verilerinin karşılaştırılmasını sağlamaktır. Bu amaçla kliniğimizde koroner yavaş akım saptanmış hastalar ile normal koroner arter saptanmış hastalar kesitsel olarak karşılaştırıldı. Demografik veriler ve endolyal nitrik oksit sentaz geninin Glu 298-Asp ve T-786 C polimorfizmi açısından yapılan istatistiksel incelemede T-786 C polimorfizmi le koroner yavaş akım arasında ilişki saptamadık. Ancak Glu 298-Asp polimorfizminin resesif modelinde dominant modele göre bireylerin genotipi bakımından koroner yavaş akıma yakalanması anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Ayrıca yine alkol kullanım olanlarda da koroner yavaş akım görülme sıklığının arttığı saptanmıştır. Sonuçlarımızın desteklenmesi için daha büyük çalışmalara toplumun tamamını kapsayacak şekilde genişletilmesine ihtiyacı olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Koroner yavaş akım, endotelyal nitrik oksit sentaz, genetik polimorfizm

INVESTIGATION OF ENOS GENININE GLU 298-ASP AND T786-C POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH CORONARY SLOW CURRENT IN THE REGION

SUMMARY

Coronary slow-flow phenomenon is a cardiac phenomenon that can be described as a slow flow of blood without stenosis in the coronary arteries. Although there are studies on this subject, the etiopathology is still unclear. Although there are studies in our country and other countries in this regard, some studies contradict each other. The fact that there is no study about coronary slow flow in the Thrace region has led us to do this study. The aim of our study is to investigate the association of Glu 298-Asp and T-786 C polymorphisms of the endotelial nitric oxide syntase gene in the Thrace Region with coronary slow flow and to compare the demographic data of patients with coronary slow-flow. For this purpose, patients with coronary slow flow in our clinic and patients with normal coronary artery were cross-sectionalized. There was no correlation between the demographic data and the T-786 C polymorphism le coronary slow flow in the statistical analysis of the endotelial nitric oxide syntase gene in terms of Glu 298-Asp and T-786 C polymorphisms. However, in the recessive model of Glu 298-Asp polymorphism, coronary slow-flow capture in terms of the genotype of individuals according to the dominant mode was found to be significantly higher. It was also found that the incidence of slow coronary flow was also increased in alcohol users. We think that we need to expand to cover the whole of the larger working community to support our results.

Key words: Coronary slow flow, endothelial nitric oxide synthase, genetic polymorphism

KAYNAKLAR

1. Forssmann W. Die sondierung des rechten herzens. J Mol Med 1929;8(45):2085-7.

2. Tambe A, Demany M, Zimmerman HA, Mascarenhas E. Angina pectoris and slow flow velocity of dye in coronary arteries a new angiographic finding. Am Heart J 1972;84(1):66-71.

3. Goel PK, Gupta SK, Agarwal A, Kapoor A. Slow coronary flow: a distinct angiographic subgroup in syndrome X. Angiology 2001;52(8):507-14.

4. Mangieri E, Macchiarelli G, Ciavolella M, Barillà F, Avella A, Martinotti A, et al. Slow coronary flow: clinical and histopathological features in patients with otherwise normal epicardial coronary arteries. Cathet Cardiovasc Diagn 1996;37(4):375-81.

5. Burckhartt BA, Mukerji V, Alpert MA. Coronary artery slow flow associated with angina pectoris and hypotension: a case report. Angiology 1998;49(6):483-7.

6. Gupta M, Zoneraich S, Zeitlin W, Zoneraich O, D'Angelo W. Scleroderma heart disease with slow flow velocity in coronary arteries. Chest 1975;67(1):116-9.

7. Li J-J, Xu B, Li Z-C, Qian J, Wei B-Q. Is slow coronary flow associated with inflammation? Med Hypotheses 2006;66(3):504-8.

8. Rim S-J, Leong-Poi H, Lindner JR, Wei K, Fisher NG, Kaul S. Decrease in coronary blood flow reserve during hyperlipidemia is secondary to an increase in blood viscosity. Circulation 2001;104(22):2704-9.

9. Lanza G, Andreotti F, Sestito A, Sciahbasi A, Crea F, Maseri A. Platelet aggregability in cardiac syndrome X. Euro Heart J 2001;22(20):1924-30.

10. Gökçe M, Kaplan S, Tekelioğlu Y, Erdoğan T, Küçükosmanoğlu M. Platelet function disorder in patients with coronary slow flow. Clin Cardiol 2005;28(3):145-8.

11. Camsarl A, Pekdemir H, Cicek D, Polat G, Akkus MN, Döven O, et al. Endothelin-1 and nitric oxide concentrations and their response to exercise in patients with slow coronary flow. Circulation 2003;67(12):1022-8.

12. Sezgin N, Barutcu I, Sezgin AT, Gullu H, Turkmen M, Esen AM, et al. Plasma nitric oxide level and its role in slow coronary flow phenomenon. Int Hearth J 2005;46(3):373-82.

13. Schmidt HH, Walter U. NO at work. Cell 1994;78(6):919-25.

14. Mayer B, Hemmens B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. Trends Biochem Sci 1997;22(12):477-81.

15. Bassenge E. Coronary vasomotor responses: role of endothelium and nitrovasodilators. Nitrates Updated: Springer; 1997. p. 1-20.

16. Drexler H, Zeiher A, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. Lancet 1991;338(8782-8783):1546-50.

17. Rossi GP, Cesari M, Zanchetta M, Colonna S, Maiolino G, Pedon L, et al. The T-786 C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study. J Am Coll Cardiol 2003;41(6):930-7.

18. Gupta MD, Akkarappatty C, Girish MP, Kumar R, Rain M, Tyagi S, et al. Association between the Glu298Asp and 4b/4a polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase and coronary slow flow in the North Indian population. Coron Artery Dis 2014;25(3):192-7.

19. Nurkalem Z, Tangurek B, Zencirci E, Alper AT, Aksu H, Erer B, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene (T-786C) polymorphism in patients with slow coronary flow. Coron Artery Dis 2008;19(2):85-8.

20. Caglayan AO, Kalay N, Saatci C, Yalcın A, Akalın H, Dundar M. Lack of association between the Glu298Asp polymorphism of endothelial nitric oxide synthase and slow coronary flow in the Turkish population. Canadian J Cardiol 2009;25(3):e69-e72.

21. Bassenge E, Heusch G. Endothelial and neuro-humoral control of coronary blood flow in health and disease: Springer; 1990.

22. Bevan J. Vascular myogenic or stretch-dependent tone. J Cardiovasc Pharmacol 1985;7:129-36.

23. Franco-Cereceda A, Bengtsson L, Lundberg JM. Inotropic effects of calcitonin gene-related peptide, vasoactive intestinal polypeptide and somatostatin on the human right atrium in vitro. Euro J Pharmacol 1987;134(1):69-76.

24. Bache RJ, Dymek DJ. Local and regional regulation of coronary vascular tone. Prog Cardiovasc Dis 1981;24(3):191-212.

25. Mubagwa K, Mullane K, Flameng W. Role of adenosine in the heart and circulation. Cardiovasc Res 1996;32(5):797-813.

26. Bassenge E, Busse R. Endothelial modulation of coronary tone. Prog Cardiovasc Dis 1988;30(5):349-80.

27. Loscalzo J, Creager MA, Dzau VJ. Vascular medicine: a textbook of vascular biology and diseases: Little, Brown; 1996.

28. Stiles GL, Lefkowitz RJ. Cardiac adrenergic receptors. Ann Rev Medi 1984;35(1):149-64.

29. Armour J. Anatomy and function of the intrathoracic neurons regulating the mammalian heart. Reflex Ctrl Circulation 1991:1-37.

30. Wang X, Geng L-L, Nie S-P. Coronary slow flow phenomenon: A local or systemic disease? Med Hypotheses 2010;75(3):334-7.

31. Mosseri M, Yarom R, Gotsman MS, Hasin Y. Histologic evidence for small-vessel coronary artery disease in patients with angina pectoris and patent large coronary arteries. Circulation 1986;74(5):964-72.

32. Turhan H, Saydam GS, Erbay AR, Ayaz S, Yasar AS, Aksoy Y, et al. Increased plasma soluble adhesion molecules; ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin levels in patients with slow coronary flow. Int J Cardiol 2006;108(2):224-30.

33. Pekdemir H, Polat G, Cin VG, Çamsari A, Cicek D, Akkus MN, et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in coronary sinus during rapid right atrial pacing in patients with slow coronary flow. Int J Cardiol 2004;97(1):35-41.

34. Tebbe U, Neuhaus K, Kreuzer H. Slow flow in the coronary system and ST elevation in the ECG in left atrium catheterization. Zeitschrift Kardiol 1984;73(12):789.

35. Fineschi M, Gori T. Coronary slow-flow phenomenon or syndrome Y: a microvascular angina awaiting recognition. J Am Coll Cardiol 2010;56(3):239-40.

36. Fineschi M, Bravi A, Gori T. The “slow coronary flow” phenomenon: evidence of preserved coronary flow reserve despite increased resting microvascular resistances. Int J Cardiol 2008;127(3):358-61.

37. Beltrame JF, Limaye SB, Horowitz JD. The coronary slow flow phenomenon–a new coronary microvascular disorder. Cardiology 2002;97(4):197-202.

38. Saya S, Hennebry TA, Lozano P, Lazzara R, Schechter E. Coronary slow flow phenomenon and risk for sudden cardiac death due to ventricular arrhythmias: a case report and review of literature. Clin Cardiol 2008;31(8):352-5.

39. Yazici M, Demircan S, Aksakal E, Sahin M, Meric M, Dursun I, et al. Plasma insulin, glucose and lipid levels, and their relations with corrected TIMI frame count in patients with slow coronary flow. Anatolian j Cardiol 2003;3(3):222-6.

40. Mueller H, Dyer A, Greenberg M. The thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) trial. Phase I findings. Eng J Med 1985;312(14):932-6.

41. Cannon C, McCabe C. Comparison of ront loaded recom. tPa, anistreplase and combination thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of TIMI-4 trial. J Am Coll Cardiol 1994;24:1602-10.

42. Gibson CM, Cannon CP, Daley WL, Dodge JT, Alexander B, Marble SJ, et al. TIMI frame count. Circulation 1996;93(5):879-88.

43. Albayrak S, Ordu S, Yuksel H, Ozhan H, Yazgan Ö, Yazici M. Efficacy of nebivolol on flow-mediated dilation in patients with slow coronary flow. Int Hearth J 2009;50(5):545-53.

44. Kurtoglu N, Akcay A, Dindar I. Usefulness of oral dipyridamole therapy for angiographic slow coronary artery flow. Am J Cardiol 2001;87(6):777-9.

45. Beltrame JF, Turner SP, Leslie SL, Solomon P, Freedman SB, Horowitz JD. The angiographic and clinical benefits of mibefradil in the coronary slow flow phenomenon. J Am Coll Cardiol 2004;44(1):57-62.

46. Chang S, Ma J, Qian J, Shu X, Ge J. Effects of intracoronary administration of nitroglycerin and verapamil for treatment of coronary slow flow phenomenon. Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi 2010;38(1):27-30.

47. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980;288(5789):373-6.

48. Palmer RM, Ashton D, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988;333(6174):664-6.

49. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. J Leukocyte Biol 1993;54(2):171-8.

50. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1997;4(4).453-61.

51. Varela AF, Runge A, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Nitric oxide and prostacyclin inhibit fetal platelet aggregation: a response similar to that observed in adults. Am Obst Gynecol 1992;167(6):1599-604.

52. Radomski M, Palmer R, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. Lancet 1987;330(8567):1057-8.

53. Bush PA, Aronson W, Buga G, Rajfer J, Ignarro L. Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. J Urol 1992;147(6):1650-5.

54. Pepke-Zaba J, Higenbottam T, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. Lancet 1991;338(8776):1173-4.

55. Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. Trends Pharmacol Sci 1994;15(5):149-53.

56. Burnett A, Tillman S, Chang T, Epstein JI, Lowenstein CJ, Bredt D, et al. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the autonomic innervation of the human penis. J Urol 1993;150(1):73-6.

57. Zhang J, Snyder SH. Nitric oxide stimulates auto-ADP-ribosylation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. Proc Natl Acad Sci 1992;89(20):9382-5.

58. Taylor-Robinson AW, Severn A, Phillips RS. Kinetics of nitric oxide production during infection and reinfection of mice with Plasmodium chabaudi. Parasite Immunol 1996;18(8):425-30.

59. Croen KD. Evidence for antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus type 1 replication. J Clin Invest 1993;91(6):2446.

60. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. Euro Heart J 2012;33(7):829-37.

61. Kim N, Azadzoi KM, Goldstein I, De Tejada IS. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. J Clin Invest 1991;88(1):112.

62. Steinert JR, Chernova T, Forsythe ID. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. Neuroscientist 2010;16(4):435-52.

63. Brown GC. Nitric oxide and neuronal death. Nitric Oxide 2010;23(3):153-65.

64. MacMicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M, et al. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. Cell 1995;81(4):641-50.

65. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2000;20(2):107-11.

66. Davies PF. Multiple signaling pathways in flow-mediated endothelial mechanotransduction. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002;22(11):1755-7.

67. Tajouri L, Martin V, Ovcaric M, Curtain RP, Lea RA, Csurhes P, et al. Investigation of an inducible nitric oxide synthase gene (NOS2A) polymorphism in a multiple sclerosis population. Brain Res Bull 2004;64(1):9-13.

68. Klug W, Cummıngs M. Concept of Genetics, *Pretince hall* 0-13-081626-4,(2000). C.ÖNER, Çev.) Genetik Kavramlar. 2002.

69. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298→ Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. Circulation 1999;100(14):1515-20.

70. Basaran N. Tıbbi Genetik Ders Kitabı,(1999) 7. Baskı. Günes ve Nobel Tıp Kitabevleri.10-2.

71. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, et al. T−786→ C mutation in the 5′-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. Circulation 1999;99(22):2864-70.

72. Marsden PA, Heng H, Scherer S, Stewart R, Hall A, Shi X, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. J Biol Chem 1993;268(23):17478-88.

73. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, et al. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. Hum Genet 1998;103(1):65-9.

74. Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, van Goor H. Protective role of endothelial nitric oxide synthase. J Pathol 2003;199(1):8-17.

75. Lembo G, De Luca N, Battagli C, Iovino G, Aretini A, Musicco M, et al. A common variant of endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is an independent risk factor for carotid atherosclerosis. Stroke 2001;32(3):735-40.

76. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. Hypertension 1998;32(1):3-8.

77. Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. Trends Pharmacol Sci 2001;22(7):361-8.

78. Erbay AR, Turhan H, Yasar AS, Ayaz S, Sahin O, Senen K, et al. Elevated level of plasma homocysteine in patients with slow coronary flow. Int J Cardiol 2005;102(3):419-23.

79. Oda H, Suzuki M, Oniki T, Kishi Y, Numano F. Alcohol and coronary spasm. Angiology 1994;45(3):187-97.

80. Selcuk H, Selcuk MT, Temizhan A, Maden O, Saydam GS, Ulupinar H, et al. Decreased plasma concentrations of adiponectin in patients with slow coronary flow. Heart Vessels 2009;24(1):1-7.

EKLER

Ek 1

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2016/199	
	PROTOKOL ADI	Bölgemizde Koroner Yavaş Akım Saptanan Hastalarda ENOS Geninin GLU 298-ASP ve T786-C Polimorfizmlerinin Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Kenan YALTA	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 16/11** **Tarih:28.09.2016**
	Fakültemiz Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kenan YALTA'nın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Cihan ÖZTÜRK'ün tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. BiyoistatistikA.D.	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Salim DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Vedat UĞUREL Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E H	E H	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan v.
Dekan Yrd.

Ek 2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 28.09.2016. tarih ve .16/11..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** Bölgemizde koroner yavaş akım fenomeni saptanan hastalarda ENOS Geninin GLU 298-ASP ve T786-C polimorfizmlerinin araştırılması
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Kalp damarlarında tespit edilebilen tıkanıklık olmamasına rağmen kan akım hızı normalden yavaş olan insanlarda, buna sebep olduğu düşünülen bir genin farklı tipte olmasının gerçekten bu yavaşlamaya sebep olup olmadığının araştırılması
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Prof Dr Ahmet Kenan Yalta, Trakya Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı
- **Araştırmanın amacı:** Kalp damarlarında kanı yavaş akan insanlarda vücutta bulunan bir maddede (ENOS genininde) bir bozukluğun olup olmadığının araştırılması
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Araştırma bir tez çalışmasıdır
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Araştırmanın 30/09/2016 tarihinde başlaması, 30/06/2017 tarihinde tamamlanması planlanmaktadır.
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** Araştırma 74 sağlıklı birey ve 74 hasta olmak üzere 148 gönüllü ile yapılacaktır
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Araştırma için sizden bir seferliğe mahsus olmak üzere 5 cc (1 tüp) kan alınacaktır
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Araştırmada sizden alınan kandan vücudunuzdaki bir maddenin (kalıtsal bir madde - gen tahlili-polimorfizmi) araştırılacaktır

- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Araştırma başlangıcında kalp kan damarlarınızdaki kanın akım hızına göre grubunuz belirlenecek ve kan alım işlemi ve sizin hangi gruplarda olacağınız buna devam edecektir

- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:**

  -18 yaşından büyük olmak

  -Kalp kan damarlarında kanın belli biz hızdan daha yavaş akması (hasta bireyler için) ve ya tamamen normal akması (sağlıklı popülasyon için)

  -Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun kendi isteği/vasisi ile doldurması

  -Kişinin kan vermesi için herhangi bir engelinin bulunmaması

- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Araştırmadan doğrudan yarar görmeniz beklenmemektedir

- **Gönüllünün sorumlulukları:** Araştırmada herhangi bir sorumluluk taşımamaktasınız.

- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Kan alınan bölgede kızarıklık şişme morarma ısı artışı görülebilir.

- **Risklere karşı alınan önlemler:** Kan alınmadan önce bu bölge dezenfekte edilecek ve kan alındıktan sonra 4 dakika baskı uygulanacaktır. Bunlara rağmen yukarıda bahsi geçen reaksiyonlar gelişirse bu bölge alkollü pamuk ile sarılacak ve soğuk uygulama yapılacaktır.

- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Araştırmamızda herhangi bir alternatif yöntem bulunmamaktadır

- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Araştırmamızda kalıcı fonksiyon ve ya iş gücü kaybı oluşturacak zarar görmeniz beklenmemektedir. Olası zararlarınız sorumlu araştırmacı gözetiminde tedavisi planlanıp yapılacaktır. Tarafınıza tazminat ödenmeyecektir.

- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Tarafınıza ödeme yapılmayacaktır.

- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Kendi isteğiniz ile araştırmadan ayrılmak istemediğiniz sürece araştırmaya katılımınız sona erdirilmeyecektir

- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonuçları ile ilgili bilgilendirilmeyeceksiniz.

- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:**

  Dr. Cihan ÖZTÜRK 0507 293 3698

- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Kalp damarlarında kanı anı yavaş akan hastalarda bir kalıtımsal bir genin farklı tiplerinin araştırılması

- **Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için onay:**

"Bölgemizde koroner yavaş akım fenomeni saptanan hastalarda ENOS Geninin GLU 298-ASP ve T786-C polimorfizmlerinin araştırılması" **araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar, vb...);**

☐ **Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.**

☐ **İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.**

☐ **Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.**

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün/Vasisinin imzası:

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- ***Gönüllünün; (El yazısı ile)***

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için; (El yazısı ile)***

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....

.....

Tarih:

- ***Açıklamaları yapan araştırmacının***

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih: