



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLARDA İZOLE VENTRİKÜLER SEPTAL  
DEFEKT İLE ROCK2 (RHO/RHO-KİNAZ) GEN  
POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet AKSOY**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Osman BAŞPINAR**

**Ocak-2011**

**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLARDA İZOLE VENTRİKÜLER SEPTAL  
DEFEKT İLE ROCK2 (RHO/RHO-KİNAZ) GEN  
POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet AKSOY**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Osman BAŞPINAR**

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından  
TF 10.21 numaralı proje ile desteklenmiştir.

**TEZ ONAY SAYFASI**

**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLARDA İZOLE VENTRİKÜLER SEPTAL DEFEKT İLE  
ROCK2 (RHO/RHO-KİNAZ) GEN POLİMORFİZMİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Mehmet AKSOY**

**Ocak-2011**

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....

**Prof. Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI**  
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık ” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....

**Prof. Dr. Ayşe BALAT**  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönüyle “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....

**Doç. Dr. Osman BAŞPINAR**  
Tez Danışmanı

**TEZ JÜRİSİ**

1. Prof. Dr. Ayşe BALAT
2. Doç. Dr. Osman BAŞPINAR
3. Prof. Dr. Metin KILINÇ
4. Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
5. Doç. Dr. Mithat BÜYÜKÇELİK

## I. ÖNSÖZ

Bu çalışmanın her aşamasında engin bilgisi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, örnek kişiliği ile tüm asistan arkadaşların saygısını kazanmış, değerli tez hocam Sayın Doç. Dr. Osman BAŞPINAR'a,

Eğitimimde büyük emekleri olan Pediatri Anabilim Dalı'nın saygıdeğer hocalarına, istatistiksel analizlerde yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. A.Tuncay DEMİRYÜREK'e, örneklerin toplanması, işlenmesi ve bu çalışmanın toparlanmasında özveri gösteren Yrd. Dç. Dr. Serdar ÖZTUZCU'nun şahsında tüm laboratuvar ekibine,

Her zaman çalışkanlığı ile öne çıkan, tezlerin korkulu rüyası Uzm. Dr. Orhan KILIÇ'a, kontrol grubu kanlarının toplanmasında ekstra katkıları nedeniyle asistan arkadaşlarım Dr. Hatice UYGUN'a, Dr. Gül KAYA'ya, Dr. Sibel ÖZTÜRK'e, çevirileri ile katkı sağlayan Dr. Arda KILINÇ'a ve birlikte çalıştığım fedakar ve özverili tüm asistan arkadaşlarıma, sevgili intörn hekim arkadaşlarıma, Pediatri'nin tüm özverili hemşirelerine ve çalışanlarına,

Desteği ve sevgisiyle her zaman yanımda olan biricik eşim Sevim AKSOY'a, çalışmalarımın bitmesini sabırla bekleyen yaramazlık abidesi kızım Şevval'e ve bugünlere gelmemde başta ailem olmak üzere emeği geçen herkese,

teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Mehmet AKSOY

GAZİANTEP-2011

## II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III. ÖZET.....	V
IV. ABSTRACT.....	VI
V. KISALTMALAR.....	VII
VI. TABLOLAR LİSTESİ.....	VIII
VII. ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
VIII. RESİMLER LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ventriküler Septal Defekt.....	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe.....	3
2.1.2. Ventriküler Septumun Embriyolojisi.....	3
2.1.3. Etyoloji.....	4
2.1.4. Epidemiyoloji.....	4
2.1.5. Ventriküler Septumun Anatomisi.....	5
2.1.6. Ventriküler Septum Defektlerinde Sınıflandırma.....	6
2.1.6.1. Perimembranöz Ventriküler Septum Defektleri.....	7
2.1.6.1.1. Perimembranöz İnlet VSD.....	8
2.1.6.1.2. Perimembranöz Outlet VSD.....	8
2.1.6.1.3. Perimembranöz Trabeküler VSD.....	8
2.1.6.2. Müsküler Ventriküler Septum Defektleri.....	9
2.1.6.2.1. Müsküler İnlet VSD.....	9
2.1.6.2.2. Müsküler Outlet VSD.....	9
2.1.6.2.3. Müsküler Trabeküler VSD.....	9
2.1.6.3. DCJA Septum Defektleri.....	9
2.1.7. Fiziopatoloji.....	11
2.1.8. Klinik Belirti Ve Bulgular.....	12

2.1.9. Tanı.....	14
2.1.9.1. Elektrokardiyografi.....	14
2.1.9.2. Telekardiyografi.....	14
2.1.9.3. Ekokardiyografi.....	15
2.1.9.4. Kalp Kateterizasyonu.....	17
2.1.10. Medikal Tedavi.....	18
2.1.11. Hasta Yönetimi ve Cerrahi.....	19
2.1.12. Ventriküler Septum Defektlerinin Doğal Seyri.....	20
2.1.12.1. Spontan Kapanma.....	21
2.1.12.2. Sol Ventrikül Sağ Atriyal Şant .....	21
2.1.12.3. Sol Ventrikül Çıkış Yolu Darlığı.....	21
2.1.12.4. Sağ Ventrikül Çıkış Yolu Darlığı.....	21
2.1.12.5. Pulmoner Vasküler Obstruktif Hastalık....	21
2.1.12.6. Aort Kapak Prolapsusu ve Aort Yetersizliği.....	22
2.2. Rho/Rho-Kinaz Sinyalizasyon Yolağı.....	22
2.2.1. Rho Proteinleri.....	22
2.2.2. Rho-Kinaz.....	24
2.2.3. Kardiyovasküler Doku İle Rho-Kinaz Sinyalizasyon Yolağı İlişkisi.....	27
2.2.4. Rho-Kinaz Gen Polimorfizmi.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Araştırmanın Tipi.....	32
3.2. Araştırmanın Evreni.....	32
3.3. Araştırmanın Dâhil Edilme ve Dışlanma Ölçütleri.....	32
3.4. Kanların Alınması ve Saklanması.....	33
3.5. DNA İzolasyonu ve PCR.....	33
3.6. PCR İle Exon 16 (Rs35768389) ve Exon 26 (Rs34945852) Bölgesi Polimorfizmlerinin Tespiti.....	34
3.7. Real Time PCR İle Ekzon 10 (Rs:9808232) Bölgesi Polimorfizmlerinin Tespiti.....	37
3.8. İstatistiksel Analiz .....	38

4. BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR.....	52

### III.ÖZET

## ÇOCUKLARDA İZOLE VENTRİKÜLER SEPTAL DEFEKT İLE ROCK2 (RHO/RHO-KİNAZ) GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

### UZMANLIK TEZİ

**Dr. Mehmet AKSOY**

**ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ABD**

### TEZ DANIŞMANI

**Doç. Dr. Osman BAŞPINAR**

**GAZİANTEP-Ocak/2011, 60 Sayfa**

Ventriküler septum defekti (VSD), sağ ve sol ventrikülü ayıran septuma yerleşen, bir ya da daha fazla sayıda olabilen açıklıklar olarak tanımlanabilir. Biküspid aortik kapak ve mitral kapak prolapsusundan sonra en sık görülen doğumsal kalp anomalisi olmasına rağmen etyopatogenezi henüz aydınlatılamamıştır. ROCK2/Rho-kinazın; hücre hareketi, göçü ve kasılması gibi çok sayıda hücre fonksiyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Perimembranöz outlet VSD'nin oluşum teorilerinden birisi ekstramezenkimal doku migrasyon anomalisidir. Bu çalışma ile ROCK-2 gen polimorfizmi ile izole VSD arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu çalışma aynı zamanda literatürde VSD ile ilgili yapılan ilk gen çalışmasıdır.

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Pediatrik Kardiyoloji Bölümü polikliniğine başvuran, izole VSD tanısı almış hastalar (n=150) ve kalp hastalığı olmayan sağlıklı gönüllüler (n=150) çalışmaya alınmıştır. Hastalardan ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinden DNA izolasyonları yapılmış, PCR yöntemi ile Ekzon 16 ve 26 bölgesi, Real Time PCR yöntemi ile Ekzon 10 bölgesi için SNP tespitleri yapıldı. Kontrol grubundan 22, VSD grubundan 13 kişinin DNA'ları ayrıştırılmadığından çalışmadan çıkarıldı.

ROCK2 geni ekzon 10 bölgesi Thr431Asn polimorfizmi için Thr-Thr, Thr-Asn ve Asn-Asn genotip frekansları ile Thr ve Asn allel frekansları; ekzon 16 bölgesi Asp601Val polimorfizmi için Asp-Asp, Asp-Val ve Val-Val genotip frekansları ile Asp ve Val allel frekansları; ekzon 26 bölgesi Lys1083Met polimorfizmi için Lys-Lys, Lys-Met ve Met-Met genotip frekansları ile Met ve Lys allel frekansları incelendi. Kontrol grubu ile hasta grubu arasında genotip frekansları ile allel sıklıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamadı ( $p>0.05$ ).

Sonuç olarak izole VSD'lilerde ROCK2 geni Thr431Asn polimorfizmi sınırda anlamsız saptandı ( $p=0.056$ ). Bunun için daha kapsamlı ve daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar sözcükler: Polimorfizm, ROCK2, Rho-kinaz, Ventriküler septal defekt,

#### IV. ABSTRACT

### RESEARCH OF THE RELATION BETWEEN ROCK2 (RHO/RHO-KINASE) GENE POLYMORPHISM AND THE ISOLE VENTRICULAR SEPTAL DEFECTS ON THE CHILDHOOD

**Dr. Mehmet AKSOY**

**Recidency Thesis, Department of Pediatric Disease**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Osman BASPINAR**

**Gaziantep-January 2011, 60 pages**

Ventricular Septal Defect (VSD) is defined as a one or more than one apertures which locate on septum and separate right and left ventricle. Ventricular septal defect is the most frequent congenital heart anomaly after than bicuspid aortic valve and mitral valve prolapses but VSD's etiopathogenesis is unclear. It was shown that ROCK2/Rho-kinase has role on cell movement, migration and contraction. One of perimembranose outlet VSD forming theory is extramesenchymal tissue migration anomaly. This study aimed to show the relationship between ROCK-2 gene polymorphism and isolated VSD. Also this study is the first gene based VSD study at literature.

This study has included diagnosed isolated VSD patient (n=150) and healthy individuals (n=150) who were applied to Gaziantep University Medical Faculty Hospital Pediatric Cardiology Department. DNA isolation was made from patients and volunteer's blood samples. In order to show SNP Exon 16 and Exon 26 region were studied by PCR method, for Exon 10 region was used by Real Time PCR method.

For Thr431Asn polymorphism on Exon 10 region ROCK2 Gene Thr-Thr, Thr-Asn, Asn-Asn genotype frequencies and Thr-Asn allele frequencies; for Asp601Val polymorphism on Exon 16 region Asp-Asp, Asp-Val, Val-Val genotype frequencies and Asp-Val allele frequencies; for Lys1083Met polymorphism on Exon 26 region Lys-Lys, Lys-Met, Met-Met genotype frequencies and Met-Lys allele frequencies were studied. There were no statistical meaningful difference between control group and patient group's genotype frequencies and allele frequencies ( $P>0.05$ ).

Finally midunmeaningfull relation was shown between isolated VSD and Thr431Asn polymorphism on ROCK2 gene ( $p=0.056$ ). More detailed study is needed to show this relation.

**Key Words:** Polymorphism, ROCK2, Rho-kinase, Ventricular septal defect

**V. KISALTMALAR**

<b>Kısaltma</b>	<b>Açıklama</b>
cGMP	:siklik Guanil mono fosfat
DCJA	:Doubly comitted juksta arteryal
EKO	:Ekokardiyografi
EDTA	:Etilendiamintetra asetik asit
GDP	:Guanozin difosfat
GTP	:Guanozin trifosfat
GTPaz	:Guanozin trifosfataz
kDa	:kilodalton
NO	:Nitrik oksit
NOS	:Nitrik oksit sentaz
PAB	:Pulmoner arter bantlama
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
SNP	:Tekli nükleotid değişim
SD	:Standart sapma
VSD	:Ventriküler septum defekti

## VI. TABLOLAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Ventriküler septum defektlerinin interventriküler septumdaki konum ve uzanımlarına göre sınıflaması.....	10
<b>Tablo 2.</b> Defekt çapının vücut yüzey alanına olan oranı ve hasta yaşı ile VSD boyutunun değerlendirilmesi.....	16
<b>Tablo 3.</b> Ventriküler septum defektlerinde spontan kapanma mekanizmaları...	20
<b>Tablo 4.</b> Rho-kinaz substratları.....	26
<b>Tablo 5.</b> Ekzon 10 için HRM (High Resolution Melting) analizi ile SNP tespiti.....	37
<b>Tablo 6.</b> VSD ve kontrol grubunun boy-ağırlık persentili, yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	41
<b>Tablo 7.</b> VSD boyutunun VSD kapatma operasyonu, kalp yetmezliği gelişimi ve gelişme geriliği ile ilişkisi.....	42
<b>Tablo 8.</b> VSD tiplerinin VSD kapatma ameliyatı oranları, kalp yetmezliği gelişimi ve gelişme geriliği ile ilişkisi.....	42
<b>Tablo 9.</b> Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	45
<b>Tablo 10.</b> Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon 16 Asp601Val polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	45
<b>Tablo 11.</b> Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon 26 Lys1083Met polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	45
<b>Tablo 12.</b> VSD boyutu ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları (küçük VSD).....	46
<b>Tablo 13.</b> VSD boyutu ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları (orta VSD).....	46
<b>Tablo 14.</b> VSD boyutu ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları (büyük VSD).....	46
<b>Tablo 15.</b> Müsküler VSD ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	47
<b>Tablo 16.</b> Membranöz VSD ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	47

## VII. ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Sağ ventrikül tarafından bakıldığında membranöz ve m¼sk¼ler septumun böl¼mleri.....	6
<b>Şekil 2.</b> Modifiye Soto sınıflamasına göre, sağ ventrikül tarafından bakıldığında defektlerin ventrik¼ler septumdaki konumları.....	11
<b>Şekil 3.</b> Rho aktivitesinin d¼zenlenmesi.....	23
<b>Şekil 4.</b> Rho-kinaz ve d¼zenlenmesi.....	25
<b>Şekil 5.</b> Vask¼ler d¼z kas kasılmasının mekanizması.....	29
<b>Şekil 6:</b> Real Time PCR ile SNP tespiti.....	38
<b>Şekil 7.</b> VSD'li hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı.....	41
<b>Şekil 8.</b> VSD'li hastaların defekt tipi ve septumda yerleşim yerlerine göre dağılımı.....	42
<b>Şekil 9.</b> VSD'li hastaların ağırlık persentillerine göre dağılımı.....	43
<b>Şekil 10.</b> VSD'li hastaların çocukluk dönemlerine göre dağılımı.....	43
<b>Şekil 11.</b> VSD tiplerinin septumda yerleşim yerlerine göre dağılımı.....	44
<b>Şekil 12.</b> VSD tiplerinin boyutlarına göre dağılımı.....	44

VIII. RESİMLER LİSTESİ

**Resim 1.** Exon 16 PCR sonucu

**Resim 2.** Exon 16 kesim sonucu

**Resim 3.** Exon 26 PCR sonucu

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ventriküler septum defekti (VSD), sağ ve sol ventrikülü ayıran septuma yerleşen, bir ya da daha fazla sayıda olabilen açıklıklar olarak tanımlanabilir. Biküspid aortik kapak ve mitral kapak prolapsusundan sonra en sık görülen doğuştan kalp anomalisidir. Doğuştan kalp hastalıklarının %42'sini oluşturur, prevalansı 1000 canlı doğumda 2.5'tir (1). Toplumda bilinen izole VSD oranı doğumsal kalp hastalıklarının yaklaşık %20'si olmasına rağmen VSD'in etyopatogenezi henüz aydınlatılamamıştır. Etiyolojide genetik yatkınlıkla birlikte annenin sigara, alkol ve amfetamin kullanımı, annede diyabet varlığı, annenin boya sanayisinde çalışması, tarım ilaçları gibi bazı çevresel faktörler suçlanmaktadır (2). Etiyopatogenez ile ilgili bir takım hipotezler ileri sürülmüş; özellikle perimembranöz outlet VSD oluşumuna ekstremezokimal migrasyon anomalisinin neden olabileceği hipotezi ve Rho-kinaz'ın migrasyondaki rolü, bizi bu çalışmayı yapmaya sevketmiştir.

Rho/Rho-kinaz sinyal yolağının, trombosit kümeleşmesi, lenfosit ve fibroblast adhezyonu, aktin hücre iskeleti reorganizasyonu, hücre hareketi ve migrasyonu, düz kas kasılması, stres liflerinin oluşumu, hücrenin farklılaşması, çoğalması ve bölünmesi, aksonal uzama ve tümör metastazı gibi hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli görevleri olduğunu biliyoruz (3-5).

Rho proteinleri monomerik Guanozin-3Paz (GTPaz)'ların Ras süperfamilyasının Rho subfamilyası üyeleridir. Küçük molekül ağırlıklı Guanozin-3P (GTP) bağlayıcı proteinler, 20-40 kilodalton (kDa)'luk monomerik G proteinleridir (6).

Rho-kinaz yaklaşık 1388 aminoasit dizisinden oluşur. Bu dizide amino ve karboksil uçları bulunmaktadır. Rho-kinaz, aynı zamanda ROCK $\alpha$  veya ROCK2 olarak isimlendirilir (7). ROCK $\beta$  (veya ROCK1) Rho-kinazın bir izoformudur (8). İnsanda ROCK1 ve ROCK2 genleri sırasıyla 18. kromozom (18q11.1) ve 2. kromozomda (2p24) yer almaktadır (9). ROCK1'in akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve testiste ROCK2'nin de beyin ve kalpte daha fazla ekprese edildiği bildirilmiştir. Rho-kinaz enziminin hemen hemen her dokuda varlığı gösterilmiştir (10).

Rho/Rho-kinaz yolağının izole VSD'in patogenezinde rolü olabileceğini gösteren klinikte insanlar üzerinde yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu alışma ile Türk toplumunda ROCK2 gen polimorfizmi Thr431Asn (ekzon 10), Lys1083Met (ekzon 26) ve Asp601Val (ekzon 16) ile izole VSD arasındaki muhtemel ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır.

İzole VSD'de erken genetik inceleme ve tanımlama mümkün olabilirse hastalığın patofizyolojisinin anlaşılması, buna dayalı olarak daha zgn tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ailelerin genetik danışmanlığı yanı sıra diğer kardiyak defektlere model oluşturması açısından yol gösterici olacaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Ventriküler Septal Defekt**

#### **2.1.1. Tanım ve Tarihçe**

Ventriküler septal defekt, sağ ve sol ventrikülü ayıran septuma yerleşen, bir ya da daha fazla sayıda olabilen açıklıklar olarak tanımlanabilir. İlk kez Henri Roger 1879'da küçük, izole VSD'in tipik üfürümünün uzun bir yaşamla olan birlikteliğini tanımlamış, Eisenmenger tarafından 1897'de siyanoz ve pulmoner hipertansiyonu olan bir olgunun postmortem bulguları sunulmuştur.

Ventriküler septal defekt, biküspid aortik kapak ve mitral kapak prolapsusundan sonra en sık görülen doğumsal kalp anomalisidir. Doğumsal kalp hastalıklarının %42'sini oluşturur, prevalansı 1000 canlı doğumda 2.5'tir. Bu defektler tek başına bulunabildikleri gibi Fallot tetralojisi, çift çıkımlı sağ ventrikül ve trunkus arteriyozus gibi doğuştan bazı kalp hastalıklarında kompleksin bir parçası olarak, büyük damar transpozisyonunda ise eşlik eden bir anomali olarak bulunabilirler.

#### **2.1.2. Ventriküler Septumun Embriyolojisi**

İntrauterin yaşamın 3. haftasının sonunda kardiyak lupun oluşumunu takiben ventriküler kısımdan primitif sol ventrikül, bulbus kordisin proksimal kısmından primitif sağ ventrikül gelişir (11). Bu iki yapı arasında primer interventriküler foramen bulunur. Her iki ventrikül sağ ve sol atriyoventriküler kapaklar aracılığı ile atriyumlarla ilişkidir. 4. haftanın sonunda müsküler ventriküler septum, ventrikül tabanından yukarı doğru gelişmeye başlar ve ventrikülü ikiye ayırır. 5. haftanın sonunda trunkus arteriyosusda karşılıklı iki kabartı oluşur. Bu kabartıların her biri diğerine doğru spiral yapacak şekilde büyür ve karşılıklı birleşerek aortikopulmoner septumu oluştururlar. Her iki atriyoventriküler kanal arasında bulunan endokardiyal yastık dokusunun proliferasyonu da bu dönemde gerçekleşir. Aortikopulmoner septum aşağıya ventriküle doğru uzanır ve daha önce birleşmiş olan müsküler septum ve endokardiyal yastık dokusu ile birleşir. Bu üç yapının birleşmesi intrauterin yaşamın 7-8. haftasında

tamamlanır ve interventriküler foramen kapanır. Sonra septumun bu bölgesi membranöz interventriküler septum olarak şekillenir (11,12).

### **2.1.3. Etyoloji**

Ventriküler septum defektlerinin kesin nedeni iyi bilinmemekle birlikte hem çevresel etkenlerin hem de ailesel yatkınlığın etyolojide rol oynadığı kabul edilmektedir. Annenin sigara, alkol ve amfetamin kullanımı, annede diyabet varlığı, annenin boya sanayisinde çalışması etyolojide suçlanmaktadır (2,12). Tarım ilaçları gibi çevresel ajanların izole VSD'nin etyolojisindeki yeri tartışmalıdır (12). Baltimore-Washington infant çalışması ve diğer bazı araştırmalar anne veya babanın tarımsal ajanlara maruziyetinin çocuklarda artmış izole VSD riski ile birlikteliğini gösterirken, bunu desteklemeyen araştırmalar da vardır (13,14). Bazı çalışmalarda ise kompleks kardiyak anomalilerin bir parçası olan VSD'lerin sıklığında artış bulunurken, izole VSD sıklığında anlamlı bir artış bulunamamıştır (15).

Aralarında 3. derece akrabalık bulunan anne veya babanın herhangi birinde VSD varlığında çocukta VSD görülme olasılığı %4.4'tür (15).

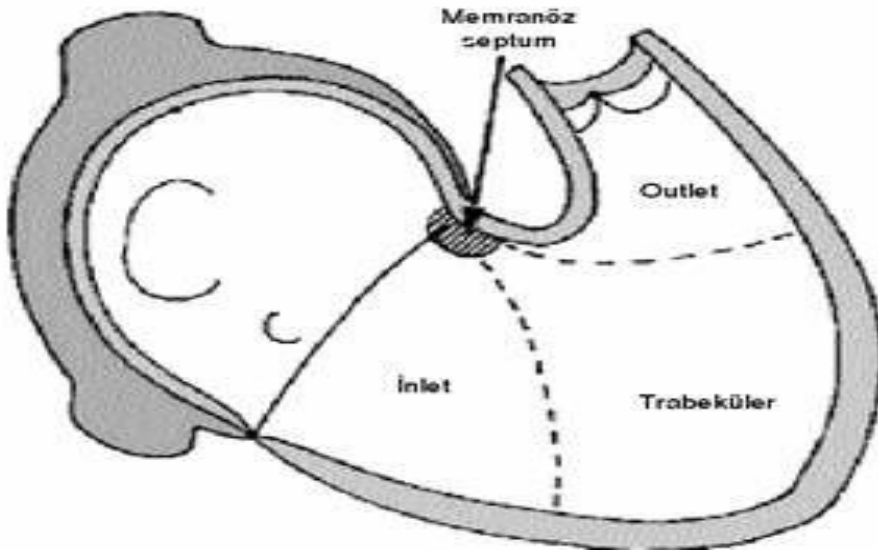
### **2.1.4. Epidemiyoloji**

Ekokardiyografi (EKO) klinik kullanıma girmeden önce VSD'in prevalansı hakkındaki bilgiler yetersizdi. Çünkü izole defekti olan pek çok hasta asemptomatikti. Günümüzde çocuk kardiyoji kliniklerinde doğumsal kalp hastalığı tanısı ile izlenen hastaların yaklaşık %20'sini izole VSD oluşturur. İzole VSD, biküspid aortik kapak ve mitral valv prolapsusundan sonra en sık görülen doğumsal kalp hastalığıdır. Geçmiş yıllarda Hoffman ve Moe tarafında yapılan farklı çalışmalarda VSD sıklığı term yenidoğanlarda 1000 canlı doğumda 1.5-3.5, preterm yenidoğanlarda ise 1000 canlı doğumda 4.5-7.5 olarak bildirilmiştir. Defektlerin çoğu spontan olarak kapandığı için erişkin dönemde prevalans en düşüktür (16). Son yıllarda yapılan renkli Doppler EKO taramalarında doğumda VSD sıklığı %1-5 arasında bildirilmektedir. Bu artmış sıklığın nedeni genelde yaşamın ilk aylarında kapanan küçük müküler VSD'lerin de saptanmasıdır (17,18). İzole VSD, kız çocuklarında biraz daha sık görülür. İzole VSD'li hastaların %56'sı kız, %44'ü erkektir (19).

### 2.1.5. Ventriküler Septumun Anatomisi

Kısa ekseninde her iki ventrikül açıldığında hilal şeklinde sağ ventrikül tarafından kısmen çevrelenmiş dairesel sol ventrikül görülür. İnterventriküler septum 100-120 derecelik bir yay şeklindedir ve bu anatomik yapı septumu güçlendirir. Pulmoner kapak triküspit kapaktan krista supraventrikülaris ya da ventriküloinfundibuler katlantı olarak adlandırılan müsküler bir yapı ile ayrılır.

Aort kapağı, triküspit ve mitral kapaklara olan “wedge” konumu nedeniyle ventrikül tabanında biraz daha derine yerleşmiştir. Aort kapağı ile mitral ve triküspit kapaklar arasında fibröz devamlılık vardır ve bu bölge santral fibröz cisim olarak adlandırılır. Santral fibröz cismin ventriküler septumdaki uzantısı membranöz septumu oluşturur. Membranöz septum mitral kapağın ön yaprakçığı ve triküspit kapağın septal yaprakçığı ile bağlantılıdır. Triküspit kapağın septal yaprakçığı mitral kapağın ön yaprakçığından daha apikale yerleştiği için sol ventrikül tarafından bakıldığında membranöz septumun arka parçası iki ventrikülün arasında değil, sol ventrikül ve sağ atriyumun arasında gibi görünür. Bu septum bölgesi atriyoventriküler septum olarak adlandırılır. Sonuçta membranöz septum triküspit kapağın septal yaprakçığı tarafından iki kısma ayrılır (20). Müsküler septum, tepesi membranöz septum tarafından oluşturulan üçgen şeklinde üç bölgeye ayrılır, bunlar; inlet, outlet ve trabeküler parçalardır (Şekil 1). Septum, sağ ventrikül tarafında sola kıyasla yoğun bir trabekülasyon gösterir. Burada özel bir yapı, trabeküloseptomarjinalistir. Bir gövde ve iki bacadan oluşan ve “Y” harfine benzeyen bu yapı ventrikül apeksine doğru oblik şekilde uzanarak moderatör bantı oluşturur. Kranial uçta ise gövde ön ve arka kollara ayrılır, ön kol pulmoner kapağı desteklerken arka kol membranöz septuma uzanır. Ön ve arka kolların ayırım bölgesinde ise konal papiller kas yerleşmiştir (20).



**Şekil 1:** Sağ ventrikül tarafından bakıldığında membranöz ve müsküler septumun bölümleri

#### 2.1.6. Ventriküler Septum Defektlerinde Sınıflandırma

Ventriküler septal defektin morfolojisi ve yerleşimi hastalığın seyrini, gelişebilecek komplikasyonları ve tedavi yaklaşımını belirleyen en önemli faktördür. Defektlerin farklı morfolojik tiplerinin tanımlanmasında bugüne dek çok çeşitli sınıflandırmalar önerilmiş ve kullanılmıştır. 1960'da Lev defektleri yüksek ve alçak yerleşimli olarak tanımlamışken, Taussig, basit defektler ve aortun overridingi ile beraber olan defektler olarak ikiye ayırmış, Goor ve arkadaşları ise septumu oluşturan yapıların gelişimsel orijinlerini temel alan bir sınıflama yapmıştır. Daha sonraki dönemde Van Praagh tarafından morfolojik ve embriyolojik özelliklerin birlikte kullanıldığı bir sınıflama yapılmış, Kirklin ise cerrahlar için değerli olabilecek bir sistem üzerinde çalışmıştır. 1980-1990'lı yıllarda Soto, Anderson ve Baker tüm bu gereksinimleri karşılamaya yönelik sınıflamalar üzerinde çalışmış fakat sonraki yıllarda da tartışmalar devam etmiştir. Günümüzde herkes tarafından kabul gören bir sınıflama üzerinde fikir birliği oluşmamıştır. Ortak kanı defektin ilk tanımlandığı dönemlerdeki gibi basit olmadığıdır (21).

Günümüzde en sık Soto ve arkadaşları ile Anderson ve arkadaşları tarafından yapılan ve aralarında çok az fark bulunan iki sınıflama kullanılmaktadır. Avrupa

Pediyatrik Kardiyoloji Derneği'nin doğuştan kalp hastalıklarına ilişkin veri tabanının oluşturulmasında ve tedavi sonuçlarının izlem ve değerlendirilmesinde kullanılmak üzere 2000 yılında yayınladığı Avrupa Pediyatrik Kardiyoloji kodunda da Anderson ve arkadaşlarının yaptığı sınıflama benimsenmiştir. Bu sınıflamada VSD'ler perimembranöz, müsküler ve doubly committed juksta-arteryel defektler (DCJA) olmak üzere  ana gruba ayrılır. Bu sınıflandırmanın avantajı, defektin iletim dokusu ve arteryel kapaklarla olan ilişkisi, izlemde gelişebilecek komplikasyonlar, kapanma potansiyeli ve cerrahi yaklaşım açısından yol gösterici olmasıdır. Sağ taraftan bakıldığında ventriküler septum dört parçaya ayrılabilir. İnet septum; triküspit kapak anulusundan triküspit kapakçıkların tutunduğu yere kadar olan bölge, trabeküler septum; triküspit kapak yaprakçıkların tutunduğu yerden nde apekse ve yukarıda krista supraventriklarise kadar olan bölge, outlet veya infundibuler septum; kristadan pulmoner kapağa uzanan bölge, membranöz septum; ortada bulunan küçük bölgeden ibarettir. Ventriküler septum defektleri morfolojik özelliklerine, ventriküler septumdaki konum ve komşuluklarına göre sınıflandırılırken, defekte sağ ventrikül tarafından bakıldığında görülen sınırlar temel alınır. Perimembranöz ve müsküler VSD'ler yine sağ ventrikülde uzandıkları septum parçasına göre inlet, outlet ve trabeküler alt gruplarına ayrılır. Sağ ventrikülün birden fazla kesimine açılan defektler ise konfluen VSD olarak isimlendirilir (22).

#### **2.1.6.1. Perimembranöz Ventriküler Septum Defektleri**

Normal bir kalpte membranöz septum ve supraventriküler krest olarak adlandırılan kısma yerleşirler. Membranöz septum sol ventrikül tarafında aort ve mitral kapak yaprakçıkları arasında fibröz devamlılık gösterir, bu bölgenin sağ taraftaki karşılığı sağ fibröz üçgendir. Membranöz septumla sağ fibröz üçgenin birleştiği bölge santral fibröz cisim olarak adlandırılır. Perimembranöz defektler santral fibröz cisme bitişik yerleşirler. Membranöz septum triküspit kapağın septal yaprakçığının yapışma çizgisi tarafından atriyoventriküler ve interventriküler septum diye iki kısma ayrılır. Atriyoventriküler iletim dokusu, Koch üçgeninin tepesinden müsküler septuma doğru yol alırken, membranöz septumun atriyoventriküler kesiminden geçer. Böylece ileti dokusu triküspit kapakta straddling yoksa defektin arka-alt kısmından geçer (20).

### **2.1.6.1.1. Perimembranöz İnlet VSD**

Sağ ventrikülün girişine açılan defektlerdir. Bu defekt triküspid septal yaprakçığının altındadır, defektin arka-alt kenarını triküspid ve mitral kapakların fibröz devamlılığı oluşturur. Defektin üst kenarında membranöz septum ve aort kökünün fibröz dokusu yer alır. Bu defektlerde triküspid septal yaprakçığı defektif olabilir (bu durumda sol ventrikül sağ atriyum şantı görülür) ve straddling gösterebilir. Bu defektler, triküspid kapağın septal yaprakçığı, membranöz septum anevrizması veya triküspidden gelen aksesuar dokularla kısmen küçülebilir ya da tamamen kapanabilir (23).

### **2.1.6.1.2. Perimembranöz Outlet VSD**

Sağ ventrikül çıkışına açılan perimembranöz defektlerdir. Sağ ventrikül çıkışının (subpulmoner müsküler infundibulum) önemli bir kısmı serbest duvarlı bağımsız bir yapıdır, gerçek interventriküler septum niteliğindeki müsküler outlet septum çok küçük bir bölgedir. Bu nedenle, septum yapılarının malalignment göstermediği saf outlet defektler oldukça nadirdir. Perimembranöz outlet defektler genellikle outlet septuma değil, outletlerin altına açılır. Subaortik ya da subpulmonik olabilirler. Outlet septumda öne yönlendiği zaman aortik kapak açıklığı müsküler ventriküler septuma overriding yapar. Bu defektlerde sağ ventrikül çıkış yolu darlığı görülebilir. Fallot tetralojisinden ayırımı müsküler infundibuler stenozun yokluğu ile yapılır. Outlet septumun arkaya sol ventrikül çıkış yoluna doğru yönelmesi subaortik darlığa neden olur. Bu durum sıklıkla aortik arkın darlıklı lezyonları ile birlikte (şiddetli tübüler hipoplazi ya da kesintili aort arkı). Perimembranöz outlet VSD, septumun öne yönlendiği ve sağ ventrikül çıkış yolu darlığı birlikteliğine Fallot tetralojisi iyi bir örnektir. Sağ ventrikül çıkış yolu darlığı olmaksızın septumun öne doğru yönlendiği perimembranöz outlet VSD'ler ise Eisenmenger VSD olarak bilinir (22).

### **2.1.6.1.3. Perimembranöz Trabeküler VSD**

Sağ ventrikülün trabeküler kesimine açılan perimembranöz defektlerdir. Bunlar küçük, yarık şeklinde defektler olup, nadir görülürler; sıklıkla konfluen defektlerin bir parçasını oluştururlar. Bu defektlerde triküspid septal yaprakçığında kleft sıktır (22).

### **2.1.6.2. Müsküler VSD**

Sağ ventrikülden bakıldığında kenarları tamamen müsküler dokudan oluşan bu defektler sağ ventrikülde açıldıkları bölgeye göre inlet, outlet ve trabeküler olarak sınıflandırılırlar.

#### **2.1.6.2.1. Müsküler İnet VSD**

Triküspid septal yaprakçığına yakın yerleşimli olan bu defekt yaprakçıktan müsküler dokuyla ayrılır. Triküspid ve mitral kapaklar arasında da müsküler doku bulunur.

#### **2.1.6.2.2. Müsküler Outlet VSD**

Sağ ventrikül çıkışına açılan müsküler defektlerdir. Diğer müsküler defektler gibi, sağ ventrikülden bakıldığında tamamen müsküler kenarlıdır. Bu VSD'ler serbest duvar müsküler subpulmoner infundibulumun hemen altına açılan küçük defektler veya aortun overriding gösterdiği daha geniş defektler şeklinde olabilir, bu ikinci tür defektlere sağ ventrikül çıkış yolu darlığı eşlik edebilir. Müsküler outlet defektlerde aort ve triküspid kapak yaprakçıkları, içinden atriyoventriküler iletim dokusunun geçtiği müsküler bir dokuyla birbirinden ayrılırlar.

#### **2.1.6.2.3. Müsküler Trabeküler VSD**

Trabeküler müsküler septuma yerleşen defektlerdir. Geniş müsküler trabeküler defektler genellikle orta ventriküler düzeyde, septomarjinal trabekülasyona yakın yerleşimlidir. Septum sol ventrikül tarafında daha düzgün bir yüzeye sahiptir. Sol ventrikül tarafından bakıldığında tek bir defekt olarak gözükür müsküler trabeküler VSD'ler bazen septomarjinal veya septoparietal trabekül tarafından çaprazlanarak sağ ventriküle birden fazla delikle açılabilir. Gerçek multipl müsküler trabeküler defektlerde ise, apikal müsküler septum süngerimsi görünümündedir ve bu defektler İsveç peyniri VSD olarak adlandırılır.

#### **2.1.6.3. Doubly Committed Juksta Arteriyel (DCJA) VSD**

Defekt normal kalpte müsküler subpulmoner infundibulumun olması gereken yerdedir. Normal kalpte pulmoner kapak, serbest duvar müsküler subpulmoner

infundibulum tarafından desteklenmektedir ve bu bölge interventriküler değildir. Pulmoner kapak, aort kapağından daha yukarı yerleşmiştir ve aort sinüsleriyle subpulmoner infundibulum arasında fibröz doku yer alır. Oysa DCJA defektlerde hem müküler outlet septum yoktur, hem de subpulmoner müküler infundibulumun septal bölgesi gelişmemiştir. Bu defektin tavanını hemen hemen aynı düzeyde yerleşen aort ve pulmoner kapağın fibröz devamlılık gösteren yaprakçıkları oluşturur (24). Sağ ventrikül tarafından bakıldığında defektin arka-alt kenarını sıklıkla aort ve triküspit kapak arasındaki müküler yapı oluşturur. Bazende defekt daha büyük olur ve arka alt kenarı aort ve triküspit kapak arasındaki fibröz dokuya kadar uzanır. Bu şekilde bir defekt hem DCJA'dır, hem de perimembranözdür. Bu defektlerde subpulmoner infundibulumun yokluğu nedeniyle aort veya triküspit kapaklardan biri veya her ikisi interventriküler septuma overriding gösterebilir. Bu defektlerin her zaman suprakristal olarak adlandırılması doğru değildir. Çünkü krista supraventrikularis normal septumun bir belirticidir ve VSD'in varlığında sıklıkla yoktur ya da konum ve şekli değişmiştir (20).

**Tablo 1:** Ventriküler septum defektlerinin interventriküler septumdaki konum ve uzanımlarına göre sınıflaması

---

1-Perimembranöz defektler (atriyoventriküler ve arteryel kapakların arasındaki alanda)

- Sağ ventrikül inletine açılan defektler
- Sağ ventrikül outletine açılan defektler
- Trabeküler septuma uzanım gösterenler
- Konfluen defektler

2-Müküler defektler (Müküler ventriküler septumda sınırlı)

- İnletlerin arasına açılan
- Outletlerin arasına açılan
- Apikal bölgeye açılan

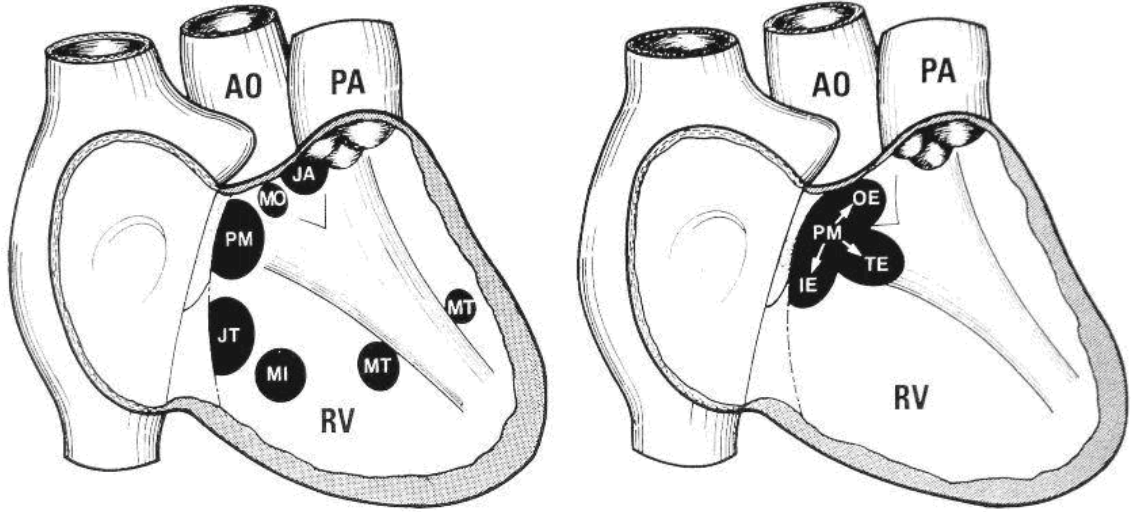
3-Doubly Comitted Juksta Arteryel defektler

- Arka alt kenarı müküler olanlar
- Arka alt kenarı perimembranöz olanlar

4-Jukstatriküspit nonmembranöz defektler (Soto sınıflaması)

---

Modifiye Soto sınıflamasında (25) ise inlet müsküler septumdan triküspit anulusa doğru uzanan ve membranöz septumla direk bağlantısı olmayan defektler jukstatrikspit nonmembranz olarak ifade edilmiş ve 4.grup olarak tabloya (Tablo 1) eklenmiştir (şekil 2).



**şekil 2:** Modifiye Soto sınıflamasında sağ ventrikül tarafından bakıldığında defektlerin ventriküler septumdaki konumları RV: sağ ventrikül TE: trabeküler uzanım

PM: perimembranöz, MO: müsküler outlet, JA: Jukstaarteryel, JT: Jukstatrikspit, MI: müsküler inlet, MT: müsküler trabeküler, OE: outlet uzanım, IE: inlet uzanım

### 2.1.7. Fizyopatoloji

Defektin boyutu hastanın fizyolojik durumunu belirleyen en önemli anatomik değişkendir. Fetal hayatta küçük bir lümen ve kalın bir media tabakasından oluşan pulmoner arterlerin media tabakası, doğumdan sonra hızla incelir ve pulmoner damar direnci normalde postnatal 7-10. günlerde erişkin seviyelere geriler.

Küçük VSD'ler iki ventrikül arasında akıma karşı büyük bir direnç oluştururlar. Bu hastaların küçük bir sol-sağ şantı, normal sağ kalp basınçları ve normal ventrikül çalışma karakterleri vardır. Pulmoner vasküler dirençte artışa eğilim yoktur ve tüm kardiyak siklus boyunca şant soldan sağa doğrudur. Bazı hastalarda izovolemik gevşeme döneminde şant dursa da hiçbir zaman sağdan sola doğru bir akım olmaz.

Orta büyüklükteki VSD'ler orta-büyük bir şanta izin verecek kadar büyük, akıma karşı bir direnç oluşturabilecek kadar küçüktürler. Çoğu hastada sol atriyum ve ventrikülde hacim yüklenmesi ve sol ventrikül hipertrofisi mevcuttur. Sağ ventrikül sistolik basıncı sistemik basıncın %70-80'ine ulaşana kadar intrakardiyak akımın karakteristiği küçük defektlerdeki gibidir. Sağ ventrikül basıncı bu sınırı aştığında

izovolemik gevşeme döneminde bir miktar kan sol ventriküle geçse de erken sistolde bu kanın çoğu sağ ventriküle geri döner (26). Bu hastalarda şant miktarının yeğane belirleyicisi sistemik ve pulmoner damar dirençleridir. Küçük bir sol-sağ şant vardır.

Yaşamın ilk aylarında pulmoner damar direncinin azalması ile sol-sağ şantın miktarı ve sol atriya'ya olan venöz dönüş belirgin derecede artar. Bu sol atriya ve sol ventrikülde genişleme ve sol ventrikül kas kitlesinde artışla sonuçlanır. Sol ventriküldeki belirgin hacim yüklenmesi nedeni ile bu hastalarda sıklıkla 2-8. haftalar arasında konjestif kalp yetersizliği gelişmektedir (27). Bebeklerin bu artmış hacim yüküne yanıtı Frank-Starling Etkisi, artmış sempatik aktivite ve miyokardiyal hipertrofidir. Bu son mekanizma hastanın kompanseasyon yeteneğini belirleyen en önemli etkidir. Artmış pulmoner kan akımının devam etmesi ile pulmoner damarlarda adventisyal kalınlaşma, medial hipertrofi ve intimal zedelenme oluşur ve zamanla pulmoner vasküler obstrüktif hastalık gelişir (28).

### **2.1.8. Klinik Belirti ve Bulgular**

Ventriküler septal defektli hastaların yakınmaları ve fizik muayene bulguları şantın, dolayısıyla defektin büyüklüğü ile yakından ilişkilidir (29). Bu defektler boyutlarına göre küçük, orta ve geniş defektler olarak sınıflandırılır. Küçük ve orta büyüklükteki VSD'lerde defekt soldan sağa olan şantı sınırlar. Ancak geniş defektlerde ventriküler seviyede akıma karşı herhangi bir direnç yoktur. Böyle defektlerde akımın belirleyicisi sistemik ve pulmoner damar direncidir. Küçük VSD'li hastalarda ya hiç belirti yoktur ya da belirtiler çok hafiftir. Rutin muayene için getirilen çocukta duyulan üfürüm ilk bulgu olabilir.

Sonuçta ventriküller arasındaki basınç farkı belirginleşir ve üfürüm işitilir. Üfürüm sıklıkla ilk 1-6. haftada, nadiren de pulmoner damar direncindeki hızlı düşüş nedeniyle yaşamın ilk günlerinde duyulabilir.

Küçük izole VSD'li hastalar genelde asemptomatiktir, küçük sol-sağ şantın akciğerlerin genişleyebilme kabiliyetini az da olsa değişiklik yapması sonucu hafif takipne gelişebilirse de bu durum normal beslenme, büyüme ve gelişmeyi etkilemez. Fizik muayene de çocuk sağlıklı görünür, hafif takipne dışında vital bulgular genelde normaldir, boyun venöz dolgunluğu, hepatomegali, ödem, akciğer dinleme bulguları yoktur. Palpasyonla prekordiyal aktivite normaldir. Sol alt sternal kenarda trill palpe

edilebilir ve 4-6. derece holosistolik bir üfürüm eşlik edebilir. Küçük defekler daha şiddetli bir üfürüm oluşturabilirler ancak bu her hasta için geçerli bir kural değildir. Müsküler defekti olan bebeklerde septal kas yapısının sistol sırasındaki kasılmasına bağlı olarak defekt kapanabilir ve daha yumuşak, midsistolde sonlanan bir üfürüm işitilebilir. Böyle bir üfürüm küçük müsküler bir defekte işaret eder ve %80 olasılıkla birinci yılda defektin küçülerek kapanması ile üfürüm kaybolur. Sternumun sol üst kenarında daha iyi işitilen bir üfürüm outlet yerleşimli bir defekti işaret eder.

Orta büyüklükte defekti olan bebeklerde pulmoner damar direncinin düşmesi ile birlikte sıklıkla ilk bir ayda belirtiler ortaya çıkar. Başlangıç belirtileri taşikardi, takipne ve artmış sempatik aktivite sonucu oluşan aşırı terlemedir. Sol-sağ şant arttıkça klinik daha da ağırlaşır, artık pulmoner uyum bozulmuş, solunum işi artmıştır. Takipne beslenme sırasında daha belirginleşir, solunum yükü artar, beslenme bozulur ve kilo alımı yavaşlar. Bu hastalarda akciğer enfeksiyonları sık görülür ve solunum problemlerini artırır. Orta büyüklükteki VSD'lerde fizik inceleme bulguları konjestif kalp yetersizliğinin derecesi ve sol-sağ şantın büyüklüğüne bağlıdır. Bu bebeklerin sıklıkla boyları normal vucut ağırlıkları yaşlarına göre geridir. Prekordiyal aktivite hem sağ parasternal hemde apikal alanlara yayılmıştır. Takipnenin yanında nadiren suprasternal ve interkostal çekilmeler vardır. Bazende ral duyulabilir. Holosistolik üfürüm genelde trill ile birlikte ve kabadır. Pulmoner kan akımı sistemik kan akımının iki katına ulaştığında apekte erken middiyastolik rumble ile birlikte S3 işitilebilir. S2 genelde geniş çifttir ve solunumla bir miktar değişebilir. Bu tür defektlerde de ciddi kalp yetersizliği gelişebilir (29).

Büyük defektlerin neden olacağı takipne, taşikardi, hepatomegali ve boyun venlerinde dolgunlukla karakterize konjestif kalp yetersizliği bazen çok ağır seyredebilir. Ciddi kalp yetersizliği olan bebeklerde bile periferik ödem olağan değildir. 4-6 ay veya daha uzun süre büyük sol-sağ şantı olan hastalarda sol ön toraks dışı doğru çıkıntı oluşturur. Pulmoner damar direnci düşük, pulmoner kan akımı fazla olan hastaların oskültasyon bulguları orta büyüklükte defekti olan hastalara benzer. Büyük defekti olan hastalarda pulmoner damar direncindeki artışla birlikte kalp yetersizliği bulguları geriler. Bu hastaların sık tekrarlayan akciğer enfeksiyonları ve kilo alamama yakınmaları vardır. Üfürümün şiddeti azalmış, ikinci kalp sesinin şiddeti artmıştır. Hastalar genelde çocukluk döneminde klinik olarak iyi durumdadırlar, egzersiz dışında

fazla bir yakınmaları yoktur, istirahatte hafif bir siyanoz olabilir ve çomak parmak gelişmiştir. Bu hastalarda fizik incelemede palpasyonla belirgin sağ ventrikül aktivitesi hissedilir, kısa bir sistolik üfürüm işitilebilir. Erken diyastolik dekresendo bir üfürüm aort veya pulmoner yetersizliği düşündürür. S2 sert ve sıklıkla tek olarak işitilir, apekte diyastolik rumble yoktur fakat sağ ventrikül orjinli bir S3 sol sternum kenarı boyunca işitilebilir.

## **2.1.9. Tanı**

### **2.1.9.1. Elektrokardiyografi**

Ventriküler septal defektin elektrokardiyografi bulguları özgül değildir ve hastanın hemodinamik durumu ile değişiklik gösterir. Küçük VSD'lerde elektrokardiyografi genelde normaldir, bazen V1'de rsR' görülebilir (30). Orta büyüklükteki defektlerde sağ prekordiyal derivasyonlarda derin S dalgası ya da V5-6'da hafif yüksek R dalgaları ile karakterize sol ventrikül hipertrofi bulguları görülebilir. Büyük sol-sağ şant varsa sol ventrikül hacim yükü artar ve II, III ve aVF'de derin Q, yüksek R, ST değişiklikleri ve V6'da derin Q dalgası görülebilir (31).

Artmış pulmoner kan akımı sol atriyum hipertrofisine neden olur ve özellikle V1'de belirgin negatif defleksiyon yapan bifazik P dalgası izlenir. Geniş defekti olan bebeklerde yaşa göre aks normal olup sinüs taşikardisiyle beraber biventriküler hipertrofi bulguları mevcut olabilir. Bu hastalarda V1'de rsR' ve V6'da büyük S dalgasının varlığı sistemik basınca yaklaşmış sağ ventrikül basıncını gösterir. Tek başına sağ ventrikül hipertrofisi ve sağ aks sapması bulgularının olması sağ ventrikül çıkış yolu darlığı ya da pulmoner vasküler hastalığı düşündürmelidir. Sol aks sapması atrioventriküler septum defektleri için tipik olsa da bazen diğer lokalizasyonlardaki defektlerde de görülebilir. Sol posterior fasikülün sol daldan erken ayrılmasının bu duruma neden olduğu düşünülmektedir. Bazende ventriküler septum anevrizması gelişimini takiben sol aks sapması görülebilir (19).

### **2.1.9.2. Telekardiyografi**

Küçük VSD'lerde kalp boyutu normaldir ve pulmoner damar izlerinde hafif bir belirginleşme dışında telekardiyografide başka bulgu olmayabilir. Daha büyük defektlerde şanttaki artış, sol ventrikül hacim yükünü arttırmış ve buna bağlı olarak da

sol ventrikül hipertrofisi gelişmiş, apeks sola ve aşağıya yer değiştirmiştir. Pulmoner kan akımındaki artış pulmoner konusta ve periferik pulmoner damarlarda belirginleşmeye neden olur. Sol atriyumdaki genişleme bazen sol ana bronşta hava sütununun yukarıya doğru yer değiştirmesi ile sonuçlanabilir. Sol atriyumdaki büyüme baryumlu yan özefagus grafileri ile de değerlendirilebilir (32). Yüksek akımlı geniş defektlerde kardiyomegali görülür. Sol ventrikül yan grafide retrosternal alanı doldurmuştur. Konjestif kalp yetersizliği akciğer ödemine, bu ise pulmoner kompliyansın azalmasına, solunum işinin artmasına, göğsün hiperekspansiyonuna ve diyaframın düzleşmesine yol açar. Pulmoner vasküler hastalık gelişmiş olan geniş defektli büyük çocuklarda kalp gölgesi normal ya da hafif büyümüş, ana pulmoner arter genişlemiş ve periferik pulmoner damarlanma azalmıştır. Eğer sağ ventrikül çıkış yolunda bir daralma varsa, hem santral hem de periferik pulmoner damar gölgeleri azalmıştır (20).

### 2.1.9.3. Ekokardiyografi

Ekokardiyografi, VSD'lerde en ideal tanı yöntemidir. 1970'li yılların ortalarında iki boyutlu EKO'nin kullanıma girmesi kalp hastalıklarının tanısını kolaylaştırmış, defektin yeri, tipi ve boyutu hakkında daha ayrıntılı bilgiler elde edilmesine olanak sağlamıştır (32).

Ekokardiyografik incelemeye başlamadan önce hastanın öyküsü ve yakınmaları hakkında bilgi sahibi olunmalı, fizik incelemesi, varsa elektrokardiyografi ve telekardiyografisi, EKO incelemesini yapacak olan kişi tarafından değerlendirilmelidir. İnceleme öncesi yapılan bir oskültasyonla incelemenin duyarlılığı ve özgüllüğü artar. İnceleme intra ve ekstra kardiyak yapıları içeren bir sistematik içinde yapılmalıdır. Septum tek bir düzlemde yer alan basit bir yapı olmadığı gibi tüm defektlerde sirküler değildir. Defektin en iyi görüntüleneceği en yüksek akım hızının elde edileceği kesit VSD'nin septumdaki konumuna göre değişeceğinden transtorasik ekokardiyografide septum, klasik ekokardiyografi pencereleri dışında farklı pencereler, modifiye kesitler ve açılarla da değerlendirilmelidir. Bu amaçla parasternal uzun ve kısa eksen, subkostal, apikal 4 ve 5. boşluk ve suprasternal kesitlerden bakılmalıdır. Sol parasternal uzun eksen kesitle aort kökü ve septumun daha ön kısımları değerlendirilebilir bu sayede büyük perimembranöz defektler, müküler outlet

defektler, trabeküler septumun ön kısmındaki defektler, aort kapak prolapsusu ve septum anevrizmaları görüntülenebilir. Parasternal kısa eksen görüntülerde semilunar kapaklar seviyesinde aort kökü ve sağ ventrikül çıkış yolu arasında saat 01 hizasında outlet septum defekti, saat 11-12 hizasında subaortik defektler görüntülenebilir. İnlet defektler apikal 4. boşluk ve subkostal kesitlerde daha iyi değerlendirilirken müsküler trabeküler defektler mümkün olan tüm kesitlerde incelenmelidir.

Ventriküler septal defektin septumdaki lokalizasyonu belirlendikten sonra defektin büyüklüğü ölçülmelidir. Defektin çapı diyastolde ölçülmeli, farklı kesitlerde elde edilen değerlerin en büyüğü esas alınmalıdır. En geniş çapın elde edildiği kesit defektin şekline septumdaki yeri ve uzanımına göre değişir. Aort çapına göre yapılan sınıflamada aort çapının 1/3'ü ve altındaki değerler küçük defekt, aort çapının 1/2'si ile birlikte sol atrium ile sol ventrikülde hacim yüklenmesi bulguları orta defekt, aort çapının 1/2'si ve üstü değerler büyük defekt olarak değerlendirilir. Vücut yüzey alanına göre yapılan sınıflamada defektin yaşa göre küçük ya da büyük olarak ifade edilebilmesi için gereken sınırlar tabloda verilmiştir (Tablo 2) (33,34).

**Tablo 2:** Defekt çapının vücut yüzey alanına olan oranı ve hasta yaşı ile VSD boyutunun değerlendirilmesi

Yaş	Küçük	Yaş	Büyük
<1 yaş	10 mm/m <sup>2</sup>	<3 ay	20 mm/m <sup>2</sup>
1-6 yaş	9 mm/m <sup>2</sup>	3 ay-6 yaş	16 mm/m <sup>2</sup>
>6 yaş	5 mm/m <sup>2</sup>	>6 yaş	9 mm/m <sup>2</sup>

Yalnızca Doppler ile saptanan 2 mm'den küçük, iğne ucu büyüklüğündeki defektler çok küçük VSD olarak bilinir. Renkli akım Doppler EKO ile ölçülen akım hızından, sağ ventrikül basıncı, pulmoner arter basıncı ve interventriküler basınç farkı hesaplanarak sol-sağ şantın miktarı kalitatif olarak değerlendirilebilir. “Basınç farkı=4xV<sup>2</sup>” olarak bilinen modifiye Bernoulli eşitliği ile defekten geçen maksimum sistolik akım hızından ventriküller arası sistolik basınç farkı hesaplanır (35,36). Hesaplanan bu değer sistolik kan basıncından (aort stenozu veya subaortik darlık yoksa sistolik kan basıncı sol ventrikül basıncına eşit kabul edilir) çıkarılması ile tahmini sağ ventrikül basıncı elde edilir. Sağ ventrikül çıkış yolu darlığının yokluğunda

sağ ventrikül basıncı pulmoner arter basıncını yansıtır. Sistemik ve pulmoner akımların oranı, arteriyel ve atriyoventriküler kapaklardaki akım hızları ve kapak alanlarının kullanıldığı formüllerle dolaylı olarak hesaplanabilir.

Transözofageal EKO, adölesan ve erişkinler gibi prekordiyal EKO pencereleri yetersiz olan hastalarda oldukça yararlıdır (19). Defektin cerrahi kapatılması sırasında rezidü VSD veya başka müsküler bir VSD'in olup olmadığı transözofageal EKO ile değerlendirilebilir. Septum defektlerinin değerlendirilmesinde tek başına değil, transtorasik ekokardiyografiye ilave bir yöntem olarak kullanılmalıdır.

Transözofageal EKO'de kullanılan transduser frekanslarının yüksek olması ve çoğu planda ultrason dalgalarının akıma paralel düşürülememesi nedeniyle Doppler değerlendirmeleri transtorasik ekokardiyografi kadar iyi değildir. Günümüzde gelişmiş EKO teknolojisi ile bazı VSD'lerin tanısı henüz intrauterin dönemdeyken konulabilmektedir. İntrauterin dönemde sağ ve sol ventrikül basınçları eşit olduğundan fetal EKO Doppler incelemede türbülant akım görülmez bu nedenle küçük VSD'lerin saptanması zordur(34).

Son yıllarda geliştirilen üç boyutlu EKO perimembranöz defektlerin şeklini, aort ve triküspit kapaklarla olan ilişkisini daha iyi tanımlayabilmekte ve transkateter kapatma için iki boyutlu ekokardiyografiye göre daha değerli veriler sunmaktadır. Benzer şekilde müsküler defektlerin morfolojisini tanımlamada da üç boyutlu EKO, transtorasik ve transözofageal EKO'ya göre üstündür (37,38).

Sonuçta EKO, VSD'lerin hemodinamik özelliklerinin değerlendirilmesi ve izleminde güvenilir bir tanı yöntemidir ve kalp kateterizasyonu gereksinimini azaltmıştır (34).

#### **2.1.9.4. Kalp Kateterizasyonu**

Kateterizasyon; defektlerin sayısını saptamak, şantın boyutunu, pulmoner damar direncini, her iki ventrikülün iş yükünü değerlendirmek, eşlik eden başka lezyonları belirlemek, cerraha anatomik yapı ve defektin lokalizasyonu hakkında bilgi vermek ve transkateter kapatma için yapılır. Ekokardiyografi ve Doppler tekniklerindeki gelişmeler, izole defekli olan pek çok hastada kalp kateterizasyonu ihtiyacını ortadan kaldırmıştır. Kalp kateterizasyonu büyük sol-sağ şantın belirtilerini veya kalp yetersizliği bulguları gösteren VSD şüphesi yüksek olan hastalarda, küçük ya

da orta büyüklükte şantı olup artmış pulmoner damar direncini bulgusu olan hastaların tanısında yararlı olmaktadır (32). İlk olarak sağ kalp kateterizasyonu yapılır. Pulmoner ve sistemik kan akımlarını tahmin etmek için pulmoner arter, sağ kalp ve femoral arterden saturasyon ve basınç kayıtları alınır. Bunlara pulmoner wedge ya da sol atriyum basıncının eklenmesi ile pulmoner ve sistemik damar dirençleri hesaplanabilir. Bebeklerde sıklıkla patent foramen ovale yoluyla, bazen de patent duktus arteriosus varlığında retrograd aortografiyle sol kalp kateterize edilebilir. Sol ventrikül sineanjiokardiyogramında uzun eksen oblik görüntüler VSD'in sayı ve lokalizasyonunun tesbitine ve sol ventrikül çıkış yolununun iyi bir şekilde görüntülenebilmesine olanak sağlar. Bunun dışında dört boşluk ve hepatoklavikuler görüntüler de alınabilir. Ayrıca aort yetersizliği, aort kapağının yapısı, duktus ve koarktasyon yönünden aort kökü anjiyografisi yapılır. Eğer pulmoner hipertansiyon saptandı ise pulmoner damar yatağının oksijen ve diğer farmakolojik ajanlara (nitrik oksit, prostoglandin) basınç ve direnç yanıtı değerlendirilebilir.

#### **2.1.10. Medikal Tedavi**

Küçük defekti olan asemptomatik çocukların uzun dönem sonuçları mükemmeldir ve bunlar medikal ya da cerrahi tedaviye gerek duymazlar. Orta ya da büyük defekti olan bir hastada, artmış pulmoner kan akımının ve sağ ventrikül hacim yüklenmesinin klinik bulgularını içeren yetmezlik tablosu varlığında farmakolojik tedavi gereklidir. Bu amaçla furosemid kullanılır. Uzun süre kullanıldığında elektrolit bozukluğu, hiperkalsiüri ve renal hasara neden olabilir. Beraberinde kullanılacak olan spiranolakton potasyum kaybını azaltacaktır. Sistemik ard yükü azaltmak amacıyla kaptopril kullanılabilir. Kaptopril, pulmoner damar direncini azaltmaksızın pulmoner kan akımını ve sistemik direnci azaltır, sistemik kan akımını artırır. Kaptopril veya enalapril gibi anticonverting enzim inhibitörlerini kullanan hastalarda serum potasyum düzeyinde yükselme olabilir ve bu nedenle spiranolakton ile beraber kullanılmamalıdır (35).

Geleneksel bir tedavi olarak kullanılan digoksinin bulguları azalttığı ve hemodinamik değerleri iyileştirdiği gösterilmiştir. Diüretik ve ard yükü azaltan ilaçlara rağmen bulgularda yeterli düzelmeye olmayan hastalarda digoksin tedavisi eklenmelidir (39). Büyük defekti olan ağır konjestif kalp yetmezliğindeki hastalar hastaneye

yatırılarak tedavi edilmelidir. Sıvı kısıtlaması yapılmalı, fizik aktivite en aza indirilmelidir. Bu amaçla düşük doz morfin ile sedasyon yapılabilir. Furosemid ve digoksin başlanmalı, bakteriyel pnömoninin olmadığından emin olana, kültür sonuçları çıkana kadar geniş spektrumlu antibiyotikler tedaviye eklenmelidir. Bu hastalara oksijen desteği gerekebilir ancak oksijen iyi bir pulmoner vazodilatatördür ve sol-sağ şantı artırabilir. Bu nedenle hipoksinin düzeltilmesinde oksijen dikkatle kullanılmalıdır. Solunum sıkıntısı devam eden hastalar entübe edilmeli ve pozitif basınçlı mekanik ventilasyonla solunum yükü azaltılmalıdır (19).

### **2.1.11. Hasta Yönetimi ve Cerrahi**

Konjestif kalp yetersizliği gelişen hastalara diüretik ve ard yükü düşürücü farmakolojik tedavi verilir. Farmakolojik tedaviye rağmen semptomatik kalp yetersizliğinin devam ettiği hastalarda cerrahi endikedir. Bununla birlikte hastaların çoğu medikal tedaviye iyi yanıt verir, Bu hastalarda EKO ile saptanan sağ ventrikül basıncı hasta 6 aylık olana kadar sol ventrikül basıncının yarısının altına düşmezse hastalar geriye dönüşümsüz pulmoner vasküler hastalık gelişme riski ile karşıkarşıya kalır ve cerrahi kapatma endikasyonu doğar. Farmakolojik tedaviye cevap veren, 6 ay ile 1 yaş arasında olan ve pulmoner hipertansiyonu devam eden hastalarda defekt kapatılmalıdır. Geniş sol-sağ şantı olan ve bir yaşından büyük hastaların defekti ilk fırsatta kapatılmalıdır (20). Tüm hasta grublarında cerrahi için direkt kontrendikasyon oluşturan tek durum ciddi pulmoner vasküler hastalığın varlığıdır. Erken bebeklik döneminde cerrahi müdahale gerektiğinde iki yoldan biri tercih edilir. Birinci seçenek önce palyatif bir operasyon olan pulmoner arter bantlama (PAB) işlemi ve daha sonra ileri yıllarda defektin kapatılmasını içeren ikinci bir cerrahinin yapılmasıdır. İkinci seçenek ise direkt erken dönemde defektin kapatılmasıdır. PAB güvenilir ve etkili bir palyatif prosedürdür, fakat seçenekler değerlendirilirken sonradan yapılacak olan düzeltici operasyonun da riski dikkate alınmalı ve kümülatif risk hesaplanmalıdır.

Günümüzde PAB multipl VSD'li hastalarda ve inlet defekti olup direkt kapatmanın atrioventriküler ileti sistemine hasar verme riski yüksek olan küçük infantlarda tercih edilen bir yöntemdir ve 6 aydan büyük hastalarda çok nadiren tercih edilmektedir (40). Deneyimli merkezlerde yaşamın ilk 6 ayında yapılan VSD kapatma cerrahisinde mortalite %0'a yaklaşmıştır ve bu iki basamaklı yaklaşıma göre belirgin

üstündür (20). Ventriküler septal defekt kapatılması konjenital kalp cerrahisinin en sık uygulanan işlemlerindendir. Ancak VSD'in kapatılmasında amaç, yalnız iki ventrikülü ayırmak değil, aynı zamanda kalbin geometrisini bozmamak ve myokardiyal hasarlanmayı en aza indirmektir.

Günümüzde VSD'lerin seçilmiş vakalarda kateter yolu ile kapatılması giderek yaygınlaşmaktadır. Bu amaçla kullanılan cihaz, Amplatzer cihazıdır. Transkateter kapatma yöntemi apikal ve ön müsküler ventriküler septuma yerleşen ve cerrahi kapatmada yapıldığı takdirde muhtemelen ventrikülotomi insizyonu gerektirecek defektlerin kapatılmasında en iyi seçenek olarak görülmektedir. Cerrahi sonrası hemodinamik olarak anlamlı rezidü VSD'lerin onarımında da transkateter kapatma tercih edilen bir yöntemdir. Perimembranöz defektlerin transkateter kapatılması zordur ve daha yüksek oranda rezidü VSD ve kapak yetmezlikleri gelişmektedir (41-43).

## **2.1.12. Ventriküler Septum Defektlerinin Doğal Seyri**

### **2.1.12.1. Spontan Kapanma**

Ventriküler septal defektlerin doğal seyrinde en sık görülen değişiklik defektin boyutunun küçülmesi ve kapanmasıdır. Spontan kapanma oranları seçilen hasta grubuna göre anlamlı olarak değişmektedir. En doğru bilgi çok sayıda hastanın doğumdan erişkin döneme kadar düzenli aralıklarla izlemi ile elde edilecektir. Moe ve Guntheroth yaşamın ilk yılında küçük defektlerin spontan kapanma oranlarını %75-80 olarak bulmuşlar (44). Spontan kapanma en sık müsküler defektlerde görülürken subarteryel defektlerde beklenen bir durum değildir. Spontan kapanma defektin yerleşim yerine bağlı olarak dört farklı mekanizma ile gelişebilir (Tablo 3).

**Tablo 3:** Ventriküler septum defektlerinde spontan kapanma mekanizmaları

Perimembranöz:	Triküspit septal yaprakçığının kenarına yapışması
Küçük müsküler:	Fibröz doku tıkaçı ile kapanma
Müsküler trabeküler:	Sağ ventrikül septal trabekülasyonunun hipertrofisi
Subaortik:	Prolabe aort kapağının defekti kapatması

### **2.1.12.2. Sol Ventrikül Sağ Atriyal Şant**

Sol ventrikülden sağ atriya olan şant perimembranöz defektlerin kapanması sırasında defekt tarafındaki triküspit kapağın perforasyonu, yapışıklığı veya defekt kenarına yapışan liflet dokusu tarafından kapağın ikiye ayrılması sonucu gelişebilir. Sol ventrikülden sağ atriya şant daha az sıklıkla triküspit septal yaprakcığının hipoplazisi ya da klefi ile birlikte olabilir.

### **2.1.12.3. Sol Ventrikül Çıkış Yolu Darlığı**

Ventriküler septal defektlere sol ventrikül çıkış yolu darlığı eşlik ettiğinde darlığı oluşturan yapı müsküler veya fibromüskülerdir ve sıklıkla defektin yukarısına yerleşmiştir. Oluşan darlıkların üç nedeni vardır. Bunlar; outlet ya da infundibuler septumun arkaya doğru malalignmenti, septumun deviyasyonu ya da anteroseptal katlantı ve aortun sol-koroner kapakçığı ile mitral ön kapakçık arasından sol ventrikülün anterolateraline uzanan kas bantlarıdır. Normal kalplerin %40'ında bulunan bu kas bantları VSD ile birlikte olduğunda daha belirgindir ve sol ventrikül inlet ya da outletinde darlığa neden olabilir. Subaortik darlık ilerleyici bir lezyon olduğu için sıklıkla cerrahi müdahale gerektirir. Pulmoner arter bantlama sonrasında subaortik darlıkların şiddetinde artış olduğu raporlanmıştır. Discrete subaortik membranlar genelde defektin yukarısında yerleşmiş sıklıkla fibröz, daha nadiren fibromüsküler katlantı veya kabartılardır. Fibröz ridge ya da diyaframa bağlı discrete darlıklar perimembranöz defektlerin küçülmesi veya spontan kapanması ile sıklıkla birliktedirler. Özellikle sağ ventrikülden anormal kas bantlarının varlığında spontan kapanma daha da sık görülür.

### **2.1.12.4. Sağ Ventrikül Çıkış Yolu Darlığı**

Özellikle sağ ventrikül hipertrofinin geliştiği ve defektin öne doğru malalignment gösterdiği geniş defektli olan olgularda sıktır. Bazende sağ ventrikül anormal kas bantları ve prolabe aort kapağı sağ ventrikül çıkış yolunu daraltabilir.

### **2.1.12.5. Pulmoner Vasküler Obstruktif Hastalık**

Defekten geçen artmış kan akımı sonucunda zamanla pulmoner arter basıncı sistemik basınca yaklaşır ve pulmoner arterlerde geri dönüşümsüz lezyonlar oluşmaya

başlar. Bunlar küçük pulmoner arterlerde mediyal hipertrofi, duvar kalınlığında artma, intimal fibrozis ve trombüs gelişimi ile küçük pulmoner arterlerin sayısında azalmadır. Pulmoner damar direncinin daha da artması ile soldan sağa olan şant azalır. Bazen sağ ventrikül çıkımındaki kas bantları çıkış yolunu daraltır. Darlık sol-sağ şantı sınırlayıp pulmoner vasküler obstrüktif hastalık gelişmesini önleyebilir. Bu durum pulmoner bantlama cerrahisi içinde ilham kaynağı olmuştur.

### **2.1.12.6. Aort Kapak Prolapsusu ve Aort Yetersizliği**

Ventriküler septal defektli hastalarda aort kapak prolapsusu ve aort yetmezliğinin gelişme mekanizması sistolün başlamasıyla defekttten geçen kanın defekt kenarlarında oluşturduğu negatif basıncın etkisi (Venturi etkisi) ile anatomik destekten yoksun olan aortik kapakçık (sıklıkla sağ koroner kapakçık) ve sinüs, sağ ventriküle doğru yönelir. Orta veya şiddetli prolapsus olan vakalarda bu ekokardiyografi ya da anjiokardiyografi ile gösterilebilir. Aşırı elonge olan bir sinüsü VSD'den geçen akım sınırlayabilir ve defekt, prolabe kapakçık tarafından kısmen veya tamamen kapatılabilir. Diyastolde artan intraaortik basıncın etkisi ile normalde her üç aortik kapakçığın serbest kenarı birleşir ve kapak kapanır. Aort kapak prolapsusunun varlığında ise prolabe kapakçığın serbest kenarı diğer iki kapakçığın serbest kenarından aşağıda kalır ve aortik basıncın etkisiyle sarkarak diğer kapakçıklarında aşağıya çeker. Sonuçta diğer iki kapakçığında fonksiyonunu bozar ve aort yetersizliğine neden olur (45,46).

## **2.2. Rho/Rho-Kinaz Sinyalizasyon Yolağı**

### **2.2.1. Rho Proteinleri**

Rho proteinleri, monomerik GTPazların Ras süperfamilyasının Rho subfamilyası üyeleridir. Rho geni ilk olarak 1985'de bir deniz salyangozu olan *Aplysia*'dan bir Ras homoloğu olarak klonlanmış ve bunu kısa süre sonra üç insan homoloğu RhoA, RhoB, RhoC'nin bulunması izlemiştir (47). Küçük molekül ağırlıklı GTP bağlayıcı proteinler, 20-40 kDa'luk monomerik G proteinleridir. Memeli Rho ailesi en az 10 farklı üyeden oluşur. Bunlar: Rho izoformları olan RhoA, RhoB, RhoC, RhoD, RhoE, RhoG; Rac izoformları olan Rac1, Rac2; Cdc42 izoformu ve TC10 izoformudur (48).

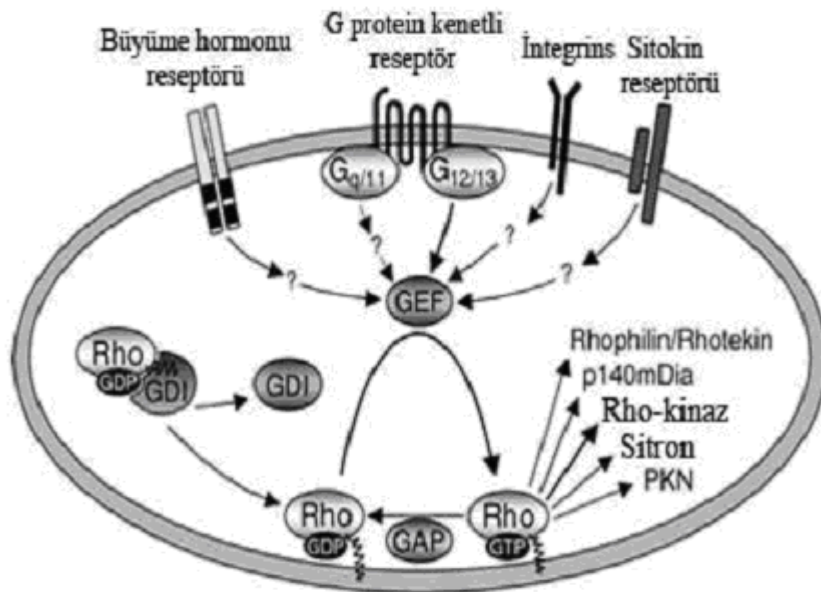
RhoA, RhoB ve RhoC'nin efektör bölgeleri aynı aminoasid dizilimine

sahiptirler ve bu GTPaz proteinlerin hücrel fonksiyonları benzerdir. Rho'nun açıklanan çoğu fonksiyonu RhoA ile yapılan çalışmalara dayanmaktadır (49). RhoA, vücutta en fazla bulunan ve en çok çalışılan Rho proteini alt tipidir (50).

Küçük G proteinleri olan Rho alt tipleri, GDP, GTP, GTPaz aktivitesi ve efektörleri ile etkileşmekten sorumlu aminoasit dizilimine sahiptirler. Sentezlendikten sonra lipidler ile posttranslasyonel değişikliklere gereksinim duyarlar. Bu lipid yapıları genellikle, palmitoil, farnesil ve geranilgeranil'dir. Küçük G proteinlerinin lipid modifikasyonu, bunların aktivitelerini yerine getirebilmeleri için gereklidir (51). Rho'nun aktive olabilmesi için geranilgeranillenmiş C-terminal ucu ile membrana tutunması gerekir. Guanin nükleotid değişiminden sonra Rho; Rho-kinaz (ROCK), protein kinaz N, rhotekin, citron, p140 mDia ve fosfolipaz D gibi alt efektörlerini aktive eder (52). Küçük G proteinlerinin GDP-bağlı inaktif ve GTP-bağlı aktif olmak üzere birbirine dönüşebilen iki formu vardır. Bu dönüşüm üç grup protein tarafından düzenlenir (Şekil 3).

Bunlar:

- 1- GTPaz aktive edici proteinler (GAPs, Rho'nun intrinsik GTPaz aktivitesini arttırarak GTP bağlı Rho'nun inaktivasyonunu kolaylaştırır).
- 2- GTPaz ayırıcı inhibitörler (GDIs, bazı Rho ailesi GTPazlarının membrana bağlanmalarını inhibe eder. Nükleotid ayrılmasını ve böylece aktivasyonunu önler).
- 3- Guanin nükleotid değiştirici faktör (GEF, inaktif GDP-Rho'yu aktif GTP Rho'ya dönüştürür) (53,54).



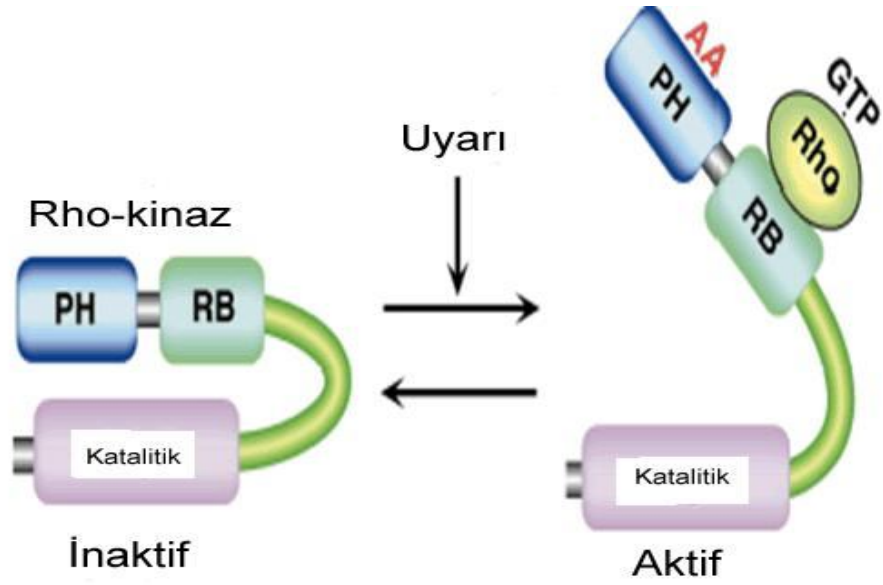
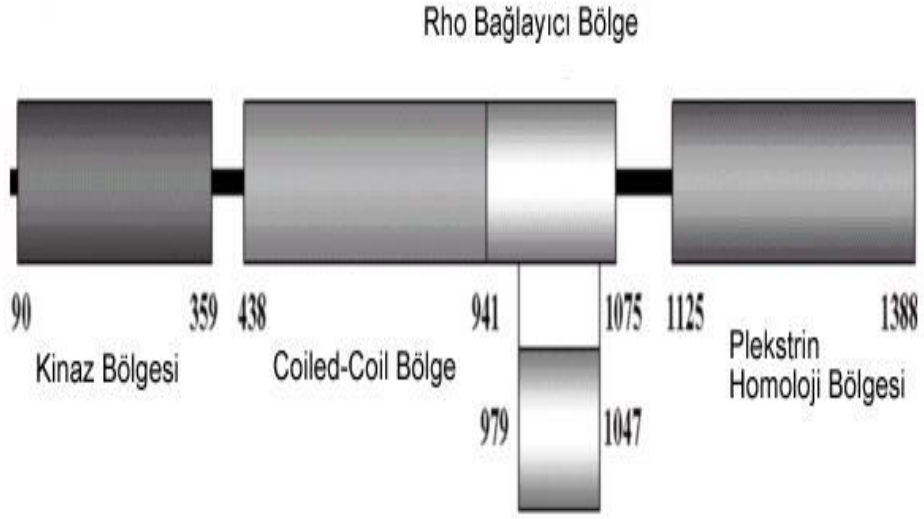
**Şekil 3:** Rho aktivitesinin düzenlenmesi. PKN; protein kinaz N

Rho/Rho-kinaz sinyal yolağının, trombosit kümeleşmesi, lenfosit ve fibroblast adhezyonu, aktin hücre iskeleti reorganizasyonu, hücre hareketi ve göçü, düz kas kasılması, stres liflerinin oluşumu, hücrenin farklılaşması, çoğalması ve bölünmesi, aksonal uzama ve tümör metastazı gibi hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli görevleri olduğunu biliyoruz (3-5).

### 2.2.2. Rho-kinaz

Rho-kinaz yaklaşık 1388 aminoasit dizisinden oluşur. Bu dizide amino ve karboksil uçları bulunmaktadır. Rho-kinaz, aynı zamanda ROCK $\alpha$  veya ROCK2 olarak isimlendirilir (7). ROCK $\beta$  (veya ROCK1) Rho-kinazın bir izoformudur (8). İnsanda ROCK1 ve ROCK2 genleri sırasıyla 18. kromozom (18q11.1) ve 2. kromozomda (2p24) yer almaktadır (9). ROCK1'in akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve testiste ROCK2'nin de beyin ve kalpte daha fazla ekprese edildiği bildirilmiştir. Rho-kinaz enziminin hemen hemen her dokuda varlığı gösterilmiştir (10).

Rho kinazın N terminalinde kinaz bölgesi vardır. Orta bölgesinde kuramsal olarak kangal gibi kıvrılmış bölge ve C-terminal bölgesinde plekstrin homoloji bölgesi bulunur (Şekil 4). Aktive olmuş Rho, Rho-kinazın kangal gibi kıvrılmış bölgesinin C-terminal parçasıyla etkileşerek kinaz bölgesini aktive eder (55). Bu olay sonucu aktive olan Rho-kinaz (Tablo 4) substratları fosforile ederek çeşitli hücre içi olaylara katkıda bulunur (56,57).



**Şekil 4:** Rho-kinaz ve düzenlenmesi. PH; plekstrin homoloji bölgesi, RB; Rho bağlayıcı AA; araşidonik asit, GTP-Rho; Rho'nun aktif formu

**Tablo 4:** Rho-kinaz substratları

Substratlar	Fonksiyonları	Hücresel Yanıtlar
Miyozin fosfatatız miyozin Bağlayıcı alt ünitesi	Miyozin fosfatazın inhibisyonu	Düz kas kasılmasında Ca <sup>2+</sup> duyarlaşması
Miyozin hafif zinciri	Miyozinin F-aktine bağlanmasında artış	Stres lifleri oluşumu, fokal adezyon oluşumu, nörit retraksiyonu, hücre kasılması, hücre motilitesi
CPI-17 proteini	Miyozin fosfatazın naktive edici aktivitesinin aktivasyonu	Düz kas kasılmasında Ca <sup>2+</sup> Duyarlaşması
Kalponin	F-aktine bağlanmada azalma	
Ezrin Radiksin Moesin(ERM)	Ezrin Radiksin Moesin Aktivasyonu	Mikrovillus oluşumu
Addusin	F-aktine bağlanmada artış Flamentlerin dağılımı	Membranal olaylar (ruffling), hücre motilitesi
İntermediyer flamentler	Değiştirici aktivitenin aktivasyonu	Flamentlerin sitokinez için ayrılması
Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> değiştiricisi		Stres lifleri oluşumu
LIM kinaz	Kinaz aktivitesinde artış	Kofilinin fosforilasyonu
CRMP-2 ZİPK(zipper interacting kinaz)	Miyozin fosfatazın inhibisyonu	Büyüme konisi kollapsı Düz kas kasılmasında Ca <sup>2+</sup> duyarlaşması

Vasküler düz kas hücrelerinin agonistle indüklenen kasılmasında, Rho-kinazın bir substratı olan miyozin hafif zincirinin fosforilasyon derecesi kasılma gücünün belirleyicisidir. Miyozin hafif zincirinin fosforilasyonun miktarı Ca<sup>2+</sup>/kalmodulin bağımlı miyozin hafif zincir kinaz ve miyozin fosfataz arasındaki dengeye bağlıdır (56).

Miyozin fosfataz üç alt üiteden oluşur:

1. Miyozin bağlayan alt ünite (miyozin fosfataz target olarak da bilinir),
2. 37 kDA tip 1 fosfataz katalitik alt ünite,
3. 20 kDA katalitik olmayan alt ünite,

Miyozin fosfataz, miyozin bağlayan alt ünite üzerinden fosforillenmiş miyozin hafif zincirine bağlanır ve onu defosforile eder. Rhokinaz myosin bağlayan alt üniteyi fosforile ederek miyozin fosfatayı inhibe eder. Bu enzim myosin bağlayan alt üniteyi

çeşitli bölgelerinden fosforile eder bunlardan treonin 696 ve treonin 853 major olan bölgelerdir ve treonin 853'ü treonin 696'dan üç kat daha fazla fosforile eder. Rho kinaz aynı zamanda miyozin hafif zincirini de fosforile ederek kasılma işlemine katkıda bulunur (58).

### **2.2.3. Kardiyovasküler Doku ile Rhokinaz Sinyalizasyon Yolağı İlişkisi**

Trombin, anjiyotensin II, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve serotonin gibi çeşitli vazoaaktif ajanlar Rho/Rho-kinaz sinyal yolağını aktive ederler. Fasudil ile uzun süre tedavi sonucunda vasküler düz kas hücresinin kasılabilirliğini, fibroblast proliferasyon ve migrasyonunu, inflamatuvar hücrelerin vasküler duvara göçü gibi kritik basamakların inhibe edilebileceği düşünülmektedir. Rho-kinaz ile aracılık edilen sinyal yolağı vasküler hastalıkların patolojisinde büyük önem taşır (59). Nitrik oksit (NO), siklik guanil mono fosfat (cGMP) bağımlı protein kinaz aracılığıyla damar düz kasında gevşeme oluşturur. Yapılan bir çalışmada rekombinat cGMP ile cGMP-bağımlı protein kinazın RhoA'yı fosforilleyerek inhibe ettiği gösterilmiştir. Sıçan aortasında yapılan bu çalışmada, bir Rho-kinaz inhibitörü olan Y-27632'nin endotelyumlu dokularda fenilefrin ile oluşturulan kasılmaları endotelyumsuz olanlara göre nispeten daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca sodyum nitroprusiyatın fenilefrinle indüklenen RhoA translokasyonunu geri çevirdiği gösterilmiştir. Buna karşın, endoteli sağlam aorta ringlerinde, nitrik oksid sentaz (NOS) inhibitörleri ve guanilat siklaz inhibitörleri varlığında, fenilefrin kasılmalarının Y-27632'ye verdiği gevşeme yanıtları kütleşmiştir (59). Bütün bu bulgular, intakt sıçan aortasında, NO'in Rho-kinaz'ın kastırıcı etkinliği üzerinde inhibitör bir etkisi olduğunu telkin etmektedir. Sıcaklık düşürülerek oluşturulan mikrotübül depolimerizasyonunun, Rho-kinaz aktivasyonu aracılığıyla sıçan aortasında kasılmaları arttırdığı, hücrel mikrotübül ağının veziküler transport, sinyal iletimi ve hücre bölünmesi gibi çeşitli hücrel olaylarda görev aldığı bildirilmiştir (60).

RhoA ve mitojenle aktive olan kinaz gibi intrasellüler sinyalizasyon yollarının, sfingozin 1-fosfat ile aktive edildiği bulunmuştur. Sfingozin 1-fosfat, aktive olmuş trombositlerden salıverilen bir lipiddir. Vasküler düz kas hücre kültürlerinde sfingozin 1-fosfat sinyalinin, hücre proliferasyonunu uyardığı gösterilmiştir (61).

Tavşan baziler arterinde yapılan bir çalışmada, Rho-kinaz enziminin selektif bir inhibitörü olan Y-27632 endotelin-1 ile indüklenen kasılmaları inhibe etmiştir (59). Ek olarak Rho/Rho-kinaz yolağı sığır serebral arterindeki  $Ca^{2+}$  duyarlılığından da sorumludur (62). Rho kinaz enzimini ve kısmen protein kinazı da inhibe eden fasudilin *invivo* olarak hayvanlara verildiğinde vazodilatör etki oluşturduğu gösterilmiştir. Bu ajan günümüzde serebral vazospazmın tedavisinde denenmektedir (62).

Aortokoroner ya da infrainguinal bypass ameliyatı yapılan hastalardan alınan safen veni, *in vitro* ortamda arteryel basınç koşullarında perfüze edildiğinde fenilefrin ve serotonine duyarlılığın arttığı görülmüştür. Bu duyarlılık Y-27632 ile önlenebilmiştir (63).

Trombinin insan umbilikal veninde hızlı ve geçici bir RhoA aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Buna artmış miyozin hafif zincirinin fosforilasyonu, F-aktin stres lifleri oluşumu ve artan permeabilite eşlik etmiştir. Y-27632 ile Rho kinazın inhibisyonu, bütün bu etkileri belirgin olarak azaltmıştır (64).

Bir bakteri toksini olan lipopolisakkaritin kastırıcı reseptörlerin sinyalizasyon yolağında bir etki yapacağı düşünülmüş bu toksinle muamele edilen sıçanların mezenter arterinde ROCK2'nin kontrole göre daha fazla eksprese edildiği ve bu artışın endotelin-1 ile indüklenen vasokonstriksiyonun güçlenmesine aracılık edebileceği bildirilmiştir (65).

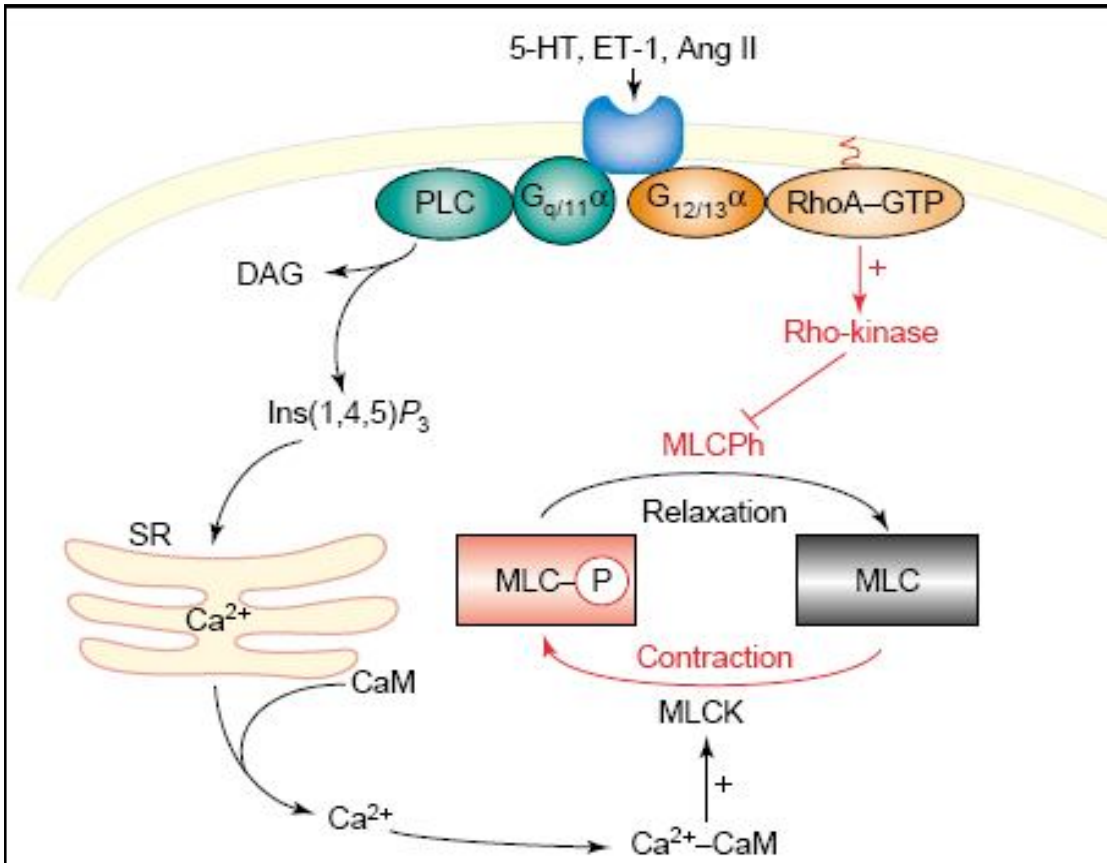
Koroner bypass ameliyatı yapılan 15 hastadan izole edilen endoteli uzaklaştırılmış internal torasik arterlerde serotonin ve histamin ile oluşturulan kasılmalar hidrosifasudil ile belirgin olarak inhibe edilmiştir. Serotoninle indüklenen kasılmalar süresince miyozin fosfatazın miyozin bağlayıcı alt ünitesi ve C-kinaz ile aktive olan fosfataz inhibitörü fosforilasyonu belirgin olarak artmıştır. Hidrosifasudil, miyozin bağlayıcı alt ünite fosforilasyonunu inhibe ederken C-kinaz ile aktive olan fosfataz inhibitörü fosforilasyonunu inhibe etmemiştir (66).

Vasküler düz kas hücrelerinin media tabakasından subendotelyal bölgeye göçü, balon anjiyoplasti ve ateroskleroz sonucu gelişen intimal kalınlaşmada önemli rol oynar. Aktive olmuş trombosit ve hücrelerin bir ürünü olan lizofosfatidik asid, düz kas hücre büyümesine ve çeşitli hücrelerin göçüne neden olur. Lizofosfatidik asid ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü aracılığıyla oluşan düz kas göçü Rho/Rho-kinaz aracılığıyla olmaktadır. Lizofosfatidik asid aracılı düz kas göçü miyozin hafif zincir

fosforilasyonu ile bağlantılı iken trombosit kaynaklı düz kas göçü miyozin hafif zincir fosforilasyonundan bağımsız olarak bulunmuştur (67).

Rho/Rho-kinaz yolağı bozuklukları sıklıkla ölüme neden olan hipertansiyon, vasküler spazm ve arteriyosklerozun patolojisinde yer almaktadır. Rho-kinaz aktivitesini spesifik olarak inhibe eden propların kullanılması bu patolojik durumların tedavisinde yararlı olacaktır. İlk olarak,  $Ca^{2+}$ -bağımlı kastırıcı mekanizmaları hedef alan  $Ca^{2+}$  kanal blokerlerine ek olarak, özgül Rho-kinaz inhibitörleri ile Rho/Rho-kinaz yolağının modüle edilmesi düz kası gevşetmek için gelişmiş bir metod olabilir. İkincisi, birçok iskemik hastalık patogenezi ve vasküler bozuklukla bağlantılı olan ateroskleroz geri dönüşümlüdür ve Rho-kinaz inhibisyonu ile tedavi edilebilir (47,68).

Vazospastik anjina, iskemik inme ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda Rho-kinazın önemli rol oynadığı gösterilmiştir (68). Rho-kinaz, miyozin fosfataz inaktivasyonu ve direkt miyozin hafif zincir fosforilasyonu ile kalsiyumdan bağımsız olarak (Şekil 5) düz kas kasılmasını artırır (69-71).



Şekil 5: Vasküler düz kas kasılmasının mekanizması

Vazospastik anjinalı hastalarda Rho-kinaz inhibitörü uygulamasının, asetilkolinle oluşan koroner arter spazmını azalttığı, elektrokardiyografideki iskemik değişimleri ve göğüs ağrısını önlediği gösterilmiştir (72,73). Anestezi altındaki köpekte pacing ile indüklenen efor anjinasında, fasudil ve hidroksifasudil ST segment depresyonunu önlemiş ve koroner kan akımını arttırmıştır (74). Diğer bir çalışmada ise endotelin-1 ile oluşturulan vazospastik iskemide, fasudilin miyokardiyal hasarı önlediği bildirilmiştir (75). Miyokardiyal infarktüsün deneysel modeli olarak uygulanan koroner arter oklüzyon-reperfüzyon modelinde, Rho-kinaz inhibitörlerinin anestezi altındaki sıçanlarda iskemi-reperfüzyonla oluşan aritmiler ve infarkt alanı üzerindeki etkileri incelenmiş ve Rho-kinaz inhibitörlerinin kalpte önkoşullama oluşturabilmeleri yanında antiaritmik etkili oldukları gösterilmiştir (76,77).

Fenilefrin, anjiotensin-II ve endotelin-1 gibi vazokonstriktör ajanlar, hem  $G_{q/11}$  hem de  $G_{12/13}$  proteinleri ile eşleşen reseptörleri uyarır (78).  $G_{q/11}$ , PLC $\beta$ -aracılı  $Ca^{+2}$ -bağımlı miyozin hafif zincir kinaz düzenlenmesinde rol oynarken,  $G_{12/13}$ , Rho/Rho-kinaz aracılı miyozin fosfatazın düzenlenmesinde rol oynar. Rho-kinaz aktivasyonu, vasküler direncin artmasının olası bir nedenidir (79). Araştırma sonuçları, düz kas kontraksiyonunun düzenlenmesinde  $Ca^{+2}$ 'un çift yönlü rol oynadığını ve bu yollarda miyozin hafif zincir kinazın aktivasyonu ile miyozin hafif zincir fosfatazın Rho aracılı inhibisyonunun yer aldığını göstermektedir (80). Miyozin hafif zincir fosfatazın inhibisyonu  $Ca^{+2}$  duyarlılığından sorumludur. Rho/Rho-kinaz yolunun önemi pulmoner vazokonstriksiyonda (81), sıçanlardaki mineralokortikoid kaynaklı hipertansiyonda (82), artan vasküler reaktivitede ve serebral vazospazmda gösterilmiştir (83). Rho/Rho-kinaz polimorfizminin ikizlerde herediter hipertansiyon patogenezinde rolü olabileceği gösterilmiştir (84). Kronik NOS inhibisyonu nedeniyle hipertansif olan sıçanların arterlerinde  $\alpha_2$ -agoniste verilen kontraktıl yanıtın, RhoA aktivasyonu aracılığıyla arttığı bildirilmiştir (85). Rho-kinaz proteini, arterlerde sentezlenir ve agonist kaynaklı düz kas kontraksiyonunu düzenler ve Rho-kinaz inhibitörünün vazodilatör etkisi endotel tabakasından bağımsızdır. Bu nedenle Rho/Rho-kinaz sinyali vasküler direncin kontrolünde rol oynayabilir ve Rho-kinaz inhibitörleri, hipertansiyon, vazospazm ve ateroskleroz gibi bazı kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde etkili olabilir (86). Rho-kinaz aktivasyonu, muhtemelen Bax upregülasyonu ve apoptozu indükleyerek iskemi-reperfüzyonla oluşan hücre ölümüne katkıda bulunur (87).

RhoA/ROCK yolağı endotelyal NOS aktivitesinin dzenlenmesinde de 6nemlidir. Rho-kinaz direkt olarak endotelyal NOS'u Thr495'den fosforile eder ve endotelde NO oluşumunu baskılar (88).

#### **2.2.4. Rho-Kinaz Gen Polimorfizmi**

Polimorfizm, bir toplumda veya toplumlar arasında bir genin allelleri ya da bir kromozomun homologlarıyla birleşen çeşitli fenotipik formların varlığı, bir lokusta bir allelden fazlasının bulunması olgusudur. Diğer bir ifadeyle bir populyasyondaki bir lokusta bulunan allellerin en az %5'inin farklılık g6stermesidir. Sağlıklı toplumlarda bu değişiklikler kodlanmış proteinin işlevinde herhangi bir değişikliğe neden olmayan noktalarda veya deoksiribon6kleik asitin kodlayıcı olmayan b6lgelerinde g6r6lt6r.

Rho-kinaz gen polimorfizmi ile ilgili Şimdiye kadar yayınlanmış araştırmalar hipertansiyon ile ilişkilidir. Amerikan toplumunda ikizler 6zerinde yapılan çalışmalarda ROCK2 gen polimorfizmi ile hipertansiyon arasında ilişki saptanırken (84,89), in toplumunda ROCK2 geni Thr431Asn polimorfizminin hipertansiyonla ilişkili olmadığı bulunmuştur (86).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Araştırmanın Tipi**

Bu çalışma, Mart 2010 ile Haziran 2010 tarihleri arasında, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Pediyatrik Kardiyoloji polikliniğine başvuran ve EKO ile izole VSD tanısı almış hastalarda ROCK2 (Rho/Rho-kinaz) gen polimorfizminin saptanmasını amaçlayan açık uçlu longitudinal bir çalışmadır. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 16.12.2010 tarih ve 12-2010/16 karar numarası ile araştırma için onay alınmış ve Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından TF 10.21 numaralı proje ile desteklenmiştir.

#### **3.2. Araştırmanın Evreni**

Araştırmanın evrenini, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediyatrik Kardiyoloji polikliniğine başvuran veya serviste yatan hastalardan izole VSD tanısı almış, araştırmanın dahil edilme ve dışlanma kriterlerine uyan ve bilgilendirilmiş onay formu ebeveynlerince imzalanmış 150 hasta ve 150 sağlıklı kontrol deneği oluşturmuştur.

#### **3.3. Araştırmanın Dahil Edilme Ölçütleri**

Araştırmanın dahil edilme ölçütleri;

1. İzole VSD tanısı almış olması,
2. Ek bir kardiyolojik patoloji olmaması,
3. Hastaların 0-16 yaş grubu arasında olması,
4. Yazılı bilgilendirilmiş onam formunun imzalanmış olması.

Kontrol grubuna ise kan alınması planlanan, bilinen bir kardiyak defekti olmayan, ailesinde kalp hastalığı öyküsü olmayan, ayaktan tedavi edilebilir basit bir enfeksiyonu olan (üst solunum yolu, alt solunum yolu, idrar yolları vs.) veya tamamen sağlıklı olan kişiler dahil edildi. Bu kriterlerin dışında kalanlar çalışmaya dahil edilmedi.

### **3.4. Kanların Alınması ve Saklanması**

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubundan 5 ml Etilendiamintetra asetik asit (EDTA)'li kan örneği alındı ve örnekler Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Moleküler Genetik Tanı Birimi Laboratuvar'ında  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de DNA izolasyonu yapılana kadar saklandı. Kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA eldesi yapıldı.

### **3.5. DNA İzolasyonu ve Polimerize Zincir Reaksiyonu (PCR)**

Öncelikle EDTA'li 5 ml kan üzerine 5 ml (kendi hacmi kadar) distile soğuk su eklenerek yavaşça 5 dakika alt-üst edilir. 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir, santrifüj sonunda süpernatant dökülür. Çökeltinin hacmi kadar tekrar distile soğuk su eklenir ve 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir. Süpernatant dökülerek aynı işlem üç kez tekrarlanır. Süpernatant atılır, pellete 3 ml ürel parçalama çözeltisi eklenir (Üre Lysis Buffer). Pellet tamamen çözülür. 400  $\mu\text{l}$  %20'lik sodium dodecyl sulphate eklenir. 100  $\mu\text{l}$  10mg/ml proteinaz K eklenip, 1 gece için  $37^{\circ}\text{C}$ 'deki hibridizasyon fırınında bekletilir. Ertesi gün hibridizasyon fırınından alınan örneklerle 2 ml 5 M NaCl eklenir. Üzerlerine 14 ml kloroform konularak 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonunda üç ayrı faz oluşur. En üst faz temiz bir tüpe alınarak hacmi kadar soğuk etil alkol eklenir. Etil alkolde yumak şeklinde oluşumu gözlenen DNA'lar içinde 1ml. %70'lik etil alkol bulunan 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne alınır. Tüpler 10 dakika 13000 rpm'de santrifüj edilerek DNA'ların tüpün dibine yapışması sağlanır. Üzerindeki alkol dökülerek tekrar 1ml. %70'lik etil alkol eklenir. Bu işlem üç kez tekrarlanır. Yıkama işleminden sonra alkol tamamen dökülerek tüpler ağzı açık olarak vakumlu kurutucuya yerleştirilir ve bir saat kurutulur. Kuruyan DNA'ların üzerine miktarına göre (400  $\mu\text{l}$ ) dH<sub>2</sub>O eklenerek +4 derecede bir gece çözünmeye bırakılır. Daha sonra derin dondurucuya kaldırılır.

### 3.6. PCR İşlemi ile Exon 16 (Rs35768389) ve Exon 26 (Rs34945852) Bölgesi Polimorfizmlerinin Tespiti

#### Exon 16 (rs35768389) PCR işlemi

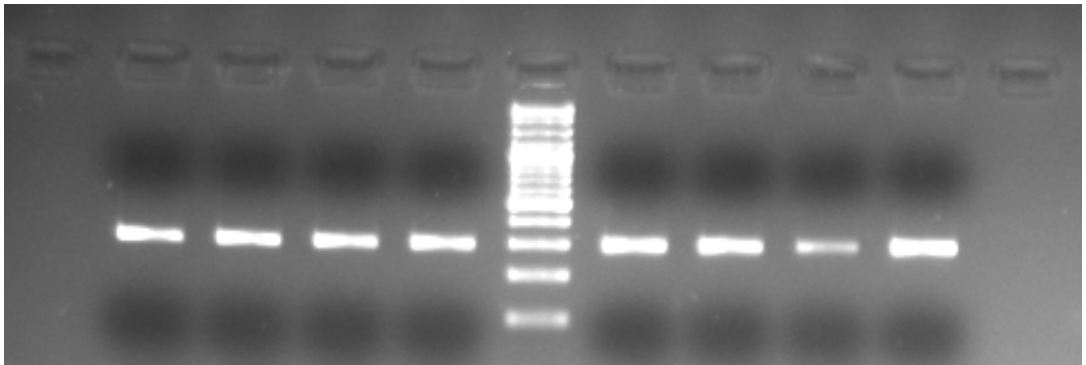
Optimizasyon işlemlerinden sonra hasta gruplarının Exon 16 ve Exon 26 bölgelerinin ayrı ayrı PCR protokolleri oluşturularak PCR işlemi gerçekleştirildi. Exon 16 bölgesi PCR karışımı için:

ddH <sub>2</sub> O	= 18, µl
10x Tampon	= 2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	= 1,5 µl
dNTP	= 1,5 µl
Fw	= 0,2 µl
Rw	= 0,2 µl
Taq	= 0,1 µl
DNA	= 1 µl

Karışım 0,2 lik PCR tüplerine aktarılarak reaksiyon işlemine geçildi. Reaksiyon işlemi için;

94°C	3 dakika
94°C	45 saniye (30 döngü)
53°C	30 saniye(30 döngü)
72 °C	45 saniye(30 döngü)
72 °C	5 dakika

Reaksiyon işlemi bittikten sonra %2'lik jel hazırlanarak PCR ürünlerinin jel elektroforezinde yürütülmesi sağlandı ve çıkan sonuca göre enzim kesim işlemine geçildi (Resim 1).



Resim 1: Exon 16 PCR sonucu

**Exon 16 Enzim kesim işlemi**

PCR işleminden sonra exon 16 bölgesi için Mb01 adlı kesim enzimi kullanılarak PCR ürünlerinin kesim işlemi yapıldı. Bu işlem için;

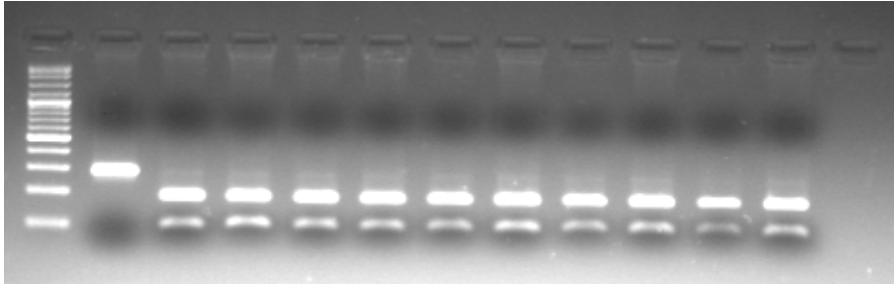
0,1 µl Enzim

2 µl Buffer R

3 µl dH<sub>2</sub>O

15 µl PCR ürünü

Hazırlanan karışım 0,2'lik PCR tüplerine konularak 37 °C de 1 gece inkübasyonda bekletildi. Bir gece inkübasyondan sonra %2'lik jel hazırlanarak kesim sonuçlarına bakıldı. Jel elektroforezinde yürütme işlemi için kesim ürünlerinin üzerine 6 µl loading dye konup jeldeki kuyucuklara yüklendi ve en baştaki kuyucuğa 4 µl marker konup yürütülerek kesim sonuçlarına bakıldı (Resim 2).



Resim 2: Exon 16 kesim sonucu

**Exon 26 (rs34945852) bölgesi PCR karışımı için:**

ddH<sub>2</sub>O = 18,1 µl

10x Tampon = 2,5 µl

MgCl<sub>2</sub> = 1,5 µl

dNTP = 1,5 µl

Fw = 0,15 µl

Rw = 0,15 µl

Taq = 0,1 µl

DNA = 1 µl

Karışım 0,2 lik PCR tüplerine aktarılarak reaksiyon işlemine geçildi. Reaksiyon işlemi için;

94°C 3 dakika

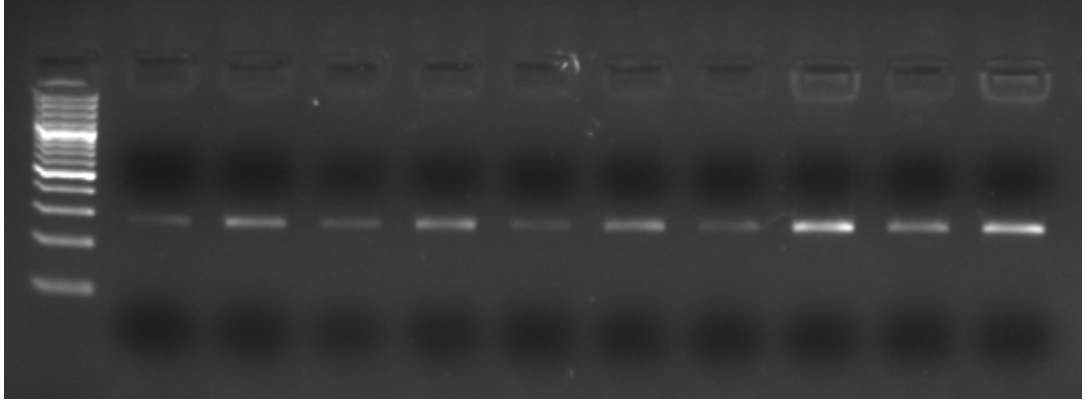
94°C 45 saniye (30 döngü)

53,5°C 30 saniye(30 döngü)

72 °C 30 saniye(30 döngü)

72 °C 5 dakika

Reaksiyon işlemi bittikten sonra %2'lik jel hazırlanarak PCR ürünlerinin jel elektroforezinde yürütülmesi sağlandı ve çıkan sonuca göre enzim kesim işlemine geçildi (Resim 3).



Resim 3: Exon 26 PCR sonucu

### **Exon 26 (rs34945852) Enzim kesim işlemi**

PCR işleminden sonra exon 16 bölgesi için Mb01 adlı kesim enzimi kullanılarak PCR ürünlerinin kesim işlemi yapıldı. Bu işlem için;

0,1 µl Enzim

2 µl Buffer R

3 µl dH<sub>2</sub>O

15 µl PCR ürünü

Hazırlanan karışım 0,2 lik PCR tüplerine konularak 37 °C de 1 gece inkübasyonda bekletildi. Bir gece inkübasyondan sonra %2 lik jel hazırlanarak kesim sonuçlarına bakıldı. Jel elektroforezinde yürütme işlemi için kesim ürünlerinin üzerine 6 µl loading dye konup jeldeki kuyucuklara yüklendi ve en baştaki kuyucuğa 4 µl

marker eklenerek 130 volüme -400 watt -40 dakika yürütülerek kesim sonuçlarına bakıldı.

### 3.7. Real Time PCR ile Ekzon 10 (Rs:9808232) Bölgesi Polimorfizmlerinin Tespiti

Ekzon 10 (rs:9808232) bölgesi Primer Design Precision HRM MasterMix ve raZor® probe kullanılarak RT PCR yapıldı.

HRM raZor PCR mix : 7.5 µl

primer/raZor probe mix : 1 µl

Rnase- free water : 1,5 µl

Hazırlanan mix her hasta için 10 µl 0.1 lik tüplere dağıtıldı üzerine 5 µl 10 ng' a sulandırılmış DNA ilave edildi. Aşağıdaki PCR tepkime koşulları uygulandı(Tablo 5).

**Tablo 5:** Ekzon 10 için HRM (High Resolution Melting) analizi ile SNP tespiti.

	PCR basamakları	Zaman	Sıcaklık
3 tekrar	Enzim aktivasyonu	8 dk	95°C
	Denatürasyon	15s	95°C
	Bağlanma ve uzama	45s	66°C
3 tekrar	Denatürasyon	15s	95°C
	Bağlanma ve uzama	45s	64°C
3 tekrar	Denatürasyon	15s	95°C
	Bağlanma ve uzama	45s	62°C
50 tekrar	Denatürasyon	15s	95°C
	Veri toplama	45s	60°C
	HRM denatürasyon	45s	95°C

Corbette Rotorgene Real Time PCR cihazı kullanılarak yapıldı. HRM (High Resolution Melting) analizi ile SNP tespiti yapıldı (Şekil 6).



**Şekil 6:** Real Time PCR ile SNP tespiti. 1: Thr/Thr 2: Thr/Asn 3: Asn/Asn

### 3.8. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde Statistical Program in Social Sciences 13.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler (yaş, cinsiyet vs.) ortalama ve standart sapma olarak özetlendi. İstatistik değerlendirmede hasta ve kontrol grupları cinsiyet, yaş ve polimorfizm dağılımı yönünden incelendi. Kategorik ölçümlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare test istatistiği kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önlem düzeyi  $p < 0.05$  olarak alındı. Verilerin genotip dağılımı ve allel sıklıkları gruplar arasında Ki-Kare testi kullanılarak karşılaştırıldı.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya %54'ü erkek (n=81), %46'sı (n=69) kız olmak üzere 150 izole VSD hastası ve %52'si (n=78) erkek, %48'i (n=72) kız olmak üzere toplam 150 kişilik kontrol grubu alındı (Şekil 7). Kontrol grubundan 22, VSD grubundan 13 kişi DNA ayrışımı yapılamadığından çalışmadan çıkarıldı. Çalışmaya 128 kontrol ve 137 izole VSD hastası ile devam edildi.

Kontrol grubunun yaş ortalaması  $100.3 \pm 54.2$  ay, VSD grubunun ise  $39.6 \pm 39.8$  ay olarak saptandı (Tablo 6). Gruplar arasında yaş açısından anlamlı farklılık saptandı ( $p < 0.05$ ). VSD'li hasta grubunun %3.3'ü (n=5) yenidoğan, %34.7'si (n=52) süt çocuğu, %46'sı (n=69) okul öncesi ve %16'sı (n=24) okul dönemine aitti (Şekil 10). Kontrol grubunun %4'ü (n=6) süt çocuğu, %36'sı (n=54) okul öncesi, %60'ı (n=90) okul dönemine aitti ve hiç yenidoğan yoktu (Tablo 6).

Kontrol grubu boy ortalaması  $124.0 \pm 28.4$  cm, VSD grubunda ise  $85.7 \pm 25.7$  cm idi. Hastaların %8'i (n=12) 3 persentil altı, %10'u (n=15) 3-10 persentil arası ve %82'si (n=123) ise 10 persentil üstü idi. Kontrol grubunun %2'si (n=3) 3 persentil altı, %6'sı (n=9) 3-10 persentil arası ve %92.7'si (n=139) ise 10 persentil üstü idi (Tablo 6).

Grupların ağırlıkları karşılaştırıldığında ise kontrol grubu ortalama  $30.3 \pm 17.1$  kg, VSD grubunda ise  $30.3 \pm 17.1$  kg idi. Hastaların %13.3'ü (n=20) 3 persentil altı, %12.7'si (n=19) 3-10 persentil arası ve %74'ü (n=111) ise 10 persentil üstü idi (Şekil 9). Gelişme geriliği; 3 persentil altı için "var", 3-10 persentil arası için "artmış yüksek risk", 3 persentil üstü için ise "yok" olarak kabul edildi. Kontrol grubunun %1.3'ü (n=2) 3 persentil altı, %6'sı (n=9) 3-10 persentil arası, %92.7'si (n=139) ise 10 persentil üstü idi ve (Tablo 6). İki grup arasında cinsiyet ve akrabalık bazında yapılan karşılaştırmada anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 6).

Defektleri tiplerine göre sınıfladığımızda %82'si membranöz (n=123), %18'i müküler (n=27) idi ve DCJA VSD'li hiç hasta yoktu (Şekil 8). Septumdaki yerleşim

yerlerine göre sınıflandığında membranöz tipte; tüm VSD'lerin %71.3'ü outlet (n=107), %8'i (n=12) inlet, %2.7'si (n=4) trabeküler; mürsküler tipte ise tüm VSD'lerin %12'si (n=18) outlet, %4.7'si (7) inlet, %1.3'ü (n=2) trabeküler tip olarak saptandı. Ventriküler septal defekt grubunun %5.3'ü (n=8) hem membranöz hem mürsküler idi ve bu çalışmada membranöz VSD grubuna dahil edildi. Ventriküler septal defekt grubunun %3.3'ü (n=5) hem inlet hem outlet VSD idi ve outlet grubuna dahil edildi. Ventriküler septal defekt grubunun %14'ünde (n=21) birden fazla açıklık olduğu saptandı. Çalışmamızda VSD'li hastalarımızın %28'inde (n=42) kalp yetmezliği tespit edildi, bunların %2.4'ü (n=1) mürsküler VSD, %97.6'sı (n=41) membranöz VSD idi ve membranöz VSD'lerde kalp yetmezliği sıklığı ve bununla paralel olarak gelişme geriliği belirgin olarak yüksekti (Tablo 8). Ventriküler septal defekt grubunun %8.7'si (n=13) VSD kapatma operasyonu geçirmişti. Bunların tümü membranöz VSD idi.

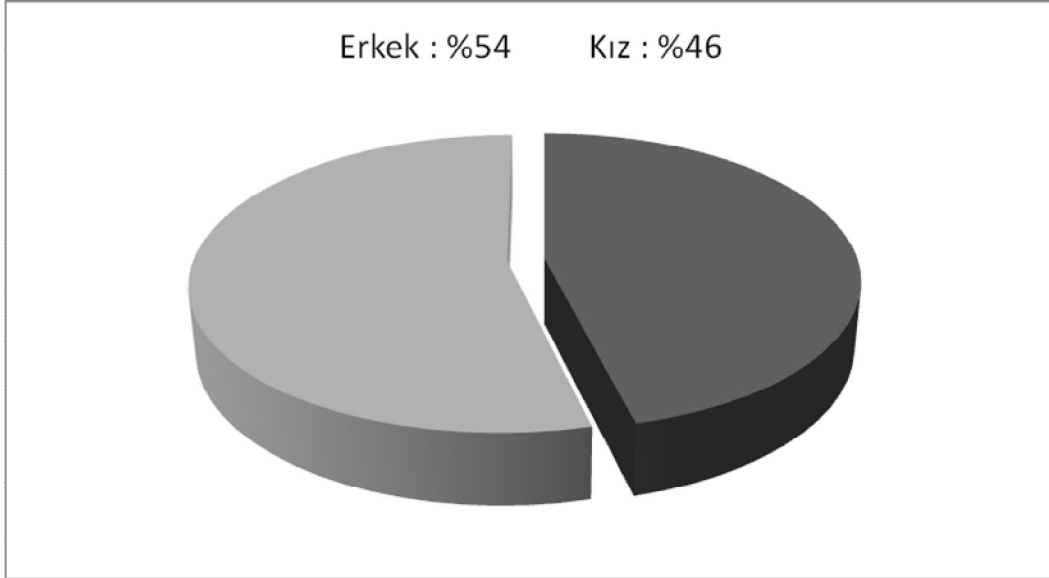
Boyutlarına göre sınıflandığında VSD'lerin %60.7'si (n=91) küçük, %19.3'ü (n=29) orta, %20'si (n=30) büyük boyutlu idi (Şekil 12). Ventriküler septal defekt boyutu ile kalp yetmezliği gelişimi ve gelişme geriliği sıklığı kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Boyut arttıkça kalp yetmezliği ve gelişme geriliği sıklığı artmış saptandı (Tablo 7).

Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon16 Asp601Val ve Ekzon 26 Lys1083Met polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları incelenmiş ve herhangi bir farklılık saptanamamıştır (Tablo 8 ve 9).

Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için Thr/Thr, Thr/Asn ve Asn/Asn genotip frekansı ( $p>0.05$ ) ve Thr-Asn allel sıklıkları ( $p=0.056$ ) incelenmiş herhangi bir farklılık saptanamamıştır (Tablo 7).

Kontrol grubu ile VSD boyutu ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansı ve Thr-Asn allel sıklıkları incelenmiş ve herhangi bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo 10,11 ve 12).

Kontrol grubu ile mürsküler/membranöz VSD hastaları ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları incelenmiş ve herhangi bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ) (Tablo 13 ve 14).



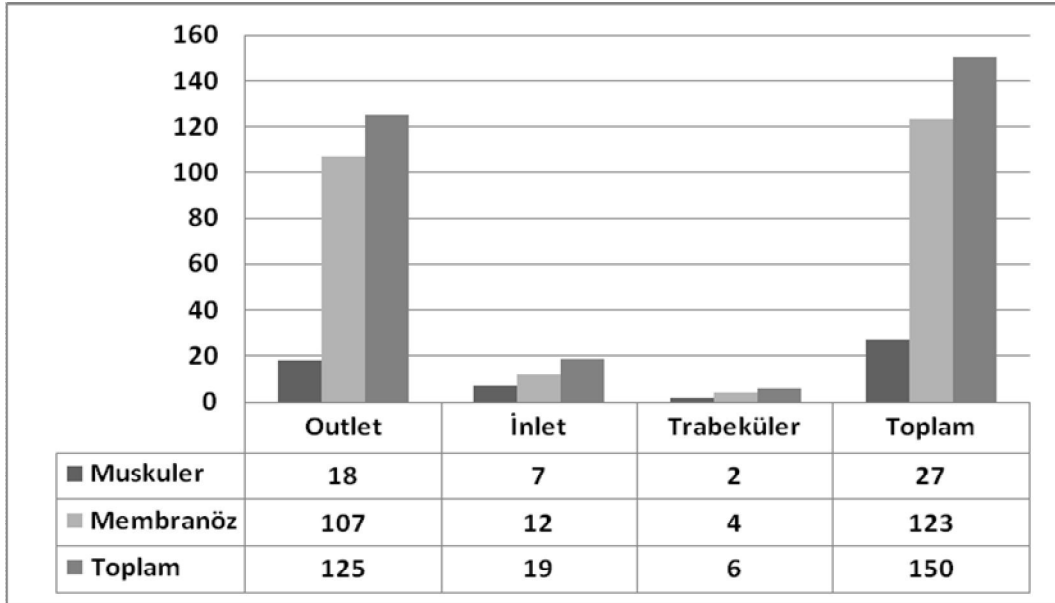
**Şekil 7:** Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı

**Tablo 6:** Ventriküler septal defekt ve kontrol grubunun akrabalık, boy-ağırlık, yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Parametreler	Kontrol (n=150) (%)	VSD (n=150) (%)	P değeri
Yaş (ay)	100.3±54.2	39.6±39.8	
Akrabalık (var/yok)	23/127 (15.3)	33/117 (22)	>0.05
Kız/erkek	72(48)/78(52)	69(46)/81(54)	
Yenidoğan	0 (0)	5 (3.3)	
Süt çocuğu	6 (4)	52 (34.7)	
Okul öncesi	54 (36)	69 (46)	
Okul dönemi	90 (60)	24 (16)	
Boy (cm)	124.0±28.4	85.7±25.7	
Kilo (kg)	30.3±17.1	12.9±8.5	

**Tablo 7:** Ventriküler septal defekt boyutunun VSD kapatma operasyonu, kalp yetmezliği gelişimi ve gelişme geriliği ile ilişkisi

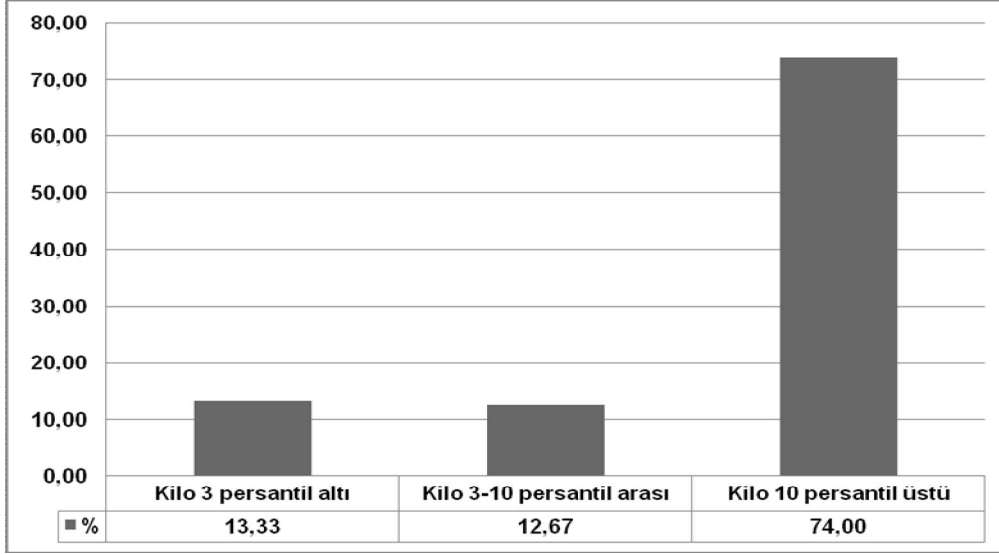
Boyut	Operasyon		Yetmezlik		Kilo persentili		
	Var	yok	var	yok	< 3 p	3 - 10 p	> 10 p
<b>Küçük</b>	0	91	0	91	0 (0)	2 (1.3)	89 (59.4)
<b>Orta</b>	6 (46)	23	13 (31)	16	6 (4)	9 (6)	14 (9.3)
<b>Büyük</b>	7 (54)	23	29 (69)	1	14 (9.3)	8 (5.3)	8 (5.3)
<b>Toplam</b>	13	137	42	108	20 (13.3)	19 (12.7)	111 (74)



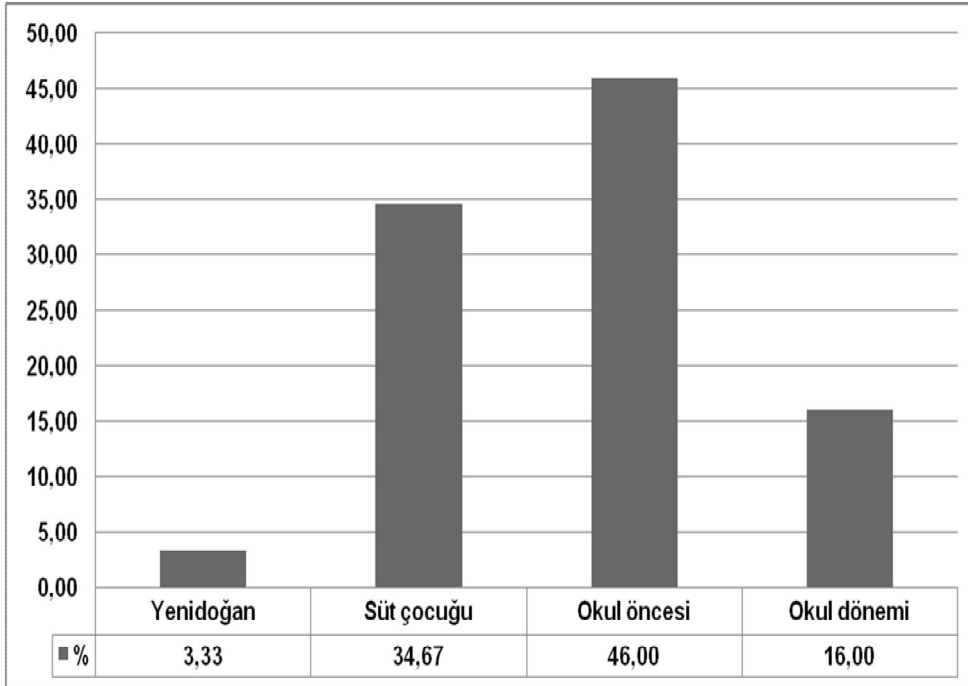
**Şekil 8:** Hastaların defekt tipi ve septumdaki yerleşim yerlerine göre dağılımı

**Tablo 8:** Ventriküler septal defekt tiplerinin VSD kapatma ameliyatı oranları, kalp yetmezliği gelişimi ve gelişme geriliği ile ilişkisi

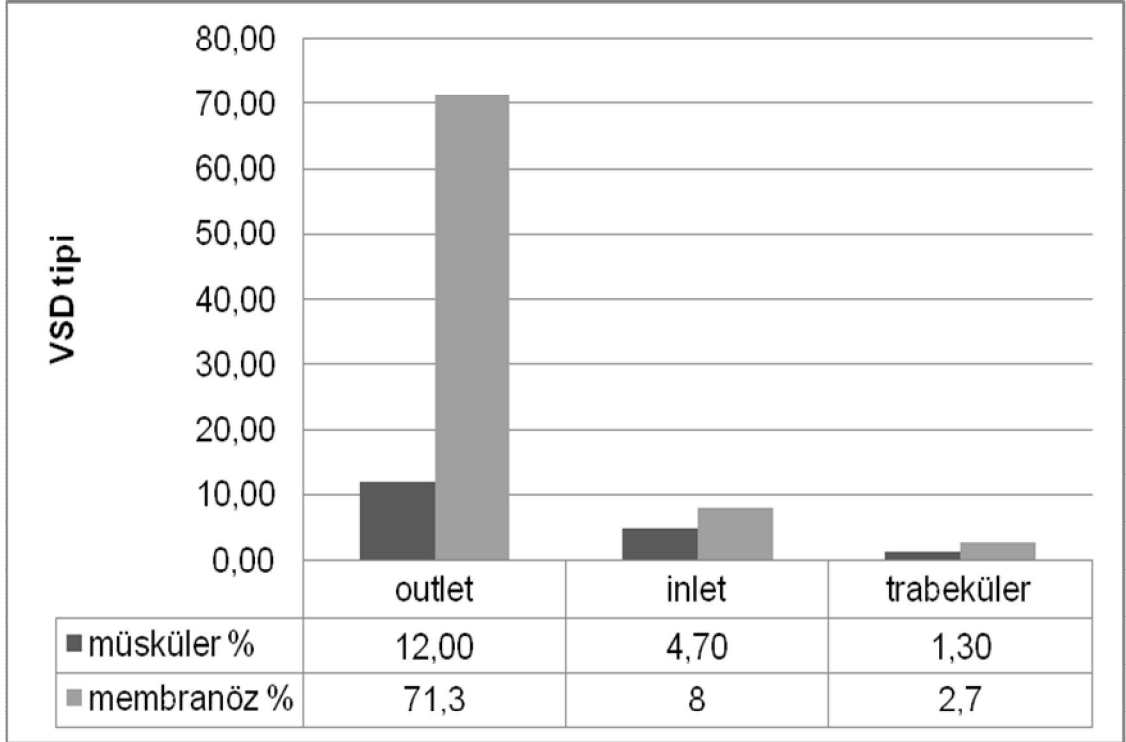
Tip	Ağırlık persentili			Operasyon		Yetmezlik	
	< 3 p	3 - 10 p	> 10 p	var	yok	Var	yok
<b>Müsküler</b>	0 (0)	2 (1.3)	25(16.7)	0	27	1 (2.4)	26
<b>Membranöz</b>	20(13)	17(11.3)	86(57.6)	13	110	41(97.6)	81



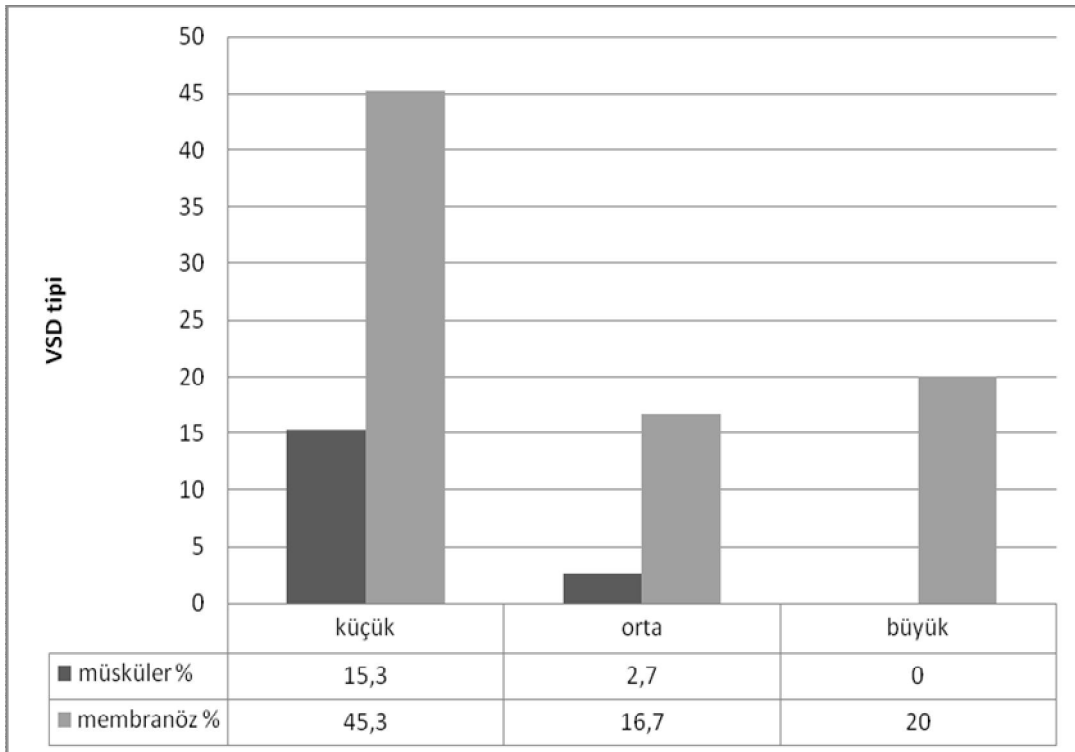
Şekil 9: Ventriküler septal defektli hastaların ağırlık persentillerine göre dağılımı



Şekil 10: Ventriküler septal defektli hastaların çocukluk dönemlerine dağılımı



Şekil 11: Ventriküler septal defekt tiplerinin septumda yerleşim yerlerine göre dağılımı



Şekil 12: Ventriküler septal defekt tiplerinin boyutlarına göre dağılımı

**Tablo 9:** Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon10 Thr431Asn polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları.

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	Hasta grubu (n=137) (%)	P	OR (95% CI)
Thr/Thr	32 (25.0)	44 (32.1)		
Thr/Asn	54 (42.2)	61 (44.5)	0.510	0.822 (0.458-1.474)
Asn/Asn	42 (32.8)	32 (23.4)	0.073	0.554 (0.290-1.059)
Thr	118 (46.1)	149 (54.4)		
Asn	138 (53.9)	125 (45.6)	0.056	0.717 (0.510-1.010)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı  
Ki-kare testi

**Tablo 10:** Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon16 Asp601Val polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	Hasta grubu (n=137) (%)	P	OR (95% CI)
Asp/Asp	128 (100)	137 (100)		
Asp/Val	0 (0)	0 (0)		
Val/Val	0 (0)	0 (0)	>0.05	
Asp	256 (100)	274 (100)		
Val	0 (0)	0 (0)		

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı  
Ki-kare testi

**Tablo 11:** Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon26 Lys1083Met polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları.

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	Hasta grubu (n=137) (%)	P	OR (95% CI)
Lys/Lys	128 (100)	137 (100)		
Lys/Met	0 (0)	0 (0)		
Met/Met	0 (0)	0 (0)	>0.05	
Asp	256 (100)	274 (100)		
Val	0 (0)	0 (0)		

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı  
Ki-kare testi

**Tablo 12:** VSD boyutu ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları (küçük VSD)

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	VSD boyutu (Küçük) (n=81) (%)	<i>P</i>	OR (95% CI)
Thr/Thr	32 (25.0)	26 (32.1)		
Thr/Asn	54 (42.2)	37 (45.7)	0.616	0.843 (0.433-1.641)
Asn/Asn	42 (32.8)	18 (22.2)	0.096	0.528 (0.247-1.124)
Thr	118 (46.1)	89 (54.9)		
Asn	138 (53.9)	73 (45.1)	0.078	0.701 (0.472-1.041)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı  
Ki-kare testi

**Tablo 13:** VSD boyutu ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları (orta VSD)

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	VSD boyutu (orta) (n=29) (%)	<i>P</i>	OR (95% CI)
Thr/Thr	32 (25.0)	7 (24.1)		
Thr/Asn	54 (42.2)	14 (51.9)	0.805*	1.185 (0.433-3.246)
Asn/Asn	42 (32.8)	8 (28)	1.000*	0.870 (0.286-2.653)
Thr	118 (46.1)	28 (48.3)		
Asn	138 (53.9)	30 (51.7)	0.764 <sup>+</sup>	0.916 (0.518-1.621)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı

\*Fisher'in kesin ki-kare testi

+ Ki-kare testi

**Tablo 14:** VSD boyutu ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları (büyük VSD)

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	VSD boyutu (büyük) (n=27) (%)	<i>P</i>	OR (95% CI)
Thr/Thr	32 (25.0)	11 (40.7)		
Thr/Asn	54 (42.2)	10 (37)	0.223*	0.539 (0.206-1.409)
Asn/Asn	42 (32.8)	6 (22.3)	0.177*	0.416 (0.139-1.244)
Thr	118 (46.1)	32 (59.3)		
Asn	138 (53.9)	22 (40.7)	0.079 <sup>+</sup>	0.588 (0.324-1.067)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı

\*Fisher'in kesin ki-kare testi

+ Ki-kare testi

**Tablo 15:** Müsküler VSD ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	VSD müsküler (n=27) (%)	tipi	P	OR (95% CI)
Thr/Thr	32 (25.0)	8 (29.6)			
Thr/Asn	54 (42.2)	15 (55.6)		1.000*	1.111 (0.424-2.911)
Asn/Asn	42 (32.8)	4 (14.8)		0.211*	0.381 (0.105-1.378)
Thr	118 (46.1)	31 (57.4)			
Asn	138 (53.9)	23 (42.6)		0.131 <sup>+</sup>	0.634 (0.351-1.148)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı

\*Fisher'in kesin ki-kare testi

+ Ki-kare testi

**Tablo 16:** Membranöz VSD ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	VSD membranöz (n=110) (%)	tipi	P	OR (95% CI)
Thr/Thr	32 (25.0)	37 (33.6)			
Thr/Asn	54 (42.2)	46 (41.8)		0.330	0.737 (0.398-1.363)
Asn/Asn	42 (32.8)	27 (24.6)		0.088	0.556 (0.283-1.094)
Thr	118 (46.1)	120 (54.5)			
Asn	138 (53.9)	100 (45.5)		0.066	0.713 (0.496-1.023)

OR, Odds oranı, CI, güvenlik aralığı

Ki-kare testi

## 5. TARTIŞMA

Ventriküler septal defekt, biküspid aortik kapak ve mitral kapak prolapsusundan sonra en sık görülen doğumsal kalp anomalisidir. Prevalansı 1000 canlı doğumda 2.5'tir (1). Nancy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada izole VSD'li hastaların %56'sı kız, %44'ü erkek olarak saptanmış (19). Gökçe ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %52 erkek, %48'i kız saptanmış (90). Bizim çalışmamızda ise Gökçe ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya paralel olarak %54 erkek, %46 kız saptandı.

Etyolojide hem çevresel etkenlerin hem de ailesel yatkınlığın rol oynadığı kabul edilmektedir. Annenin sigara içimi, alkol ve amfetamin kullanımı, annede diyabet varlığı, annenin boya sanayisinde çalışması suçlanmaktadır (2,12). Tarım ilaçları gibi çevresel ajanların izole VSD'nin etyolojisindeki yeri tartışmalıdır (12). Baltimore-Washington infant çalışması ve diğer bazı araştırmalar anne ve babanın tarımsal ajanlara maruziyetinin çocuklarda artmış izole VSD riski ile birlikteliğini gösterirken bunu desteklemeyen araştırmalar da var (13,14).

Batra ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada aralarında 3. derece akrabalık bulunan anne veya babanın herhangi birinde VSD varlığında çocukta VSD görülme olasılığı %4.4 olarak saptanmış (15). Bizim çalışmamızda akrabalıkla ilgili olarak kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada anlamlı farklılık saptanmadı. Bu durum belkide kontrol grubu akrabalık oranının da yüksek olması ile açıklanabilir.

Kontrol grubu yaş ortalaması 100.3±54.2 ay, VSD grubunun ise 39.6±39.8 ay olarak saptandı. Grupların ağırlıkları karşılaştırıldığında, kontrol grubu ortalama 30.3±17.1 kg, VSD grubunun ise 30.3±17.1 kg idi. Kontrol grubu boy ortalaması 124.0±28.4 cm, VSD grubunda 85.7±25.7 cm idi. Çalışmada kontrol ve VSD grupları yaş, boy, kilo, çocukluk dönemleri arasında anlamlı farklılıklar tespit edildi (p<0.05). Bu farklılıklar, kontrol grubu ebeveynlerinin çocuklarından 5 cc kan alınmasına razı olmamaları nedeniyle okul öncesi, süt çocukluğu ve yenidoğan döneminde yeterince kontrol kanı alınmaması ve alınanların ise özellikle okul döneminde yoğunlaşması ile açıklanabilir.

Ventriküler septal defektleri tiplerine göre sınıfladığımızda %82'si membranöz (n=123), %18'i müküler (n=27) idi ve DCJA VSD'li hiç hasta yoktu. Septumdaki yerleşim yerlerine göre sınıflandığında membranöz tipte tüm VSD'lerin %71.3'ü outlet (n=107), %8'i (n=12) inlet, %2.7'si (n=4) trabeküler; müküler tipte ise tüm VSD'lerin %12'si (n=18) outlet, %4.7'si (7) inlet, %1.3'ü (n=2) trabeküler olarak saptandı. Bu oranlar literatürdeki diğer çalışmalarla paralellik gösterdi (19,22,24).

Ventriküler septal defekt grubunun %5.3'ü (n=8) hem membranöz hem müküler idi. Ventriküler septal defekt grubunun %3.3'ü (n=5) hem inlet hem outlet VSD idi. Ventriküler septal defekt grubunun %14'ünde (n=21) birden fazla açıklık olduğu saptandı. Çalışmamızda VSD'li hastalarımızın %28'inde (n=42) kalp yetmezliği tespit edildi, bunların %2.4'ü (n=1) müküler VSD, %97.6 (n=41) membranöz VSD idi ve membranöz VSD'lerde kalp yetmezliği sıklığı ve bununla paralel olarak gelişme geriliği belirgin olarak yüksekti. Ventriküler septal defekt grubunun %8.7'si (n=13) VSD kapatma operasyonu geçirmişti. Bunların tümü membranöz VSD idi.

Boyutlarına göre sınıflandığında VSD'lerin %60.7'si (n=91) küçük, %19.3'ü (n=29) orta, %20'si (n=30) büyük boyutlu idi (Şekil 12). Daha önceki çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda küçük VSD hasta sayısında bir artış vardı. Bu artışı EKO'nin kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte hastalığın daha erken tanı alması ile açıklayabiliriz. VSD boyutu ile kalp yetmezliği gelişimi ve gelişme geriliği sıklığı kıyaslandığında boyut arttıkça kalp yetmezliği gelişimi riski ve gelişme geriliği sıklığı artmış saptandı.

Rho/Rho-kinaz sinyal yolağının, trombosit kümeleşmesi, lenfosit ve fibroblast adhezyonu, aktin hücre iskeleti reorganizasyonu, hücre hareketi ve göçü, düz kas kasılması gibi hücre fonksiyonların düzenlenmesinde önemli görevleri olduğunu biliyoruz (3-5).

Rho/Rho-kinaz yolunun önemi pulmoner vazokonstriksiyonda (81), sıçanlardaki mineralokortikoid kaynaklı hipertansiyonda (82), artan vasküler reaktivitede ve serebral vazospazmda yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (83).

Rho-kinaz gen polimorfizmi ile ilgili şimdiye kadar yayınlanmış araştırmalar hipertansiyon ile ilişkilidir. Amerikan toplumunda ikizler üzerinde yapılan çalışmalarda ROCK2 gen Thr431Asn polimorfizmi ile hipertansiyon arasında ilişki saptanırken

(84,89), Çin toplumunda ROCK2 geni Thr431Asn polimorfizminin hipertansiyonla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (86).

Rho/Rho-kinaz yolağının izole VSD'in patogenezinde rolü olabileceğini gösteren literatürde yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Biz de perimembranöz VSD gelişimi ile bu gelişimde rolü olabileceği düşünülen ekstramezenkimal migrasyon defekti hipotezinden yola çıkarak bununla ilişkili, defektten sorumlu olabileceğini düşündüğümüz ROCK2'nin gösterebileceğimiz polimorfizmlerinin konjenital kalp hastalıklarının aydınlatılmayan etyopatogenezine ışık tutabileceğini düşünerek bu çalışmayı yapmaya karar verdik.

Sonuç olarak kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon16 Asp601Val ve Ekzon 26 Lys1083Met polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları incelenmiş ve herhangi bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu ve VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için Thr-Thr, Thr-Asn ve Asn-Asn genotip frekansı ve Thr-Asn allel sıklıkları incelenmiş ve istatistiksel bir farklılık saptanamamakla birlikte Asn allelliği açısından p değeri sınır değer üzerinde ( $p=0.056$ ) saptanmıştır. Bizi heyecanlandıran tarafı, bu çalışmanın VSD hastaları ve dolayısıyla konjenital kalp hastalıkları içinde yapılan ilk gen çalışması olması nedeniyle daha geniş katılımlı ve daha fazla sayıda çalışmalara ihtiyaç olduğu yönündeki beklentilerin artmış olmasıdır.

Kontrol grubu ile müsküler/membranöz VSD hastaları ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları incelenmiş ve bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu ile VSD boyutu (küçük, orta, büyük) ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları incelenmiş ve bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).

Bu bilgiler ışığında araştırmamızın sonucu olarak Türk toplumunda ROCK2 geni Ekzon 16 ve Ekzon 26 bölgesinde polimorfizm saptanamamakla birlikte Ekzon 10 bölgesinde genotip farklılığı saptanmamış fakat Asn alleli açısından p değeri 0.056 gibi sınırdan anlamsız saptanmış ve daha geniş gruplarla yapılacak çalışmalar için umut verici bulunmuştur.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu araştırmada aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. Ventriküler septal defekt, diğer konjenital kalp hastalıklarında olduğu gibi etyopatogenezi henüz aydınlatılamamış hastalıklardan birisidir. Hastalığın gelişim riskinin önceden belirlenmesine yönelik tanı ve/veya tarama yöntemleri hastalığın tedavisinde önemli başarılar elde edilmesine zemin oluşturacaktır.
2. İzole VSD hastalarında ROCK2 geni Ekzon16 Asp601Val ve Ekzon 26 Lys1083Met polimorfizmi için genotip frekansları ve allel sıklıkları incelenmiş ve herhangi bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).
3. Kontrol grubu ile müsküler/membranöz VSD hastaları ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansları ve allel sıklıkları incelenmiş ve bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).
4. Kontrol grubu ile VSD boyutu ROCK2 geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansı ve Thr-Asn allel sıklıkları incelenmiş ve bir farklılık saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).
5. ROCK2 geni Ekzon 10 Thr431Asn bölgesi polimorfizmi için Thr-Thr, Thr-Asn ve Asn-Asn genotip frekansları arasında farklılık saptanamamakla birlikte, Thr-Asn allel sıklıkları incelenmiş; Türk toplumunda Asn alleli açısından p değeri (0.056) gibi sınırda anlamsız saptanmış ve daha geniş gruplarla yapılacak çalışmalar için umut verici bulunmuştur.

## 7. KAYNAKLAR

- 1) Samanek M, Voriskova M Congenital heart disease among 815,569 children born between 1980 and 1990 and their 15-year survival: a prospective Bohemia survival study. *Pediatr Cardiol* 1999;20:411-7.
- 2) Ferencz C, Loffredo CA, Correa-Villansenor AC, et al. Genetic and environmental risk factors of major cardiovascular malformations: Baltimore-Washington Infant Study:1981–9. Armonk, NY: Futura, 1997.
- 3) Gerthoffer WT. Mechanisms of vascular smooth muscle cell migration. *Circ Res*. 2007;100:607-21.
- 4) Gerthoffer WT. Migration of airway smooth muscle cells. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:97-105.
- 5) Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;290:661-8.
- 6) Takai Y, Sasaki T, Matozaki T. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev*. 2001;81:153-208.
- 7) Nakagawa O, Fujisawa K, Ishizaki T, Saito Y, Nakao K, ROCK-I and ROCK-II, two isoforms of Rho-associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase in mice. *FEBS Lett*. 1996;392:189-93.
- 8) Matsui T, Amano M, Yamamoto T, Chihara K, Nakafuku M, Ito M, et al. Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho. *EMBO J*. 1996;15:2208-16.
- 9) Takahashi N. Localization of the gene coding for ROCKII/Rhokinase on human chromosome 2p24. *Genomics*. 1999;55:235-7.
- 10) Tanaka T, Nishimura D, Wu RC, Amano M, Iso T, Kedes L, et al. Nuclear Rhokinase, ROCK2, targets p300 acetyltransferase. *J Biol Chem*. 2006;281:15320-9.

- 11) Goor DA, Edwards JE, Lillehei CW, The development of the inter ventricular septum of the human heart; correlative morphogenetic study. *Chest* 1970;58:453-67.
- 12) Tikkanen J, Heinonen OP. Maternal exposure to chemical and physical factors during pregnancy and cardiovascular malformations in the offspring. *Teratology*. 1991;43:591-600.
- 13) Ferencz C, Rubin JD, McCarter RJ, et al. Congenital heart disease: prevalence at livebirth: the Baltimore-Washington Infant Study. *Am J Epidemiol*. 1985;121:31-6.
- 14) Tikkanen J, Heinonen OP. Risk factors for ventricular septal defect in Finland. *Public Health*. 1991;105:99-102
- 15) Batra M, Heilke CL, Phillips RC. et al. Geographic and Occupational Risk Factors for Ventricular Septal Defects. Washington State 1987-2003. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2007;161:89-95.
- 16) Hoffman JLE, Rudolph AM. The natural history of ventricular septal defects in infancy. *Am J Cardiol*. 1965;16:634-53.
- 17) Roguin N, Du Z-D, Barak M, et al. High prevalence of muscular ventricular septal defect in neonates. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1545-8.
- 18) Ooshima A, Fukushige J, Ueda K. Incidence of structural cardiac disorders in neonates: an evaluation by color Doppler echocardiography and the results of a 1-year follow-up. *Cardiology*. 1995;86:402-6.
- 19) Nancy L, Howard P. Ventricular septal defect. In: Allen HD, Gutgesell HP, G Clark EB, Driscoll DJ, eds. *Moss & Adams Heart Disease in Infants, Children & Adolescents: Including the Fetus and Young Adults*. 6th ed. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins, 2001;637-50.
- 20) Anderson RH, Becker EA, The fibrous skeleton of the heart. In: *Cardiac Anatomy. An integrated Text and Atlas*. Edinburg: Churchill Livingstone, 1980, pp. 5.2-5.13.

- 21) Tynan M, Anderson RH. Ventricular septal defect. In: Anderson RH, Baker EJ, Macartney FJ, Rigby ML, Tynan M, Paediatric Cardiology. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002. p. 983-1014.
- 22) McCarthy KP, Ho SY, Anderson RH. Categorization of ventricular septal defects: review of the perimembranous morphology. *Images Paediatr Cardiol* 2000;3:24-40.
- 23) Ebels T, Anderson RH. Atrioventricular septal defect. In: Anderson RH, Baker EJ, Macartney FJ, Rigby ML, Shinebourne EA, Tynan M, editors. *Paediatric Cardiology*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002;939-83.
- 24) McCarthy KP, Ho SY, Anderson RH. Ventricular septal defects: morphology of the doubly committed juxtaarterial and muscular variants. *Images Paediatr Cardiol* 2000;4:523.
- 25) Freedom RM, Mawson JB, Yoo SJ, Benson NL, Congenital Heart Disease; *Textbook of Angiocardiography*. Armonk NY: Futura publishing Co. Inc. 1997;
- 26) Levin AE, Spach MS, Canent RV Jr, et al. Ventricular pressure-flow Dynamics in ventricular septal defect. *Circulation*. 1967;35:430-41.
- 27) Jarmakani MM, Graham TP Jr, Canent RV Jr, et al. Effect of site of shunt on left heart volume characteristics with ventricular septal defect and patent ductus arteriosus. *Circulation*. 1969;40:411-8.
- 28) Rabinovitch M, Keane JF, Norwood WI, et al. Vascular structure in lung tissue obtained at biopsy correlated with pulmonary hemodynamic findings after repair of congenital heart defects. *Circulation*. 1984;69:655-67.
- 29) Gumbiner CH, Takao A. Ventricular septal defect. In: Garson Jr. A, Bricker JT, Fisher DJ, Neish SR, *The science and practice of pediatric cardiology*, 2.ed. Baltimore: Williams&Wilkins, 1998;1:1119-40.
- 30) Van Hare GF, Soffer LJ, Sivakoff MC, et al. Twenty-five-year experience with ventricular septal defect in infants and children. *Am Heart J*. 1987;114:606-14.
- 31) Houston AB, Lim MK, Doig WB, et al. Doppler assessment of the interventricular pressure drop in patients with ventricular septal defects. *Br Heart J*. 1988;60: 50-6.

- 32) Switzer DF, Nanda NC. Doppler color flow mapping. *Ultrasound Med Biol.* 1985;11: 403–16.
- 33) Sağın G. Echocardiographic evaluation of ventricular septal defects. *Arch Turk Soc Cardiol.* 2006;34:110-25.
- 34) Onat T, Sağın G. İnterrelations between echocardiographic measurements of left ventricle, left atrium, ascending aorta, defect diameter and pulmonary arterial pressure in isolated ventricular septal defect. *Türk Kardiyol Dern Arş,* 1992;20: 280-9.
- 35) Houston AB, Lim MK, Doig WB, et al. Doppler assessment of the interventricular pressure drop in patients with ventricular septal defects. *Br Heart J.* 1988;60: 50–6.
- 36) Goor DA, Edwards JE, Lillehei CW, The development of the inter ventricular septum of the human heart; correlative morphogenetic study. *Chest.* 1970;58: 453-67.
- 37) Bassil R, Acar P, Abadir S, et al. New approach to perimembranous ventricular septal defect by real-time 3D echocardiography. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2006 ;99:471-6.
- 38) Mercer-Rosa L, Seliem MA, Fedec A et al. Illustration of the additional value of real-time 3-dimensional echocardiography to conventional transthoracic and transesophageal 2-dimensional echocardiography in imaging muscular ventricular septal defects: *J Am Soc Echocardiogr.* 2006 ;19:1511-9.
- 39) Stewart JM, Hintze TH, Woolf PK, et al. Nature of heart failure in patients with ventricular septal defect. *Am J Physiol* 1995;269:1473–80.
- 40) Merrick AF, Lal M, Anderson RH, Shore DF, Management of ventricular septal defect: a survey of practice in the United Kingdom. *Ann Thorac Surg.* 1999;68: 983-8.
- 41) Lock JE, Block PC, McKay RG, et al. Transcatheter closure of ventricular septal defects. *Circulation.* 1988;78: 361–8.
- 42) Bridges ND, Perry SB, Keane JF, et al. Preoperative transcatheter closure of congenital muscular ventricular septal defects. *N Engl J Med.* 1991;324:1312–7.
- 43) Alison L.K, James EL et. al. Transcatheter device closure of congenital and

postoperative residual ventricular septal defects. *Circulation*. 2004;110:501-7.

44) Moe DG, Guntheroth WG. Spontaneous closure of uncomplicated ventricular septal defect. *Am J Cardiol* 1987;60: 674-8.

45) Van Praagh R, McNamara JJ. Anatomic types of ventricular septal defect with aortic insufficiency. *Am Heart J*. 1968;75: 604-19.

46) Tatsuno K, Konno S, Ando M, Sakakibara S. Pathogenetic mechanisms of prolapsing aortic valve and aortic regurgitation associated with ventricular septal defect. *Circulation*. 1973; 48:1028-37.

47) Madaule P, Axel R. A novel ras-related gene family. *Cell* 1985:31-40.

48) Takai Y, Sasaki T, Matzaki T. Small GTP-Binding Proteins. *Physiol Rev* 2001: 1, 153-208.

49) Shibata R, Kai H, Seki Y, Kato S, Morimatsu M, Kaibuchi K, Imaizumi T. Role of Rho-associated kinase in neointima formation after vascular injury. *Circulation*. 2001, 16;103:284-9.

50) Chitale K, Wingard CJ, Clinton Webb R, Branam H, Stopper VS, Lewis RW, Mills TM. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway. *Nat Med*. 2001 ;7:119-22.

51) Casey PJ, Seabra MC. Protein prenyl transferases. *J Biol Chem*. 1996;5289-92.

52) Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J*. 2000;241-55.

53) Olofsson B. Rho guanine dissociation inhibitors: pivotal molecules in cell signaling. *Cell Signal* 1999;545-54

54) Zheng Y. Db1 family guanine nucleotide Exchange factors. *Trends Biochem Sci*. 2001 ;724-32.

- 55) Amano M, Fukata Y and Kaibuchi K. Regulation of cytoskeleton and cell adhesion by the small GTPase Rho and its targets. *Trends Cardiovasc Med.* 1998; 162-8.
- 56) Hirano K. Current topics in the regulatory mechanism underlying the  $\text{Ca}^{+2}$  sensitization of the contractile apparatus in vascular smooth muscle. *Journal of Pharmacological Scie.* 2007; 109-15
- 57) Miura Y, Kikuchi A, Musha T, et al. Regulation of morphology by rho p21 and its inhibitory GDP/GTP exchange protein (rho GDI) in Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem,* 1993;510-15.
- 58) Buhl AM, Johnson NL, Dahanasekaran N, et. al. G alpha 12 and G alpha 13 stimulate Rho- dependent stress fiber formation and focal adhesion assembly. *J Biol Chem,* 1995;24631-4
- 59) Miao L, Dai Y, Zhang J. Mechanism of RhoA/Rho kinase activation in endothelin-1-induced contraction in rabbit basilar artery. *Am J Physiol.* 2002; 983-9
- 60) Chitale K, Webb RC. Microtubule depolymerization facilitates contraction of rat aorta via activation of Rho-kinase. *Vasc Pharmacol,* 2002;157-61.
- 61) Coussin F, Scott RH, Wise A. Et al. Comparison of sphingosine 1-phosphate-induced intracellular signaling pathways in vascular smooth muscles differential roles in vasoconstriction. *Circ Res.* 2002; 151-7.
- 62) Shirao S, Kashiwagi S, Sato M, Et al. Sphingosylphosphorylcholine is a novel messenger for Rho-kinase mediated  $\text{Ca}^{2+}$  sensitization in the bovine cerebral artery: unimportant role for protein kinase C. *Circ Res.* 2002; 112-9.
- 63) McGregor E, Gosling M, Beattie DK, et al. Circumferential stretching of saphenous vein smooth muscle enhances vasoconstrictor responses by Rhokinase-dependent pathways. *Cardiovasc Res.* 2002; 216-9.
- 64) Amerongen GPN, Delft A, Vermeer MA et al. Activation of RhoA by thrombin in endothelial hyperpermeability role of Rho kinase and protein tyrosine kinase. *Circ Res.* 2000; 335-40
- 65) Büyükafşar K, Arıkan O, Ark M, Kubat H, Özveren E. Upregulation of Rho-kinase (ROCK-2) expression and enhanced contraction to endothelin-1 in the mesenteric

artery from lipopolysaccharide-treated rats. *European Journal of Pharmacology*. 2004; 211-7

66) Kandabashi T, Shimokawa H, Mukai Y, et al. Involvement of rho-kinase in agonist-induced contractions of arteriosclerotic human arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 243-8.

67) Ai S, Kuzuya M, Koike T et al. Rho-Rho kinase is involved in smooth muscle cell migration through myosin light chain phosphorylation and independent pathways. *Atherosclerosis*. 2001; 321-7.

68) Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006 ;290:661-8.

69) Kureishi Y, Kobayashi S, Amano M, Kimura K, Kanaide H, Nakano T, Kaibuchi K, Ito M. Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem*. 1997; 9;272;12257-60.

70) Fukata Y, Amano M, Kaibuchi K. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol Sci*. 2001;22:32-9.

71) Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, Yamamori B, Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science*. 1996;12;273:245-8.

72) van Nieuw Amerongen GP, van Hinsbergh VW. Cytoskeletal effects of rho-like small guanine nucleotide-binding proteins in the vascular system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:300-11.

73) Matsumoto Y, Uwatoku T, Oi K, Abe K, Hattori T, Morishige K, Eto Y, Long-term inhibition of Rho-kinase suppresses neointimal formation after stent implantation in porcine coronary arteries: involvement of multiple mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:181-6.

74) Utsunomiya T, Satoh S, Ikegaki I, Toshima Y, Asano T, Shimokawa H. Antianginal effects of hydroxyfasudil, a Rho-kinase inhibitor, in a canine model of effort angina. *Br J Pharmacol*. 2001;134:1724-30.

- 75) Yamamoto Y, Ikegaki I, Sasaki Y, Uchida T. The protein kinase inhibitor fasudil protects against ischemic myocardial injury induced by endothelin-1 in the rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000 ;35:203-11.
- 76) Demiryürek S, Kara AF, Celik A, Babül A, Tarakçıoğlu M, Demiryürek AT. Effects of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on myocardial preconditioning in anesthetized rats. *Eur J Pharmacol.* 2005;19;527:129-40
- 77) Demiryürek S, Kara AF, Celik A, Tarakçıoğlu M, Bağcı C, Demiryürek AT. Effects of Y-27632, a selective Rho-kinase inhibitor, on myocardial preconditioning in anesthetized rats. *Biochem Pharmacol.* 2005 ;69:49-58.
- 78) Gohla A, Schultz G, Offermanns S. Role for G(12)/G(13) in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. *Circ Res.* 2004;87:221-7.
- 79) Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology. *J Mol Med.* 2002;80:629-38.
- 80) Sakurada S, Takuwa N, Sugimoto N, Wang Y, Seto M, Sasaki Y, Takuwa Y. Ca<sup>2+</sup>-dependent activation of Rho and Rho kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. *Circ Res.* 2003;19;93:548-56.
- 81) Boer C, van der Linden PJ, Scheffer GJ, Westerhof N, de Lange JJ, Sipkema P. RhoA/Rho kinase and nitric oxide modulate the agonist-induced pulmonary artery diameter response time. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002 ;282:H990-8.
- 82) Weber DS, Webb RC. Enhanced relaxation to the rho-kinase inhibitor Y-27632 in mesenteric arteries from mineralocorticoid hypertensive rats. *Pharmacology.*2001;63:129-33.
- 83) Batchelor TJ, Sadaba JR, Ishola A, Pacaud P, Munsch CM, Beech DJ. Rho-kinase inhibitors prevent agonist-induced vasospasm in human internal mammary artery. *Br J Pharmacol.* 2001 ;132:302-8.
- 84) Seasholtz TM, Wessel J, Rao F, Rana BK, Khandrika S, Kennedy BP. Rho kinase polymorphism influences blood pressure and systemic vascular resistance in human twins: role of heredity. *Hypertension.* 2006 ;47:937-47.

- 85) Carter RW, Begaye M, Kanagy NL. Acute and chronic NOS inhibition enhances alpha(2)- adrenoreceptor-stimulated RhoA and Rho kinase in rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002 ;283:H1361-9.
- 86) Zhao Q, Wang L, Yang W, Chen S, Huang J, Fan Z, Li H, Lu X, Gu D. Interactions among genetic variants from contractile pathway of vascular smooth muscle cell in essential hypertension susceptibility of Chinese Han population. *Pharmacogenet Genomics.* 2008;18:459-66.
- 87) Del Re DP, Miyamoto S, Brown JH. RhoA/Rho kinase up-regulate Bax to activate a mitochondrial death pathway and induce cardiomyocyte apoptosis. *J Biol Chem.* 2007;16;282:8069-78.
- 88) Sugimoto M, Nakayama M, Goto TM, Amano M, Komori K, Kaibuchi K. Rho-kinase phosphorylates eNOS at threonine 495 in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;21;361:462-7.
- 89) Rao F, Wessel J, Wen G, Zhang L, Rana BK, O'Connor DT. Renal albumin excretion: twin studies identify influences of heredity, environment, and adrenergic pathway polymorphism *Hypertension.* 2007 ;49:1015-31.
- 90) Gökçe İK, Sungur M, Baysal K, Günel N ve ark. İzole VSD'li çocuklarda cerrahi öncesi ve sonrası aort kapak prolapsusu ve yetersizliğinin değerlendirilmesi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Derneği,* 2008;36: 53-4