

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Fatih ÖZÇELİK

**LİPOPROTEİN A VE GEN POLİMORFİZMİ İLE
AORT KAPAK KALSİFİKASYONU
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Uğur ÖZKAN

EDİRNE - 2017



TEŞEKKÜR

Kardiyoloji uzmanlık eğitimimi en iyi koşullarda tamamlamamı sağlayan ve benden desteğini esirgemeyen başta değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fatih Özçelik'e ve Trakya Üniversitesi Kardiyoloji ABD başkanı Sayın Prof. Dr. H. Yekta Gürlertop'a ve diğer öğretim üyelerine, asistan arkadaşlarıma ve Biyofizik ABD da yardımcı olan Metin Budak'a teşekkür ederim.

Ayrıca hayatımda bu günlere gelmemde, zorlu ve uzun tıp eğitimimde destekleri ile her zaman yanımda olan sevgili aileme ve eşim Mervegül Özkan'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
AORT KAPAĞIN KALSİFİK HASTALIĞI	3
KLİNİK BULGULAR	10
TANI	10
TEDAVİ	13
GEREÇ VE YÖNTEMLER	14
BULGULAR	22
TARTIŞMA	34
SONUÇLAR	37
ÖZET	39
SUMMARY	41
KAYNAKLAR	43
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

A	: Adenin
ACE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
AGT	: Anjiotensinojen
C	: Sitozin
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deokasirobonükleitik asit
EKO	: Ekokardiyografi
G	: Guanin
GAG	: Glikozaminoglikan
HT	: Hipertansiyon
KAD	: Kalsifik Aort Darlığı
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KAG	: Koroner Anjiografi
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
Lip (a)	: Lipoprotein A
MMP	: Matriks metalloproteinaz
NCEP	: Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
OR	: Odds Ratio
OPG	: Osteoprotegerin
PG	: Proteoglikan
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
T	: Timin

GİRİŞ VE AMAÇ

Kalsifik aort kapak hastalığı (kalsifik aort darlığı, KAD), kan akımına engel oluşturmayan hafif kapak kalınlaşmasından; aort sklerozu, yaprakçık hareket kısıtlılığı oluşturup sol ventrikülden aortaya kan akışını engelleyen ciddi kapak kalsifikasyonuna kadar devamlılık gösteren ilerleyici bir süreçtir (1,2). Yaygınlığı yaşla beraber artan ve Avrupa Kardiyoloji Birliğinin (ESC) yaptığı toplumsal çalışmalarda 65 yaş üstü nüfusta % 2-7 arasında saptanan hastalık erişkin yaşta en sık kazanılan kalp kapak hastalığıdır (3). Önceleri yaşlanmaya bağlı pasif dejenerasyon ve kalsifik depozitlerin birikmesi olarak değerlendirilen kalsifik aort kapak hastalığı, günümüz çalışmalar ışığında artık lipoprotein birikmesi, kronik inflamasyon ve aktif yaprakçık kalsifikasyonu ile giden aterosklerozdaki gibi dinamik bir süreç olduğunu ortaya çıkmıştır (4-6). Erken dönem kapak hastalığı, endotel disfonksiyonunun öncül belirtileri ile karakterizedir. Stenotik kapağa sahip hastalarda ateroskleroz patofizyolojisine benzer şekilde bazal membran bütünlüğünün bozulmasıyla başlayan süreçte, subendotelyal intraselüler lipit ve lipoprotein depolanması ve akabinde T hücre infiltrasyonu ve inflamasyonu izlenmiştir (7-9).

Klinik risk faktörleri olarak yaş, erkek cinsiyet, sigara içiciliği, DM, HT, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yüksekliği, lipoprotein a [Lip (a)] yüksekliği gibi etkenler tanımlanmasının yanı sıra hastalarda son dönemlerde genetik varyasyonların da etkili olabileceği yönünde verilere ulaşılmıştır. Özellikle 2015 yılında Rashedi ve ark. (10) yaptığı çalışmada, Lip (a) sentezini sağlayan gen lokusunda bulunan polimorfizmin bunu etkileyebileceğini göstermiştir.

Çalışmamızda; hastanemiz kardiyoloji kliniğine başvuran ve ekokardiyografik inceleme yapılan hastalarda Lip (a) değeri ve gen polimorfizmleri ile KAD gelişmesinde rol oynayan genetik faktörleri arasındaki ilişkiye ışık tutmayı amaçladık.



GENEL BİLGİLER

AORT KAPAĞIN KALSİFİK HASTALIĞI

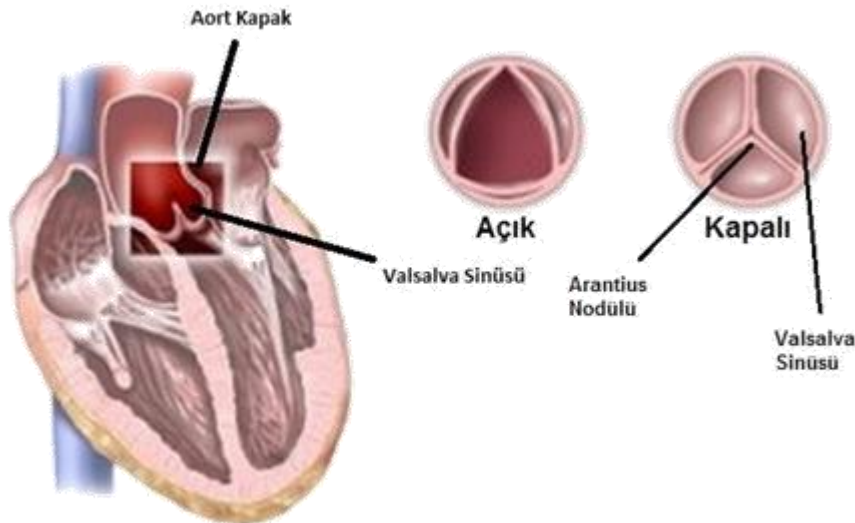
Epidemiyoloji

Gelişmiş toplumlarda rastlanan en sık kapak hastalığıdır (11). Güncel ESC verilerine göre toplumda %2-7 oranında saptanmaktadır (3). Bu rakamın 80 yaş üstü hasta serilerinde %13'e kadar çıktığı bildirilmektedir (11). Güncel sağlık verileri yıllık 50,000 (Avrupa kıtasında)' den daha fazla kişinin bu nedenle kardiyak cerrahiye ihtiyaç duyduğunu göstermektedir (12).

Histoloji

Sol ventrikül ve aort arasında fonksiyon gösteren sağlıklı bir aort kapak 3 katman ihtiva eden bir yapıya sahiptir. Bu tabakalar; elastin liflerden zengin olan ve ventriküler yüzde bulunan ventriküler tabaka, fibroblast ve kollajen yönünden zengin olan aorta komşu yüzdeki fibröz tabaka ve iki katmanın arasında bulunan gevşek bağ dokusu yönünden zengin olan lamina spongiozadır. Kapak, yapı taşı olarak kollajen, elastin ve glikozaminoglikan (GAG) ihtiva eder. Kapakçıkların ventriküler tabakasının sol kaviteye bakan yüzü radyal yönde non-kardiyak yüzü ise vertikal olarak sıralanmış elastinden zengin fibriller bulundurur. Bu fibriller kollajen ile oluşturduğu özel sarmal sayesinde, geçen akımın azalmasıyla aortik kapakları başlangıç konumuna döndürmektedir. Bunu ejeksiyon esnasında kısalma, istirahatte ise uzama ile sağlar. Sistol esnasında elonge gerimi meydana gelen elastin lifler yardımıyla

kapak gevşeme fazına geçmektedir. Bu sayede ventriküler tabaka esnekliği sağlamaktadır. Fibröz tabaka ise fibroblast ve kollajenden zengin olup mekanik strese maksimum direnç gösteren tabakadır. Fibröz ve ventriküler tabakalar arasında yer alan spongioz tabaka fibroblast, mezenkimal, mukopolisakkarit ve sudan zengin olup kapağa hareketlilik ve esneklik sağlamaktadır. Elastin lifler çoğunlukla kapağın ventrikül yüzünde bulunmakta olup az miktarda spongioz kat içinde de yerleşmişlerdir. Bu lifler mikrofibriller ile kaplanmışlardır. Bunların çoğu Fibrillin-1, az kısmı ise Fibrillin-2 den ibarettir. Bu mikrofibriller glukoproteinler ve fibulinlerden zengindir ve elastin lifler için fleksibilitiyi sağlamaktadır. GAG ve proteoglikanlar (PG) spongioz katın ana yapısal proteinleridir. Sulfataz ve karboksilaz aktiviteleri sonucunda elde ettikleri negatif yük su moleküllerini birleştirmekte ve kapağın viskoelastikliğini oluşturmaktadır. GAG ve PG aynı zamanda fleksibilitiyi sağlar ve böylece kan akımı tek yönlü; yani, sol ventrikülden aortaya doğru sağlanır. Dejenere olmuş aort kapakta bu özellik bozulmaktadır. Makroskopik olarak yaşlılıkla birlikte kapak diffüz olarak kalınlaşmakta ve Arantius nodülü belirginleşmektedir (Şekil 1). Elastin ve kollajen liflerin miktarı ve düzeni bozulmaktadır, bu liflerin yerini daha çok PG doldurmaktadır. Matriks metaloproteinaz (MMP) ve katepsin, elastaz S ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesine neden olmaktadır. Fibröz tabakada osteokalsin ve osteonektin birikmekte olup kapağın interstisyel hücrelerinde osteoblastik farklılaşmayı başlatmaktadır. Miyofibroblastların toplanması sonucunda elastin yıkımı gelişmektedir (13).



Şekil 1. Aort kapağının kesitsel görünümü ve Arantius nodülü (14)

Patofizyoloji

Aort kapağın kalsifik hastalığının, yakın geçmişe kadar zamanla oluşan dejenerasyon ve bu nedenle kalsiyum depozitlerinin birikmesiyle oluştuğu düşünülmüştür. Bu nedenle geçmiş dönemde dejeneratif kapak hastalığı olarak adlandırılmıştır. Ancak günümüz mikroskopik incelemesinde, dinamik kalsifikasyonla progresyon gösteren aterojenik lipidlerin rol aldığı endotel disfonksiyonunun eşlik ettiği bir süreç olduğu gösterilmiştir.

Kalsifik aort hastalığının öncül aşamasında, kapağın aorta bakan katmanına ait endotelyal yapının altından destek dokuya doğru uzanan aterom plakına benzer lezyonlar izlenmektedir (8).

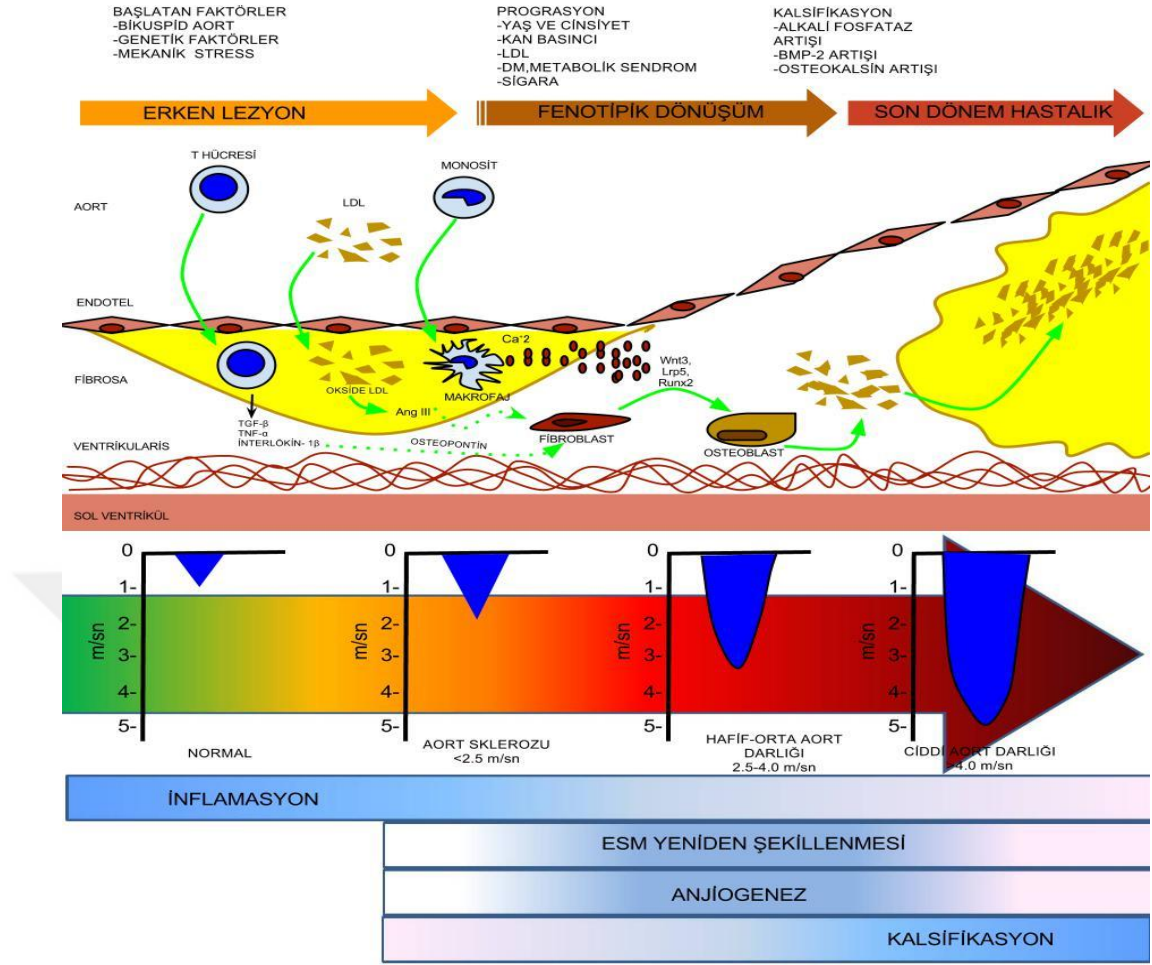
Diğer bir görüşe göre ise aort kapağında kan akımının oluşturduğu mekanik stres, aterojenik etmenlerin varlığında, yaprakçıktaki endotel hücrelerde fonksiyon kaybına ve geçirgenlik artışına neden olur. İnterstisyel boşlukta biriken LDL partikülleri oksidasyona uğrar. Aterojenik yapıya kavuşan LDL partikülleri bu bölgedeki ve organizmadaki inflamatuvar kaskatı harekete geçirir (Şekil 2). Böylece kapaktaki interstisyel hücreler osteoblastik değişime uğrar ve etkin bir osteoblastik döngü başlar (1).

Bu bilgiler ışığında aort sklerozunu aşağıdaki alt başlıklar ile incelememiz gerekmektedir (1).

1. Endotel disfonksiyonu
2. İnflamasyon
3. Anjiogenez
4. Ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi
5. Kalsiyum depozitlerinin birikmesi

Endotel Disfonksiyonu

Kalsifik aort darlığı olan bireylerde yapılan moleküler çalışmalarda, endotelin normal fonksiyonlarını kaybettiği gösterilmiştir. Başlıca gösterilen moleküler değişimler; plazma E-selektin düzeylerinde artış (özellikle ciddi KAD' ı hastalarda) patoloji piyeslerinde gösterilen CD31, CD34, von Willebrand faktör ve CEACAM1 (carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule) gibi endotelyal belirteçlerin ekspresyonunda artış, radyolojik olarak ateroskleroz ile ilişkisi gösterilen karotis intima medya oranında artış ve endotel kaynaklı post-iskemik damar genişlemesinde bozulma saptanmıştır (15-18).

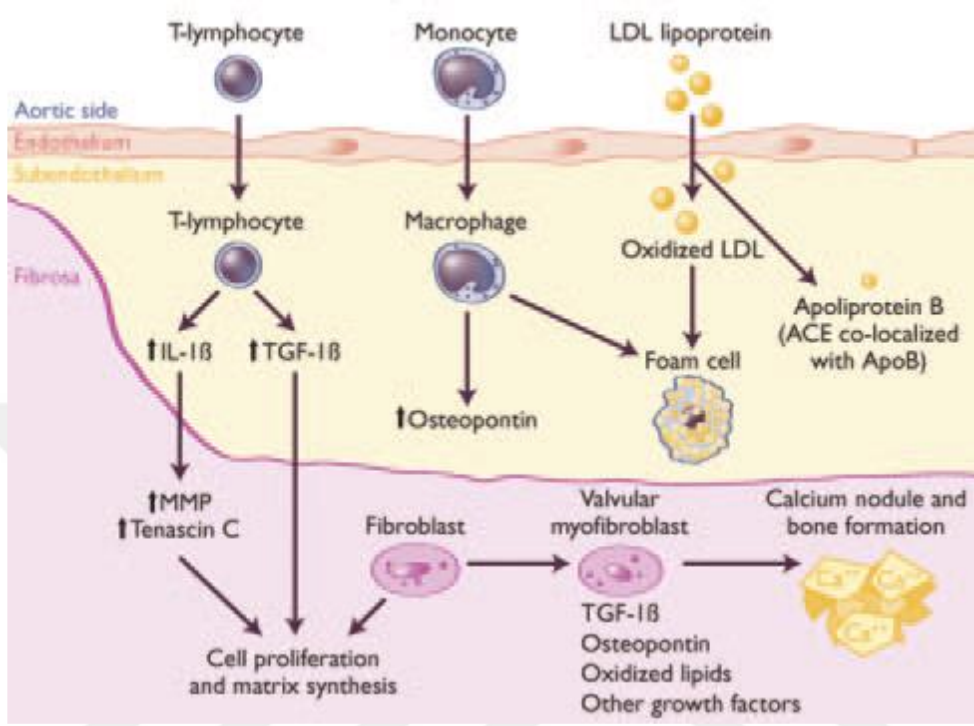


Şekil 2. Kalsifik aort darlığının etiopatogenezi (19)

İnflamasyon

Sağlıklı aort kapak yapısında inflamasyonda görevli hücreleri ihtiva etmemesine karşın aort sklerozunun erken dönem lezyonlarında baskın olan hücreler, inflamatuvar hücrelerdir. Adezyon molekülleri sayesinde endotelden içeri sızan monosit hücreleri makrofajlara diferansiye olurlar ve T lenfositleri aktive ederler. Tetiklenen bu kaskat neticesinde dokuya sitokinler ile beraber adezyon molükülleri salınır ve interlökin 1b, TGF- β (transforming growth factor- β), TNF- α (tumor necrosis factor- α), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), HSP-60 (Heat Shock Protein-60), eotaxin-3 ve interferon- γ gibi inflamasyonda rol alan moleküller açığa çıkar. Bu moleküller ayrıca lokal metalloproteinazları aktive ederek ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesine ve kalsifikasyona neden olurlar (Şekil 3). Ayrıca kalsifiye aort kapak

yapraklarında bulunan Tenascin C, MMP ile beraber salınan ve büyümeyi, kemikleşmeyi ve mineralizasyonu tetikleyen başka bir faktördür (20-23).



Şekil 3. Kalsifik aort darlığının potansiyel patolojik yolları (1)

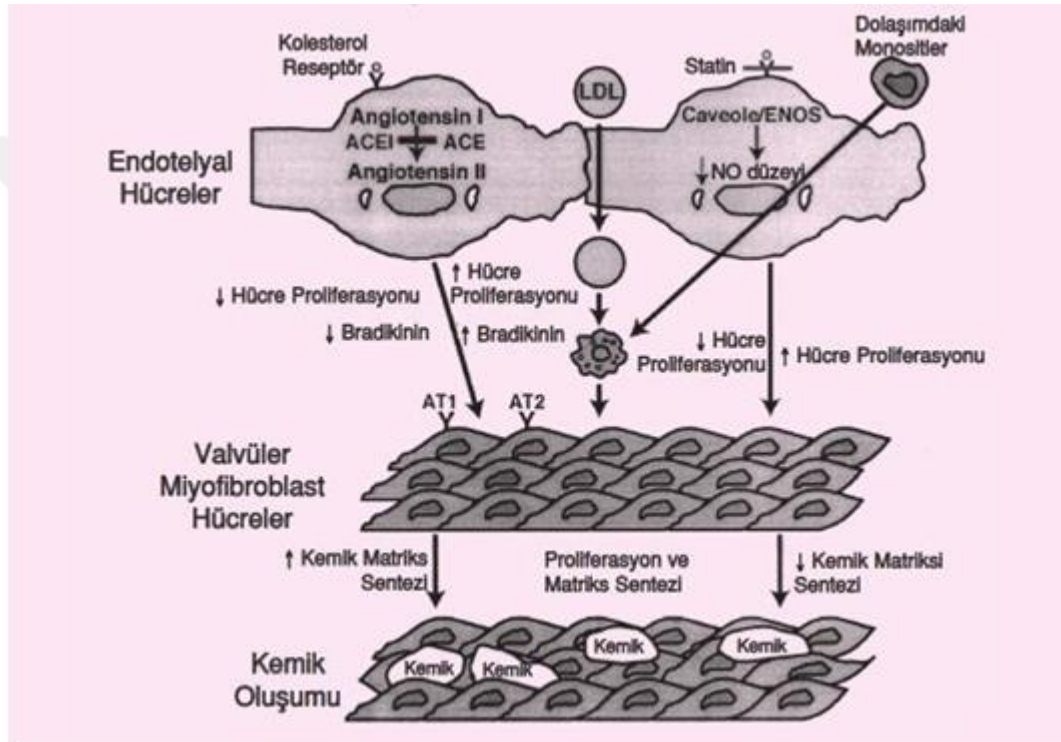
Anjiogenez

Aort kapakta normalde vasküler yatak mevcut değildir ve difüzyon aracılığı ile beslenmektedir. Ancak inflamasyon kaskadının başlaması ve ekstrasellüler yatakta yeniden şekillenme meydana gelmesiyle beraber lökositler VEGF-A (vascular endothelial growth factor A) gibi anjiogenezde rol alan faktörleri salmaya başlar. Bu nedenle interstisyel alandaki hücrelerde artmış anjiogenik aktivite mevcuttur. Bu sayede aort sklerozunun erken evresinde kapak vasküler bir yapı kazanmaya başlar. Fakat kalsifikasyon ilerledikçe ve depozitler birikmeye başladıkça bu vaskülerite azalır (24,25).

Ekstrasüer Matriksin Yeniden Şekillenmesi

Kalsifik aort darlığında, inflamasyon sürecinde salınan sitokinler ve aktive olan metalloproteinazlar nedeniyle ekstrasellüler bölgenin fizyolojisi değişir. Bu süreçte hücre migrasyonu, bazal membran ve hücre adezyon moleküllerinin yıkımı ve çeşitli yollarda

aktivasyon ve deaktivasyon meydana gelir (Şekil 4). Diğer bir önemli noktada sklerotik bölgede tespit edilen ACE (anjiyotensin converting enzyme)' dir. Lokal olarak üretildiği gösterilse de büyük bölümü LDL reseptör ligandı olarak davranan apolipoprotein B ve LDL ile taşınır. ACE enzimatik olarak aktiftir ve monosit infiltrasyonu tetikleyen ve aterosklerotik lezyonlara modifiye LDL nin transportunu artıran Anjiyotensin II nin dönüşümünden ve bradikinin yıkımından sorumludur (26,27).



ENOS: Endotelial nitrik oksit sentaz, NO: Nitrik oksit, ACE: Anjiyotensin converting enzyme, AT 1,2: Anjiyotensin 1,2 reseptörleri.

Şekil 4. Aort kapak dejenerasyonu ve kalsifikasyonu (28)

Kalsifikasyon

İlk dönemlerde düzensiz mikrokalsifikasyon kümeleri halinde görülen biyomineralizasyon geç dönemlerde mikrofraktür ve hematopoetik dokuları kapsayan lamellar kemik özelliği barındırır (Şekil 5). Skleroz derecesi arttıkça alkalın fosfataz, osteopontin, osteokalsin, osteoprotegerin (OPG) ve kemik sialoproteini gibi pek çok osteoblastik biyomarkırın seviyesi yükselir. Skleroza neden olan endokondral kemikleşme fizyolojik olgun kemik formasyonu ile ortak pek çok özelliği barındırmasının yanı sıra

inflamasyon ve neoanjiogenez ile benzer özellikler göstermektedir (29,30). Döngünün inflamasyonda rol oynayan hücrelerin salgıladığı non-kollajen matriks proteinlerinin sürdürdüğü düşünülmektedir. Bu sistemin en çok kullandığı sinyal yolağının Wnt sinyal sistemi daha sonra ise anjiotensin/kinin ve OPG/RANKL/RANK yolakları olduğu düşünülmektedir (31).

Tüm bu süreç TNF- α ailesinin şemsiyesi altında gerçekleşmektedir. Valvüler interstisyumu oluşturan hücreler TNF- α üyesi RANKL, RANK reseptörü ile Nükleer Faktör Kappa B'yi tetikler. Bu durum interstisyel hücreleri osteoblastlara dönüştüren Runx2 transkripsiyon faktörünün DNA ya bağlanmasını artırır. Bu sürecin inhibitörü OPG faktörüdür. Ama sklerotik kapaklarda RANKL/OPG düzeyi RANKL faktörü lehine değişmiştir (32-34)

Lipoproteinler

Kalsifik aort darlığında, yaprakçıktaki bazı subendotel alanlardaki elastik laminanın yerini alan ve komşu fibroza tabakasına uzanan ekstrasellüler lipit birikimi izlenir. Bu lipit birikiminin izlendiği alanlara komşu olan bölgelerde, plazma lipoproteinlerinden elde edilen apolipoprotein B, Lip (a), apolipoprotein E birikimi izlenmiştir. Oksidatize olan LDL'ler proinflamatuvar ve büyümeyi tetikleyici özellik göstermekle beraber makrofajlar tarafından fagositoza uğradıktan sonra aterosklerotik lezyonlara benzer özellik gösteren köpüksü hücrelere dönüşür (35,36).



Şekil 5. Aort kapağındaki lipokalsifik değişimler ile kapaktaki erken ve geç dönem lezyonların histopatolojik görünümü (1)

KLİNİK BULGULAR

Semptomlar

Hastaların başvuru esnasındaki ana semptomlar egzersiz dispnesi, halsizlik, angina ve senkoptur. Bu semptomlar genellikle eforla ortaya çıktığı için hastalar kendilerini efordan kısıtlamakta ve daha sedanter yaşama yöneltmektedirler. Hastalığın ilerleme süreci yavaş olduğundan semptomlar genellikle iki yaprakçıklı kapakta 50-70 li yaşlar arası ve üç yaprakçıklı kapakta ise 70 ve üzeri yaşlarda ortaya çıkmakta, bu nedenle efor kısıtlılığı normal kabul edilmekte ve hastaların hastaneye ilk başvurusunu geciktirmektedir. Bu nedenle daha az olsa bile ilk başvuru şikâyetleri kalp yetmezliği bulguları ve daha nadir olmakla beraber ani kardiyak ölüm olabilmektedir (37).

Fizik Muayene

Hastalarda aortik odaktan başlayıp boyna yayılan karakteristik üfürüm en değerli fizik muayene bulgusudur. Ayrıca kalp yetmezliği gelişen hastalarda bu lehte bulgular saptanabilir. Yine sol ventrikül çıkış yolu darlığı oluşturan hastalıklarda (en sık neden kalsifik aort darlığıdır) saptanan başka bir fizik muayene bulgusu da pulsus parvus et tardus denen yavaş yükselip geç pik yapan zayıf amplitütlü nabızdır. Bu hastalarda üfürüm en bariz olarak sağ ikinci interkostal aralıkta ve suprasternal çentikte sistol esnasında duyulur. Valsalva manevrası ve ayağa kalkmakla azalıp çömelme ile artar. Evrensel kural olarak üfürüm kuvveti artıp doruk noktaya ulaşma zamanı uzadıkça darlığın (yani S² ye yaklaştıkça) ciddiyetinin arttığı kabul edilir (37).

TANI

Kapak hastalıklarında olduğu gibi KAD tanısı, hastalığın ilerleyişi, yaprakçık anatomisinin durumu ve kalsifikasyonun ciddiyeti hakkında kullanılan rutin yöntem Transtorasik Ekokardiyografidir (TTE).

Transtorasik Ekokardiyografi

Transtorasik ekokardiyografi ile aortik kapak alanı (AKA) ve antegrade velosite hesaplanarak ise kapak gradiyenti ölçülebilir ve kapak darlığının ciddiyeti belirlenebilir. TTE ile ek olarak sol ventrikül fonksiyonları, ilave kapak hastalıkları gibi parametreler belirlenerek tedavi modalitesi için yönlendirici ve karar verdirici değerler hesaplanabilir.

M-mod Ölçüm

Dopler tekniğinden önce popüler bir metod olsa da Dopler ekokardiyografinin gelişmesi sonucu popülaritesini yitirmiş bir yöntemdir. Teknik, parasternal uzun aksta aort kapakların sistolde maksimum açıldığı esnada ölçümüne dayanmaktadır. Kapak açıklığının <11 mm olduğu durumlarda aort kapak alanının <0,75 cm² den küçük olduğu, buna karşılık açıklık >13 mm olduğu durumlarda ise aort kapak alanının >1 cm² olduğu kabul edilmektedir (38).

Dopler Ekokardiyografi

Maksimum ve ortalama basınç gradiyenti ölçümü vererek kalsifik aort darlığının tanısı ve takibinde en sık ve güvenle kullanılan metod haline gelmiştir.

Maksimal basınç gradiyenti CW (continuous wave) Doppler ile akım hızı ölçülerek sadeleştirilmiş Bernoulli denklemi ($P=4V^2$) yardımıyla hesaplanır (39). Sol ventrikül işlevi normal olan kişilerde akım hızına göre AKA değerlendirmesi şu şekildedir: Akım hızı >4 m/s ise AKA <0.75 cm², akım hızı <3 m/s ise AKA >1 cm² olarak kabul edilebilir (Tablo 1). Şayet akım hızı 3 ile 4 m/s arasında ise AKA öbür yollar ile hesaplanmalıdır. Hastaların bazal aort akım hızları prognozlarıyla de yakından ilişkilidir: asemptomatik olan hastalarda yapılmış olan bir çalışmada bazal akım hızı <3 m/s olanlarda senelik semptomların meydana geliş hızı %8 iken akım hızı 3-4 m/s arasında olanlarda bu ölçüt %17 ve >4 m/s olanlarda %40 olarak bulunmuştur (40).

Ortalama basınç gradiyenti, kalp kateterizasyonu ile kıyaslandığında maksimum basınç gradiyentinden daha uyumlu sonuçlar elde edildiği saptanmıştır. Ortalama gradiyent <20 mmHg ölçüldüğünde AKA'nın >1cm² olduğu, gradiyent >50 mmHg olduğunda ise alanın <0,75 cm² den küçük olduğu kabul edilmektedir (41).

Kardiyak Kateterizasyon

Ekokardiyografi tanı ve takipte büyük ölçüde yeterli olmasına rağmen ekojenitenin yetersiz olduğu veya jet akımına ultrason dalgalarının paralel düşülemediği gibi durumlarda daha ileri inceleme gerekliliği duyulabilir. Böyle durumlarda kardiyak MR büyük bir alternatif olmasına rağmen ulaşım zorluğu ve görüntüleri değerlendirecek uzman ekibin bulunmaması bu seçeneği maalesef kısıtlamaktadır. Kardiyak BT ciddi kapak kalsifikasyonunu (>1,000 Agatston ünite), transaortik kapak replasmanına gideceklerde

anülüs çapını leaflet yapısını ve uzunluğu ile anülüs koroner osteum mesafesini göstermede kullanışlı olmasına rağmen AD ciddiyetini değerlendirmede yetersizdir (42).

Tablo 1. Aort kapak darlığı ciddiyetinin sınıflandırılması (41)

	Hafif	Orta	İleri
Maximum	10-40 mmHg	40-70 mmHg	70-100 mmHg (>100
Gradyent			çok ileri)
Ortalama	<20 mmHg	20-40 mmHg	>40 mmHg
Gradyent			
AKA	1,5cm ²	1,5-1cm ²	<1cm ²
Boyutsuzluk oranı	0,50	0,25-50	<0,25
Vmaks	<3m/s	3-4m/s	>4m/s
AKA VYA Oranı	>0,85cm ² /m ²	0,85-0,60 cm ² /m ²	<0,60cm ² /m ²

Bu gibi noninvaziv durumların yetersiz olduğu veya klinik ile ölçümlerin uyuşmadığı durumlarda kardiyak kateterizasyon önerilmektedir. Transaortik ortalama basınç gradyenti bize kapağın ciddiyeti hakkında fikir verir. Fick veya termodilüsyon kardiyak output ölçümünün Gorlin formülü ile değerlendirilmesi ile Aort kapak alanı bulunabilir (43).

Egzersiz Testi

Semptomatik hastalarda kesinlikle yapılmaması gereken bu değerlendirme metodu aort kapak ölçümleri ciddi olan ama semptom tariflemeyen hastaların değerlendirmesinde kullanılabilir. Velositesi 4,0 m/s ve üstü ölçülen ve ortalama gradyenti 40 mmHg ve fazlası saptanan hastalarda objektif ölçümlerde asemptomatik olduğunu görmek bize yaşam beklentisi hakkında fikir verebilmektedir. Yapılan bir çalışma serisinde elde edilen bulgulara göre test öncesi kendilerini semptomsuz olarak tarif eden hastaların %29 da test esnasında semptomatik olduğu izlenmiş ve bunlar test esnasında semptom göstermeyen %11 hasta ile kıyaslandığında gelecek 1 yıl içinde %51 oranında kendiliğinden semptomatik olduğu izlenmiştir (40). Egzersiz testi kısıtlı egzersiz kapasiteyi göstermesinin yanı sıra, anormal hemodinamik cevap (hipotansiyon veya eforla egzersizde tansiyon artışının izlenmemesi) ve egzersizle provoke olan aritmiyi göstermesi nedeniyle de kıymetli olup bu bulgular kötü prognozun habercisidir. Egzersiz esnasında <20 mmHg dan daha az tansiyon artışı olan veya

hipotansiyon izlenen vakalarda bir yıllık yaşam beklentisinin %85 den %19 a düştüğü belgelenmiştir (44,45).

Klinik Seyir

Kalsifik aort darlığı; progresif seyreden ve daralan kapak açıklığı ile semptomları şiddetlenme eğilimi gösteren bir klinik hastalıktır. Jet akımın 4.0m/s ve üzerine çıktığı ciddi kapak darlığında 2 yıllık olaysız sağ kalım %30-50 arasında iken velositenin 2,5 m/s den az olduğu aort sklerozunda 5 yıllık olay gelişim ihtimali %10 civarındadır.

Hastalık patofizyolojik temelde progresif seyrettiği için tanı anındaki kapak durumuna göre ekokardiyografik takip süreleri tanımlanmıştır. Bunun nedeni semptom başlangıcının en güçlü öngördürücüsünün aort kapak dopler incelemesindeki akım hızı olmasıdır. Sol ventrikül fonksiyonları korunmuş semptom ve bulgu tariflemeyen hastalarda velositesi 4m/s olan hastalarda 6 ay-1 yıllık takiplerle 3,0-3,9 m/s olan hastalarda 1-2 yıllık aralıklarla ve 2,0-2,9 m/s olan hastalarda ise 3-5 yıllık aralıklarla takipler önerilmiştir. Diğer bir öngördürücü ise kapaktaki kalsifikasyon miktarıdır. Az kalsifik kapaklardaki olaysız yaşam beklentisi, orta ileri kapaklardan 3 kat daha fazladır.

Semptom başlangıcı ve ömür beklentisi kapak darlığına bağlı olduğu için yapılan retrospektif çalışmalar ve analizler neticesinde, KAD'da ortalama ilerleme beklentileri tanımlanmıştır. Velositesi 3,0-3,9 m/s olan hastalarda yıllık velosite artışı ortalama 0,3 ortalama gradient artışı 7 mmHg ve aort kapak açıklığında 0,1 cm² azalma beklenmektedir. Bu ilerlemeye etkileyecek ve ilerleme hızını artıracak bazı klinik verilerde tanımlanmıştır.

Tüm yukardaki verilere rağmen hastadaki en önemli ömür beklentisinin öngördürücüsü semptom başlangıcıdır. Kalp yetmezliği gelişen olgularda ortalama beklenti 2 yıl, senkop ta 3 yıl ve angina ise ortalama ömür beklentisi 5 yıldır (44,46,47).

TEDAVİ

Ciddi aort darlığında medikal tedavide maalesef ilerleme kaydedilememiştir. Hastalık için kapak değişimi dışındaki diğer tedaviler eşlik eden hastalık modifikasyonu ile sınırlıdır. Kapağın medikal değişimine uygun olmayan veya kabul etmeyen hastalarda gelişen kalp yetmezliği, gelişen aritmi veya kardiyak ya da koroner hastalıklarda standart tedaviler uygulanır. Cerrahi kapak değişimi geçmişten günümüze gelen en önemli tedavi iken PARTNER çalışması ile trans aortik kapak replasmanı yeni bir umut olmuş ve cerrahiye alternatif, yeni bir tedavi modalitesi olarak başarıyla yerini almıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma öncesinde yerel etik kurul onayı alındı (Ek-1). Araştırma yönteminin türü olgu-kontrol çalışması olarak belirlendi. Çalışma için 158 gönüllü alındı ve dahil edilme kriterlerine uygun 75 hasta ve 77 kontrol grubu olmak üzere toplam 152 kişi ile gerçekleştirildi. Altı gönüllü dahil edilme kriterlerine uygun olmaması nedeniyle çalışmaya dahil edilmedi. Hasta grubu oluşturulurken ekokardiyografi ile KAD tanısı konan hastalar; kontrol grubu oluşturulurken ise ekokardiyografi ile KAD olmayan bireyler çalışmaya katıldı. Hasta ve kontrol grubuna alınan kişilere çalışmanın amacı açıklandıktan sonra gönüllü olup olmayacakları soruldu. Çalışmaya katılanlara ayrıntılı bilgi verildikten sonra aydınlatılmış onam formu imzalatıldı (Ek-2). Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler, çözeltiler ve cihazlar aşağıda belirtilmiştir.

Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- DNA marker seti, 50bç-100bç (Fermentas, ABD)
- DNA saflaştırma kiti (Invitrogen, Almanya)
- Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (Sigma,)
- Magnezyum klorür (Fermentas)
- Primerler (Fermentas)
- Proteinaz K (eZNA)
- Taq DNA polimeraz seti (Fermentas, ABD)
- Taqman prop (Thermo Fisher, ABD)

- Trisma (Base) (Bio Basic)

Kullanılan Cihazlar

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

Kullanılan Çözeltiler

- 10xTris Borat Elektroforez (TEB) Çözeltisi (1 litre) pH: 7.4
- 60.5 gr Tris
- 3.72 gr Na₂EDTA.2H₂O
- 30.85 gr borik asit

Numune alımı ve incelenmesi

Ekokardiyografi laboratuvarında tespit edilen ve çalışmaya kabul edilen 75 adet hasta ve 77 kontrol grubu dahil olmak üzere toplamda 152 kişiden; kardiyoloji servisinde 5 cc EDTA'lı kan alındı. Alınan kanlar koroner yoğun bakım ünitesi içinde veya kalp damar cerrahisi içinde muhafaza edildi. Yeterli sayıya ulaşıldığında saklanan kanlar T.Ü Biyofizik ABD'ye çalışılması için götürüldü. Bütün deneysel aşamalar Trakya Üni. Tıp Fak. Biyofizik ABD'de gerçekleştirildi. Bu çalışma iki ayaktan oluşmaktaydı. Birinci ayağında hasta ve kontrollere ait EDTA'lı kanlardan DNA izolasyonu yapılarak floresan işaretli (Taqman Proplar ile) Real-Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (QT-PCR) ile Lip (a) genine ait iki

genotip belirlendi. İkinci ayağında ise aynı hasta ve kontrol gruplarına ait serumlarda elisa testi ile Lip (a) seviyesi belirlendi.

Çalışmanın sonunda ise hasta ve kontrol gruplarının Lip (a) genin genotipleri ile serumdaki Lip (a) miktarları eşleştirildi ve bu şekilde hangi genotipin kandaki Lip (a) seviyesini ne kadar etkilediği gözlemlendi.

Polimorfizm Belirleme Aşaması

Her iki polimorfizm için aşağıdaki deney protokolleri gerçekleştirildi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Aşağıda çalışılacak polimorfizmlerin rs numaraları ve protokolleri verilmiştir (48).

Lip (a) geninin (A > G, intron 25) rs10455872 polimorfizmi için;

primer sense 5'- ATGGGCTGGCAACACATAG -3'

anti sense 5'- CACTTTCTCCTCTAACCTGTA-3'

(Ürün uzunluğu 78 baz çifti).

Başlangıç:

- 94°C'de 5 dakika
 - 94°C'de 20 saniye
 - 57°C'de 20 saniye
 - 72°C'de 22 dakika
 - Tarama
- } 40 devir

Sonlanma: 72°C'de 10 dakika

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

Lip (a) geninin rs3798220 (T > C, Ile1891Met, KIV-2 genotipi) polimorfizmi için;

primer sense 5'-GGCTCCAAGAACAGCCTAGA -3'

anti sense 5'- TCCTCAAGGCCTTCATCCTA -3'

(Ürün uzunluğu 104 baz çifti).

Başlangıç:

- 94°C'de 5 dakika
 - 94°C'de 20 saniye
 - 62°C'de 20 saniye
 - 72°C'de 22 saniye
 - Tarama
- } 40 devir

Sonlanma: 72°C'de 5 dakika

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

Elisa Deney Prosedürler

Hastalara ait serum/plazma ürünleri çalışma başlangıcından itibaren temin edilip -80°C de saklandı. Yeterli örnek sayısına ulaşıncaya tüm örnekler aşağıda belirtilen protokoller ile serumdaki Lip (a) protein miktarı belirlendi.

Deney protokolleri:

- 1- Bütün çözelti, örnek ve standartlar kit şartlarına uygun olarak hazırlandı.
- 2- Kit ile temin edilmiş olan örnek kuyularına 100 µl standart/Örnek eklendi.
- 3-Kuyular boşaltılıp 100 µl tespit solüsyonu A eklenir ve 1 saat 37°C de inkübe edildi.
- 4- Kuyular boşaltılıp 3 kere yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- 5- Kuyulara 100 µl tespit solüsyonu B eklenip 30 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 6- Kuyular yıkama solüsyonu ile 5 kere yıkandı.
- 7-Kuyulara 90 µl susturta solüsyonu eklenir ve 20 dakika 37°C de inkübe edildi.
- 8- Kuyular boşaltılmadan kuyuların üzerine 50 µl stop solüsyonu eklenerek vakit kaybetmeden 450 nm okumaları sağlandı.

Standartlar yardımıyla standart eğri çizilerek bu standart eğri yardımıyla serum/plazma daki Lip (a) seviyesi ng/ml cinsinden belirlendi. Sonra bu veriler aynı hastaların Lip (a) genotipleri ile eşleştirilerek Lip (a) genotipinin serum/plazma Lip (a) miktarının nasıl etkilediği gözlemlendi.

Çalışma sonunda elde edilen bulgular SPSS 20.0 programı ile klinik bilgilerin değerlendirilmesi gerçekleştirildi

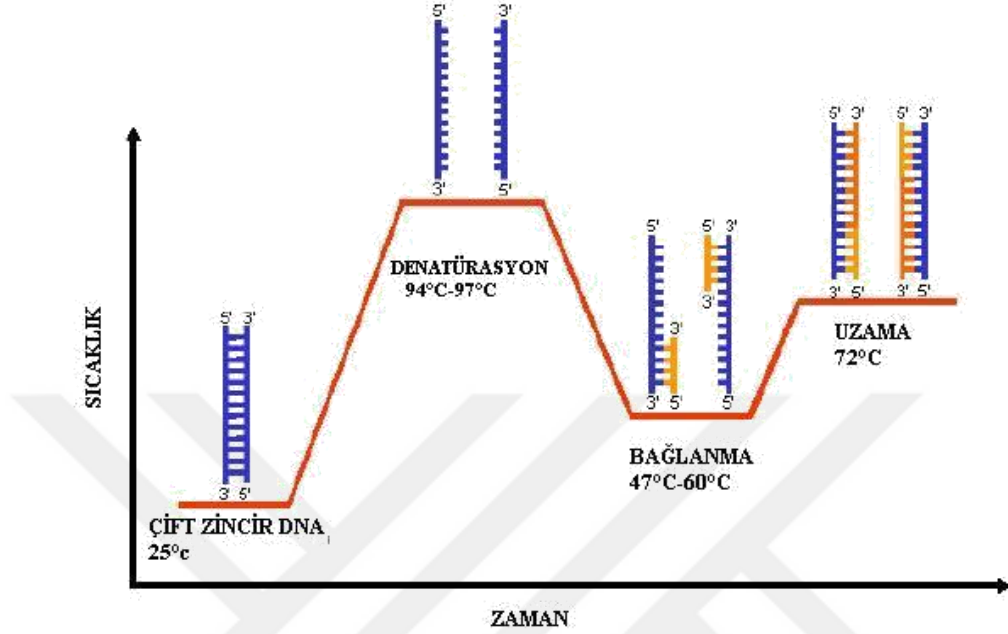
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, ilk kez 1985 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan, Cetus şirketine bağlı olarak çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilen metodla bilim dünyasına sunulduğundan itibaren hem araştırmada hem de klinik laboratuvarlarında tanıda yeni bir çığır açmıştır. PZR invitro koşullarında DNA'nın çoğaltılması olarak tanımlanmıştır. PZR'de üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış DNA miktarı, bu üç adımın tekrarına bağlıdır.

1. Denatürasyon (94-97°C)
2. Primer bağlanması (47-60°C)
3. DNA sentezi (72°C)

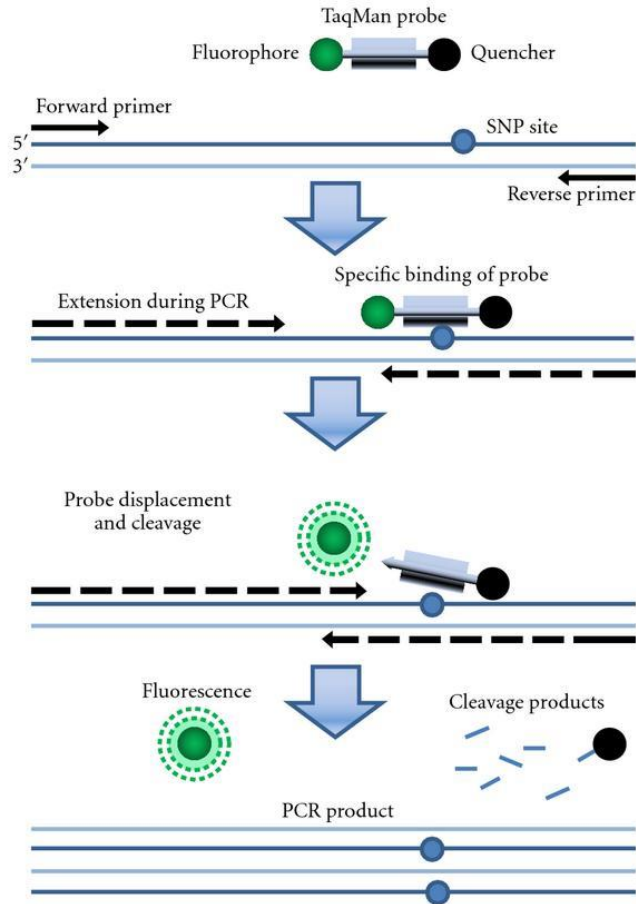
Bu üç adım bir PZR siklusunu oluşturur (Şekil 6). İlk adımda çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. İkinci adımda primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır. Son aşamada ise DNA sentezi gerçekleşir. Polimeraz zincir reaksiyonunun temel bileşenleri; kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi

(Taq polimeraz) (Şekil 7), enzim tamponu, primerler, dNTP (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP) karışımı ve MgCl₂'dir.

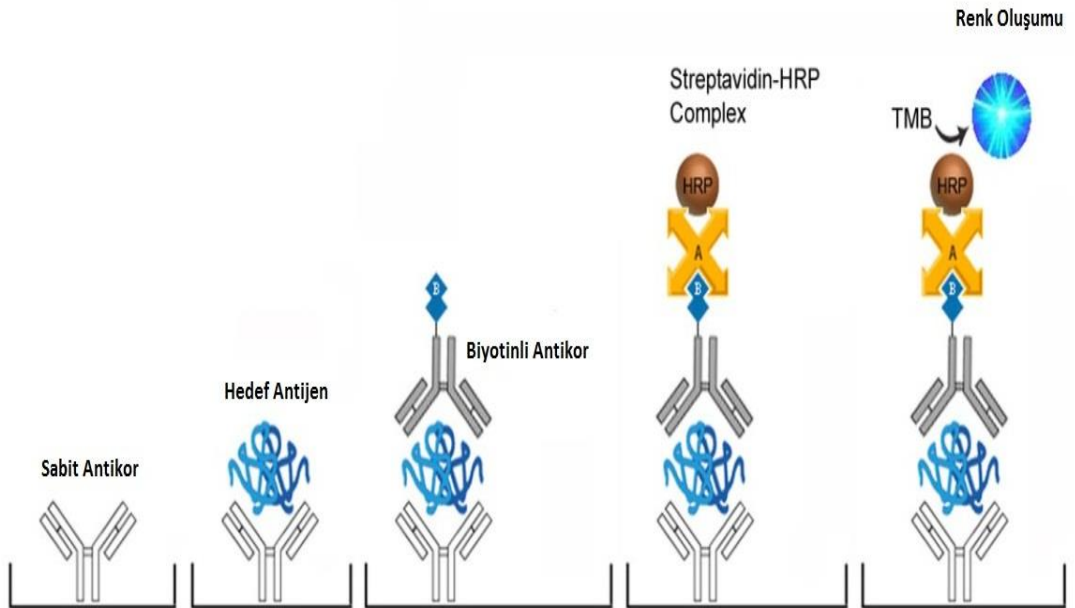


Şekil 6. Polimeraz zincir reaksiyonu döngüsü

İlgili gen bölgeleri verilen primer dizileri kullanılarak çoğaltıldı. Reaksiyon toplam 25µl'lik hacimde gerçekleştirildi. Sonrasında reaksiyon gerçekleşirken her döngü sonunda Real-Time cihaz tarafından örnek tüpleri üzerinde okuma yaparak Lip (a) polimorfizmleri belirlendi (Şekil 8).



Şekil 7. Taqman Probu çalışma prensibi (49)



Şekil 8. Elisa'nın çalışma prensibi (50)

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS sürüm 20.0 programı kullanılarak (Lisans No:19216811122) yapıldı. Sürekli değişkenler aritmetik ortalama \pm standart sapma, kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. Sürekli değişkenlerin ikili karşılaştırılmasında normalite testi olarak Kolmogorov-smirnov ve Shapiro-Wilk testi kullanıldı; normal dağılıma uyanlara Student t-testi; normal dağılıma uymayanlara non-parametrik yöntem olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare (χ^2) testi kullanıldı. Çalışma grupları için gözlenen genotip frekansları Hardy-Weinberg dağılımlarına uygunlukları HW calculator software ve Pearson Ki-kare testi ile analiz edildi. $P < 0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.



BULGULAR

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet, VKİ, HT, DM, sigara kullanımı, aile öyküsü, total kolesterol, trigliserid (TG), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) içeren demografik özellikleri aşağıda (Tablo 2) gösterilmiştir.

Lipoprotein a gen polimorfizmi için hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri incelendiğinde;

Cinsiyet açısından bakıldığında kontrol grubunda kadınlar %53,25 ve erkekler %46,75 sıklıkta iken, KAD grubunda kadınlar %48 ve erkekler %52 sıklıkta oluşmaktadır. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,518$).

Yaş risk faktörü açısından kontrol grubunda ortalama $71,74 \pm 2,17$ ve hasta grubunda $72,74 \pm 2,36$ olarak saptandı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0,532$).

Hipertansiyon sıklığı açısından kontrol grubunda %45,45 ve KAD grubunda %57,33 olarak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,143$).

Diyabetes mellitus sıklığı açısından kontrol grubunda %40,26 ve KAD grubunda %46,67 olarak istatistiksel olarak anlamlı olarak saptanmamıştır ($p=0,426$).

Sigara içiciliği açısından kontrol grubunda %29,87 ve KAD grubunda %45,33 olarak istatistiksel olarak anlamlı olarak saptanmıştır ($p=0,049$).

Düşük dansiteli lipoprotein ölçümleri değerlendirildiğinde kontrol grubunda $118,09 \pm 4,47$ mg/dl, KAD grubunda $147,97 \pm 5,6$ mg/dl ortalama değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak yüksek anlamlı olarak saptanmıştır ($p < 0,001$).

Tablo 2. Lip (a) gen polimorfizmi için kontrol ve hasta gruplarının demografik özellikleri

Hasta ve kontrol bilgileri	Hasta grubu (n=75)	Kontrol Grubu (n=77)	P
Yaş	72,74 (70,38-75,11)	71,74 (69,57-73,90)	0,532
Cinsiyet			
Kadın	36 (%48)	41 (%53,25)	
Erkek	39 (%52)	36 (%46,75)	0,518
DM	35 (%46,67)	31 (%40,26)	0,426
HT	43 (%57,33)	35 (%45,45)	0,143
Sigara kullanımı	34 (%45,33)	23 (%29,87)	0,049
LDL	147,97 (142,37-153,57)	118,09 (113,62-122,55)	<0,001
Kreatinin	1,29 (1,09-1,50)	1,03 (0,94-1,12)	0,002
Albümin	3,71 (3,63-3,79)	3,94 (3,87-4,01)	<0,001
Lip (a)	68,67 (67,17-70,16)	27,05 (25,86-28,23)	<0,001
rs1055872			
AA	73 (%97,33)	19 (%24,68)	
AG	2 (%2,67)	11 (%14,29)	<0,001
GG	0	47 (%61,04)	
rs3798220			
CC	0	43 (%55,84)	
CT	0	6 (%7,79)	
TT	75 (%100)	28 (%36,36)	<0,001

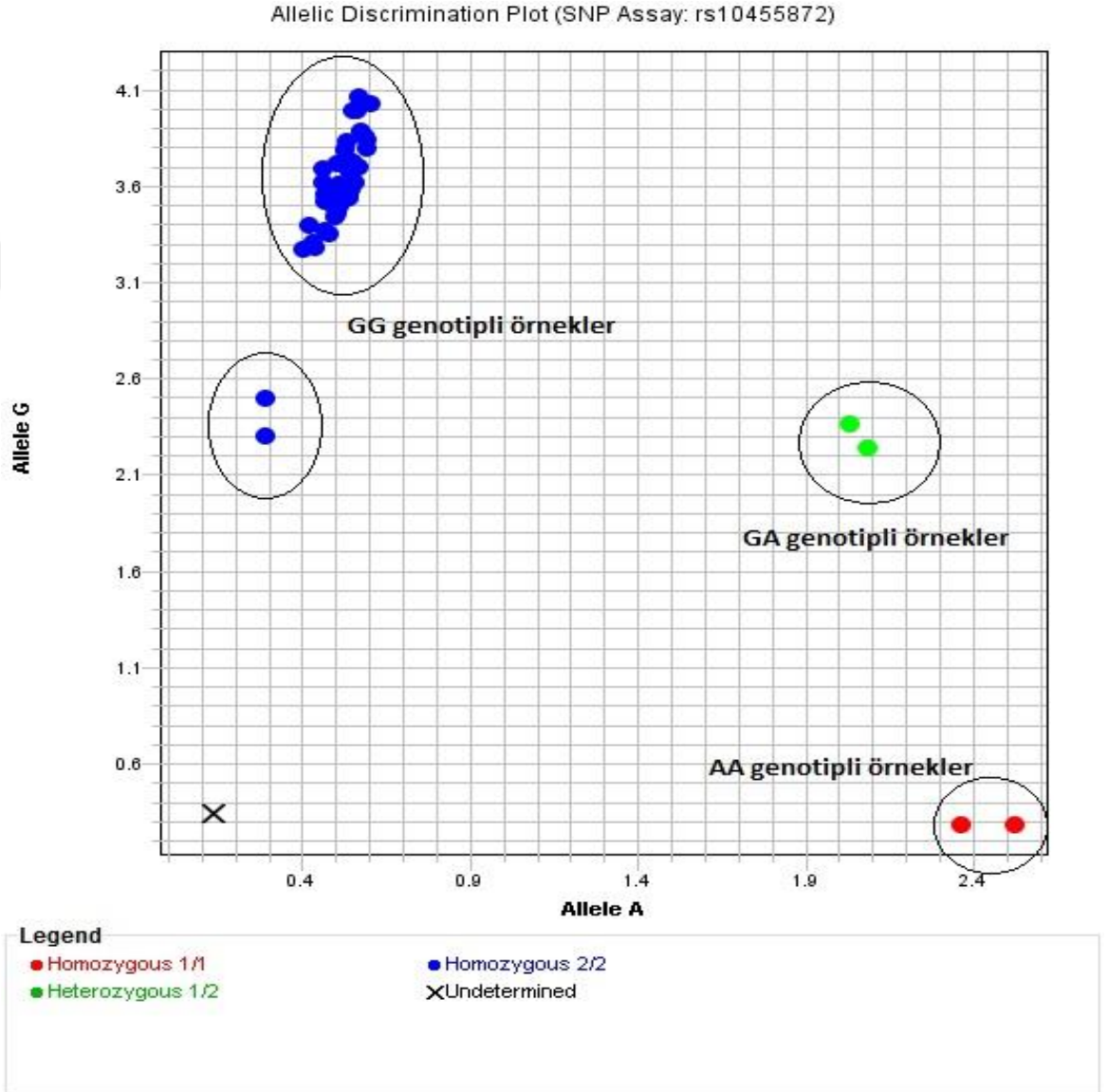
HT: Hipertansiyon, **DM:** Diyabetes Mellitus, **LDL:** Düşük Dansiteli Lipoprotein, **n:** Hasta sayısı, **A:** Adenin, **G:** Guanin, **C:** Sitozin, **T:** Timin, **Lip (a):** Lipoprotein a.

Kreatinin düzeyleri açısından değerlendirildiğinde kontrol grubunda 1,03±0,09 mg/dl ve KAD grubunda 1,29±0,2 olarak istatistiksel olarak yüksek anlamı olarak saptanmıştır (p=0,002).

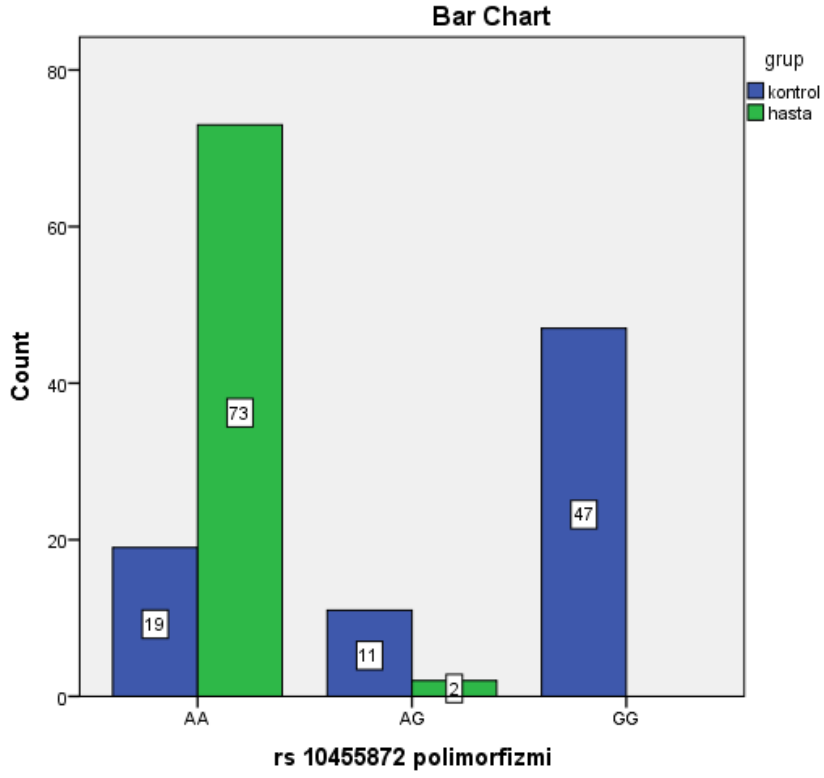
Lipoprotein a ölçümleri değerlendirildiğinde kontrol grubunda 27,05±1,19 mg/dl, KAD grubunda 68,67±1,5 mg/dl ortalama değerlerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak yüksek anlamı olarak saptanmıştır (p<0,001).

rs1055872 polimorfizmin alel dağılımı (Şekil 9) kişi sayısı açısından değerlendirildiğinde (Şekil 10):

- AA kontrol grubunda 19 kişi ve KAD grubunda 73 kişi
- AG kontrol grubunda 11 kişi ve KAD grubunda 2 kişi
- GG kontrol grubunda 47 kişi ve KAD grubunda 0 kişi saptanmıştır.



Şekil 9. Lipo A için G/A genotipinin allelik dağılımı (rs:10455872)



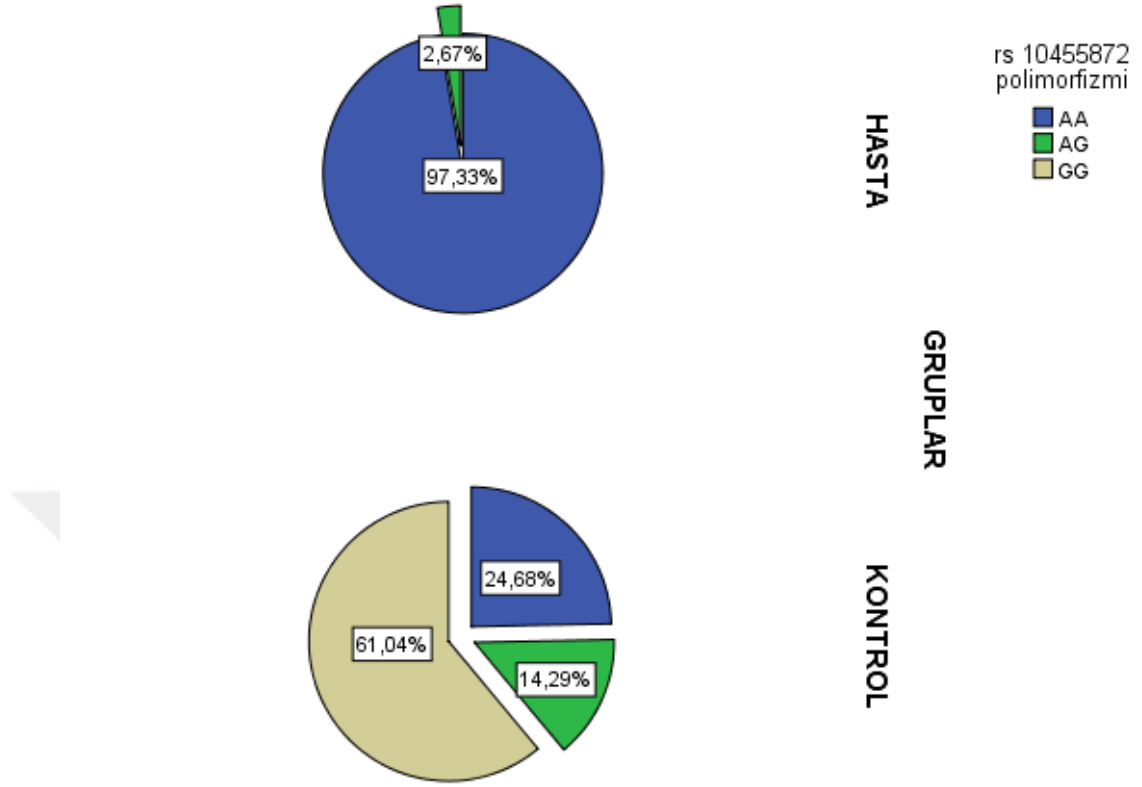
**

Şekil 10. Lip (a) rs10455872 polimorfizmin kalsifik aort darlığındaki hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımının şema ile gösterimi

rs1055872 polimorfizmin alel dağılımı yüzdelik açısından değerlendirildiğinde (Şekil 11):

- AA kontrol grubunda %24,68 ve KAD grubunda %97,33
- AG kontrol grubunda %14,29 ve KAD grubunda %2,67
- GG kontrol grubunda %61,04 ve KAD grubunda % 0

saptanmış olarak istatistiksel olarak yüksek anlamlı olarak saptanmıştır ($p < 0,001$).



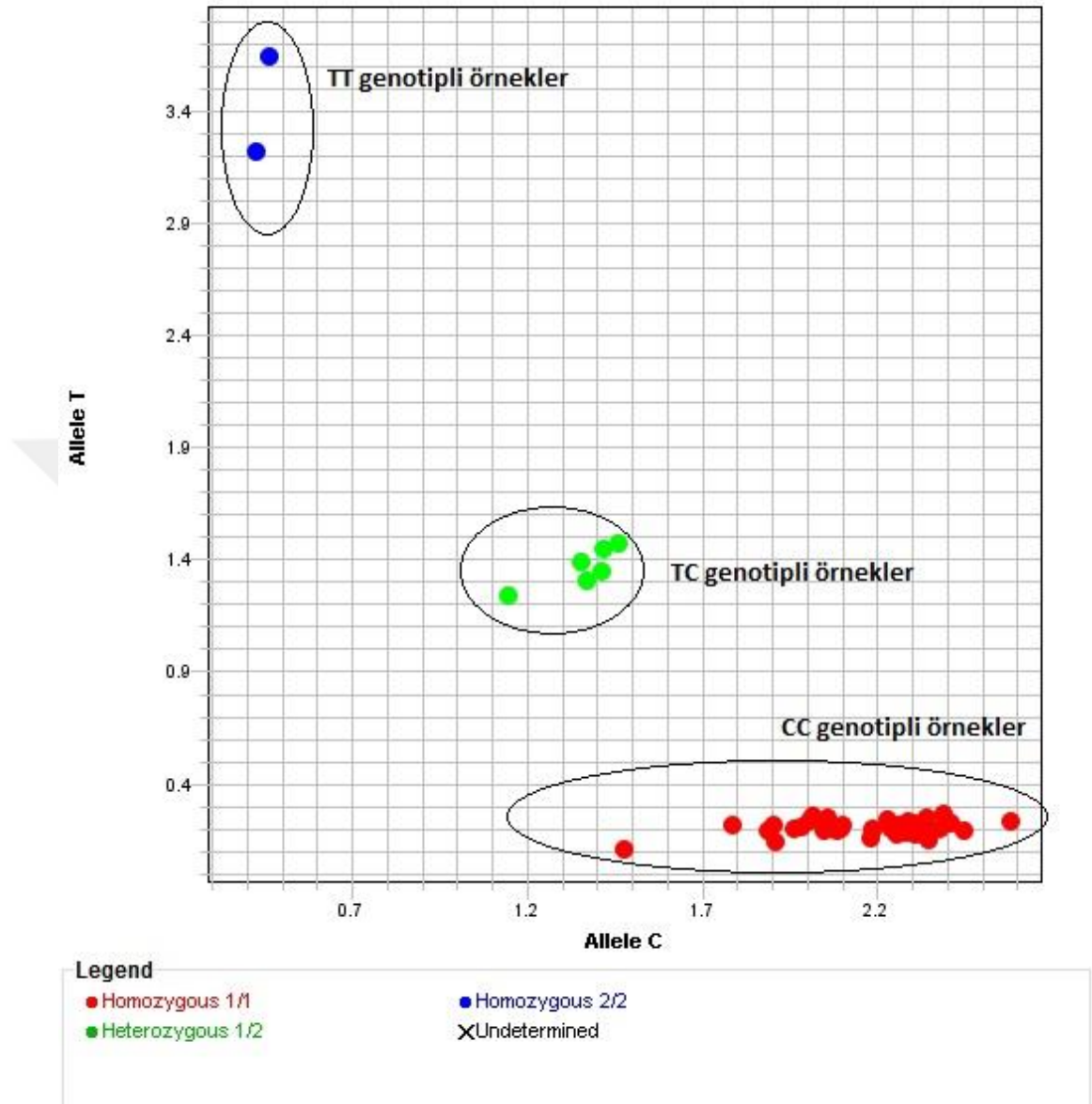
Şekil 11. Lip (a) rs10455872 polimorfizmin kalsifik aort darlığındaki hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

Hasta grubunun AA genotipi kontrol grubuna göre daha yüksek sıklıkta saptanmakla beraber kontrol grubunda yüksek saptanan GG genotipi hasta grubunda saptanmamıştır. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde $p < 0,001$ olarak yüksek güvenle anlamlı farklılık bulunmuştur

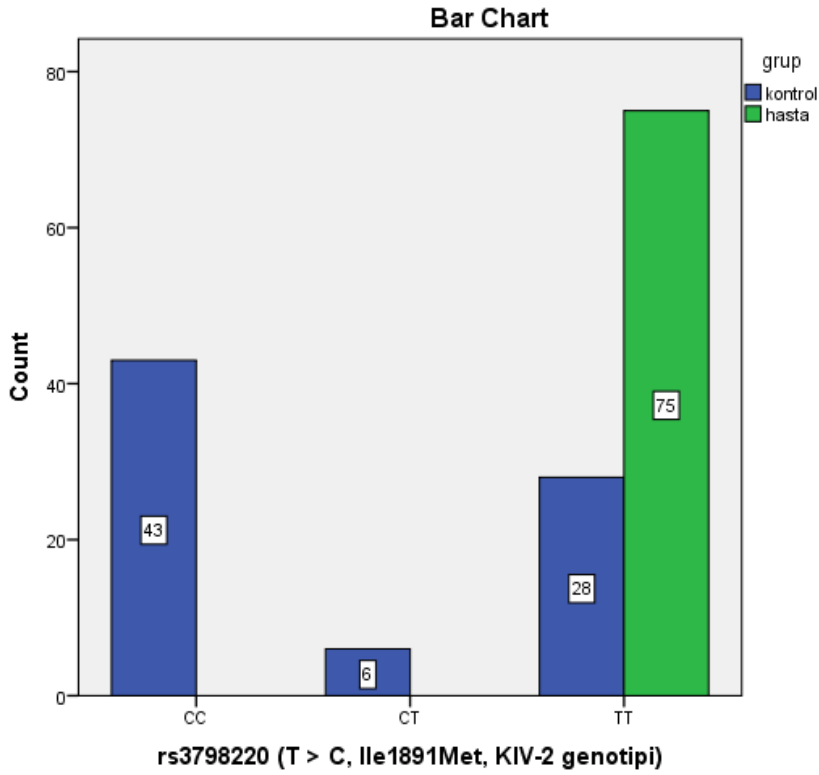
rs3798220 polimorfizmin alel dağılımının (Şekil 12) kişi sayısı açısından değerlendirildiğinde (Şekil13):

- CC kontrol grubunda 43 kişi ve KAD grubunda 0 kişi
- CT kontrol grubunda 6 kişi ve KAD grubunda 0 kişi
- TT kontrol grubunda 28 kişi ve KAD grubunda 75 kişi saptanmıştır.

Allelic Discrimination Plot (SNP Assay: rs3798220)



Şekil 12. Lipo A için T/C genotipinin allelik dağılımı (rs:3798220 için)

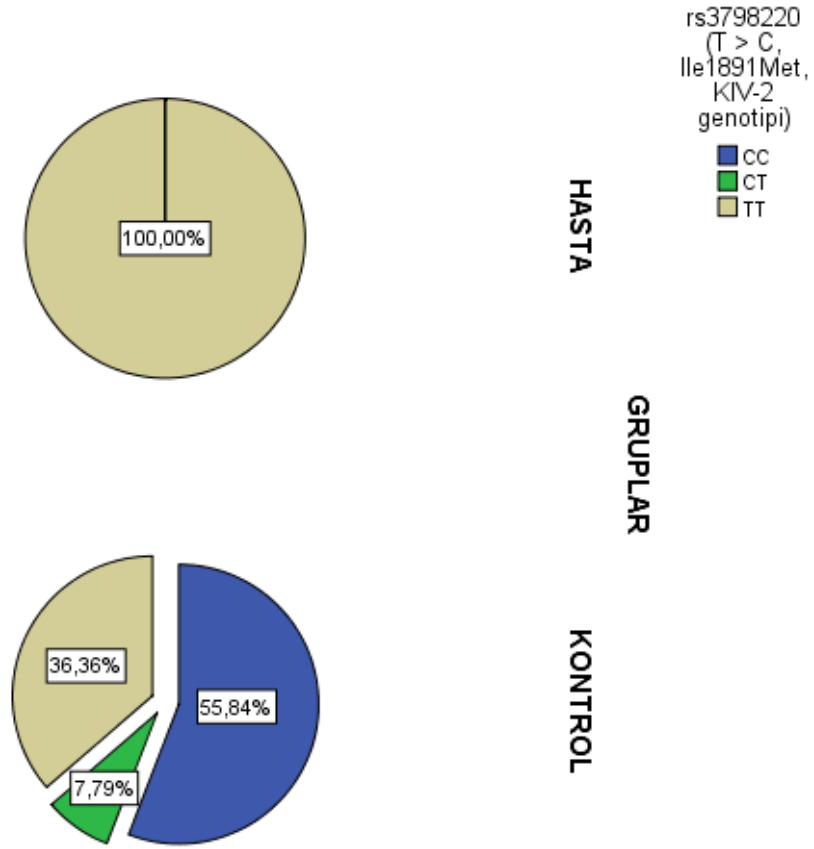


Şekil 13. Lip (a) rs3798220 polimorfizmin kalsifik aort darlığındaki hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımının şema ile gösterimi

rs3798220 polimorfizmin alel dağılımının yüzdeler açısından değerlendirildiğinde (Şekil 14):

- CC kontrol grubunda %55,84 ve KAD grubunda % 0
- CT kontrol grubunda %7,79 ve KAD grubunda % 0
- TT kontrol grubunda %36,36 ve KAD grubunda % 100

saptanmış olarak istatistiksel olarak yüksek anlamlı olarak saptanmıştır ($p < 0,001$).



Şekil 14. Lip (a) rs3798220 polimorfizmin kalsifik aort darlığındaki hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

Hasta grubunun TT genotipleri kontrol grubuna göre daha yüksek sıklıkta (%100) saptanmakla beraber kontrol grubunda yüksek saptanan CC genotipi hasta grubunda hiç tespit edilmemiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde $p < 0,001$ olarak yüksek güvenle anlamlı farklılık bulunmuştur.

Lipoprotein a gen polimorfizmi için hastaların subgruplarının demografik özellikleri incelendiğinde (Tablo 3);

Cinsiyet açısından bakıldığında hafif KAD grubunda kadınlar %56,25 ve erkekler %43,75 sıklıkta iken, orta KAD grubunda kadınlar %53,57 ve erkekler %46,43 sıklıkta, yüksek KAD grubunda kadınlar %38,71 ve erkekler %61,29 sıklıkta oluşmaktadır. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,074$).

Yaş risk faktörü açısından bakıldığında hafif KAD grubunda $76,93\pm 4,35$ iken, orta KAD grubunda $71,32\pm 4,09$, yüksek KAD grubunda $71,87\pm 3,94$ oluşmaktadır. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,33$).

Hipertansiyon sıklığı açısından bakıldığında hafif KAD grubunda %56,25 iken, orta KAD grubunda %53,57, yüksek KAD grubunda %61,29 sıklıkla oluşmaktadır. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,897$).

Diyabetes mellitus sıklığı açısından bakıldığında hafif KAD grubunda %25 iken, orta KAD grubunda %46,43, yüksek KAD grubunda %58,06 oluşmaktadır. İstatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0,045$).

Sigara içiciliği açısından bakıldığında hafif KAD grubunda %43,75 iken, orta KAD grubunda %39,29, yüksek KAD grubunda %51,61 sıklıkla oluşmaktadır. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,431$).

Düşük dansiteli lipoprotein ölçümleri açısından bakıldığında hafif KAD grubunda $141,56\pm 11,17$ mg/dl iken, orta KAD grubunda $150,21\pm 9,79$ mg/dl, yüksek KAD grubunda $149,25\pm 9,32$ mg/dl ölçülmüştür. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,251$).

Kreatinin düzeyleri açısından bakıldığında hafif KAD grubunda $1,13\pm 0,2$ mg/dl iken, orta KAD grubunda $1,33\pm 0,27$, yüksek KAD grubunda $1,35\pm 0,43$ oluşmaktadır. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,289$).

Lipoprotein ölçümleri açısından bakıldığında hafif KAD grubunda $70,28\pm 1,94$ mg/dl iken, orta KAD grubunda $69,10\pm 1,8$ mg/dl, yüksek KAD grubunda $67,44\pm 3,18$ mg/dl ölçülmüştür. Ancak istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,388$).

Tablo 3. Lip (a) gen polimorfizmleri için hasta subgruplarının demografik özellikleri

Hasta Subgrup	Hafif Darlık n: 16	Orta Darlık n:28	İleri Darlık n:31	P
Erkek	8(%43,75)	15(%46,43)	13(%61,29)	0,074
Kadın	8(%56,25)	13(%53,57)	18(%38,71)	
Yaş	76,93 (72,58-81,29)	71,32 (67,23-75,41)	71,87(67,93-75,80)	0,33
DM	7(%25,00)	18(%46,43)	10(%58,06)	0,045
HT	9(%56,25)	17(%53,57)	17(%61,29)	0,897
Sigara	5(%43,75)	14(%39,29)	15(%51,61)	0,431
LDL	141,56 (130,39-152,73)	150,21 (140,47-159,95)	149,25 (139,93-158,5)	0,251
Kreatinin	1,13 (0,93-1,33)	1,33(1,06-1,60)	1,35(0,92-1,79)	0,289
Albümin	3,65 (3,51-3,80)	3,76(3,60-3,91)	3,70(3,58-3,81)	0,363
Lip (a)	70,28 (68,34-72,23)	69,10(67,30-70,90)	67,44(64,26-70,62)	0,388
rs1055872				
AA	15 (%93,75)	27 (%96,43)	31(%100)	0,311
AG	1 (%6,25)	1 (%3,25)	0	
GG	0	0	0	
rs3798220				
CC	0	0	0	
CT	0	0	0	
TT	16 (%100)	28 (%100)	31 (%100)	

HT: Hipertansiyon, **DM:** Diyabetes Mellitus, **LDL:** Düşük Dansiteli Lipoprotein, **n:** Hasta sayısı, **A:** Adenin, **G:** Guanin, **C:** Sitozin, **T:** Timin, **Lip (a):** Lipoprotein a.

Kalsifik aort darlığı evreleri yaş alt gruplarına analiz edildiğinde (Tablo 4) cinsiyet (p:0,112), HT (p≥0,289), DM (p≥0,190), sigara içiciliği (p≥0,289), kreatinin (p:0,298), albümin (p:0,170), LDL (p:0,097), Lip (a) (p:0,814) ve gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak p>0,05 bulunmuş ve anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Tablo 4. Kalsifik aort darlığı evreleri ile yaş alt gruplarının demografik karşılaştırılması

		Hafif Darlık n:16	Orta Darlık n:28	İleri Darlık n:31	P
<65	Kadın	4 (%100)	3 (%50)	2 (%50)	0,112
	Erkek	0	3 (%50)	2 (%50)	
65-80	Kadın	1 (%20)	9 (%52,94)	6 (%33,33)	0,299
	Erkek	4 (%80)	8 (%47,06)	12 (%66,67)	
>80	Kadın	6 (%84,71)	3 (%60)	5 (%55,56)	0,387
	Erkek	1 (%14,29)	2 (%40)	4 (%44,44)	
DM					
<65		1 (%25)	4(%66,67)	2 (%50)	0,421
65-80		2 (%40)	8 (%47,06)	7 (%38,89)	0,881
>80		5 (%71,43)	1 (%20)	5 (%55,56)	0,190
HT					
<65		3 (%75)	4 (%66,67)	1 (%25)	0,289
65-80		4 (%80)	9 (%52,94)	9 (%50)	0,453
>80		5 (%71)	3 (%60)	5 (%55,56)	0,803
Sigara					
<65		1 (%25)	4 (%66,67)	3 (%75)	0,289
65-80		1 (%20)	5 (%29,41)	7 (%38,89)	0,674
>80		5 (%71,43)	3 (%60)	5 (%55,56)	0,904
LDL					
<65		146	133,83	128	0,097
65-80		128	149,35	156,11	
>80		159,14	123,20	164,44	
Kreatinin					
<65		1,07	1,13	1,11	0,298
65-80		1,34	1,17	1,17	
>80		1,85	0,87	1,88	
Albümin					
<65		3,97	3,95	3,75	0,170
65-80		3,58	3,66	3,67	
>80		3,42	3,73	3,70	
Lip (a)					
<65		72,10	68,21	69,23	0,814
65-80		67,45	68,23	68,17	
>80		67,70	67,06	71,35	
rs10455872					
<65	AA	4 (%100)	6 (%100)	4 (%100)	
65-80	AA	5 (%100)	16 (%94,12)	17 (%94,44)	
	AG	0	1 (%5,88)	1 (%5,56)	
>80	AA	7 (%100)	5 (%100)	9 (%100)	
rs3798220					
TT (Tüm yaş gruplarında)		16 (%100)	28 (%100)	31 (%100)	

HT: Hipertansiyon, **DM:** Diyabetes Mellitus, **LDL:** Düşük Dansiteli Lipoprotein, **n:** Hasta sayısı, **A:** Adenin, **G:** Guanin, **T:** Timin, **Lip (a):** Lipoprotein a.

Çalışmamız klasik risk faktörleri (cinsiyet, yaş, HT, DM) yönünden istatistiksel farklı olmayan ($p>0,05$) hasta ve kontrol grupları ile tasarlanmıştır. Bu yöntemle klasik risk faktörlerinin etkisi olmadan yeni risk faktörleri aranmış ve gen polimorfizmin etkisinin önemi araştırılmıştır. Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında sigara içiciliği ($p:0,049$), LDL yüksekliği ($p<0,001$), kreatinin yüksekliği ($p:0,002$), albümin düşüklüğü ($p<0,001$), Lip (a) yüksekliği ($p<0,001$), rs1055872 polimorfizmde AA genotipine sahip olmak ($p<0,001$) ve rs3798220 polimorfizminde TT genotipine sahip olmak ($p<0,001$) risk faktörü olarak saptanmış ve KAD gelişimini arttırdığı tespit edilmiştir.

Hasta grubu hafif, orta ve ileri darlık olarak incelendiğinde sadece DM varlığının istatistiksel olarak KAD ilerlemesine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir ($p:0,045$).

Hasta grubu darlık düzeyi (hafif, orta ve ileri darlık) ve yaşa göre (65 yaş altı, 65-80 yaş arası ve 80 yaş üstü) ayrıldığında hiçbir risk faktörü, her hangi bir yaş grubu için istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Trakya bölgesi, Türkiye'nin kuzey batısında kalan, etnik kökeni milattan öncesine kadar dayanan, farklı medeniyetlere ev sahipliği yapmış ve Avrupa ile Asya arasında göç yolları üzerinde bulunan, coğrafi konumu itibariyle yıl içinde 4 mevsimin de yaşanabildiği, sigara kullanımı ve diyet alışkanlığı olarak tuz tüketiminin genel popülasyondan fazla olduğu bir bölgedir.

Çalışmamıza Trakya bölgesinde yaşamakta olan olgular dahil edildi. Bu olgular semptom sonrası hastanemize başvuran, acil servisten veya kardiyoloji polikliniğinden değerlendirilen veya kardiyoloji dışı servislerde kardiyak semptom tariflemesi sonucu değerlendirilmiş ve ekokardiyografi yapılmış kişilerdir. Yapılan ekokardiyografik görüntüler üzerinden alınan ölçümlere göre KAD (hasta) ve normal (kontrol) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bu çalışmamızın sonucunda KAD olanlarda Lip (a) gen polimorfizmlerini araştırmak için uygun örneklem ve hasta seçimi olarak güç analizi için NCSS PASS 11 İstatistiksel paket programı kullanılarak 0,99 güç ve 0,01 yanılma olasılığına göre hasta grubuna 75 ve kontrol grubuna 77 olgu alınması gerektiği karar verilmiştir. Çalışmamıza 75 hasta grubu ve 77 kontrol grubu olmak üzere toplam 152 kişi dahil edilme kriterlerine uygun olarak alındı.

Kalsifik aort darlığı grubunda AA ve TT genotipleri daha fazla saptanmakla birlikte kontrol grubunda saptanan GG, CC, TT genotipleri ise hiç tespit edilmemiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı farklılık bulundu ($p<0,001$).

Genotip ve allellerin karşılaştırmasında AA ve TT genotiplerinin ve A ile T allelinin KAD açısından istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu.

Daha önce bazı çalışmalarda Lip (a) geninin polimorfizmleri ve KAD arasındaki ilişki incelenmiştir; ancak sonuçlarda sadece polimorfizmler yönünden değerlendirilmiş, genotip farklılıkları ele alınmamıştır. Ayrıca bu çalışmalarda aort darlığının alt grup darlıklarına göre demografik bulgulardan bahsedilmemiş, KAD'a neden olabilecek klinik ve genetik risk faktörleri belirtilmesine rağmen, bu faktörlerin KAD'da bu ilerleyişi hızlandırması yönünden etkisi değerlendirilmemiştir (51-53).

Kalsifik aort darlığı patogeneğinde ilerleyici bir hastalık olup klinik risk faktörleri olarak ileri yaş, erkek cinsiyet, HT, DM neredeyse KAD'a yönelik yapılan her çalışmada vurgulanmıştır (51-53). Polimorfizmin önemi de bu çalışmalarda vurgulanmış ama mevcut ek risk faktörleri ile eklendiğinde etkisinin ciddiyeti ve önemi tam açığa kavuşmamış ve tartışılmamıştır.

Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında bu risk faktörleri benzer oranda alınarak polimorfizmlerin gerçek etkisi ve subgruplarda ilerleyiş için farklı veriler olup olmadığı irdelenmiştir.

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmada daha önce risk faktörleri olarak tanımlanan klinik patolojilerin (yaş, HT, DM, erkek cinsiyet), aynı oranda alındığında sigara içiciliği, LDL, kreatinin düzeyi ve Lip (a)'nın KAD gelişimi ile pozitif korelasyon gösterdiği ve hastalık gelişimi için risk faktörü olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca rs1055872 polimorfizminde AA genotipinin rs3798220 polimorfizminde ise TT genotipinin istatistiksel olarak yüksek anlamlı olarak ilişkisi tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Subgrup analizlerde ise hastalığın ilerlemesinde sadece DM varlığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,049$).

Kalsifik aort darlığı yaşlı popülasyonun hastalığı olup 65 yaş üstü yetişkinlerin %2-7' sinde görülür (3). Hafif-orta KAD olan hastalarda yapılan statin çalışmalarında yaş ortalaması 58 ile 78 arasındayken çalışmamızda yaş ortalaması 72'dir. Yaşla birlikte semptomatik darlık sıklığı da artmakta olup triküspit aort kapakta semptomlar 70 yaş ve üzerinde başlamaktadır. Aort stenozunun klasik ateroskleroz risk faktörleri ile olan birlikteliği uzun yıllardır bilinmektedir. Bu hastalarda koroner risk faktörleri, aterosklerotik koroner arter hastalığı sıklığı ve yeni kardiyovasküler olay insidansı daha fazladır (54,55).

Aronow ve ark. (56) tarafından yapılan retrospektif bir çalışma 125 mg/dl'nin üzerindeki LDL değerlerini aort stenozu gelişimi için risk faktörü olarak tanımlamıştır. Çalışmamızda kontrol grubunda ortalama 118,09 mg/dl ile bu değer altında ölçülmüş hasta grubunda ise ortalama 147,97 mg/dl ile bu değer üstünde saptanmıştır. Çalışmamızda bu

veriler istatistiksel olarak $p < 0,001$ anlamlı olarak fark tespit edilmiş ve bu çalışma ile korale saptanmıştır.

Hastalık progresyon gösteren bir patolojiye sahiptir. AHA (American Heart Association) 2014 kapak kılavuzunda belirttiği gibi velosite de yıllık 0,3 m/s ve 7 mmHg gradiyent artışı ve kapak alanında 0,1 cm² azalma ile karakterizedir (44,46,47). Ama çalışmamız olgu kontrol çalışması olduğu için ilerleyiş ile ilgili veriler ve demografik durumun bu durum üzerine etkisi maalesef tespit edilememiştir.

Aort darlığının gelişmesinde ve ilerlemesinde rol alan faktörlerden üzerinde en çok çalışılan lipoproteinlerdir. Rajamannan ve ark. (57) tarafından yapılan çalışmada klasik ateroskleroz risk faktörlerinden biri olan LDL, KAD ilerlemesinde en başta gelen etkenlerden biri olarak kabul edilmiştir. Ancak LDL ile hastalığın ilerlemesi arasındaki ilişki artan yaşla azalmakta ve 65 yaş üstü popülasyonda görece zayıf olmaktadır. Çalışmamızda kalsifik aort darlığı ile LDL arasında pozitif korelasyon saptanmış ama alt grup analizlerinde ilerleyen darlık ile LDL düzeyi arasında negatif korelasyon tespit edilmemiştir. Bu durumun nedeninin KAD seviyesi açısından değerlendirmede örneklem azlığına bağlı istatistiksel farklılık saptanmamış olabileceğini ve daha geniş örneklem sayısına sahip çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşündük.

Çalışmamızın temelini oluşturan Lip (a) ve gen polimorfizmi KAD'nın günümüzde popüler araştırma konusudur. Rashedi ve ark. (53) aort darlığı üzerine derlediği çalışmada KAD ve Lip (a) ve gen polimorfizminin önemi vurgulanmıştır. Kamstrup ve ark. (52) yaptığı çalışmada yine Lip (a) seviyesi ile KAD arasındaki ilişkinin önemine değinmiştir. Çalışmada gen polimorfizmleri çalışılmış (rs10455872, rs3798220) ama bu polimorfizmlerin genotiplerine yönelik herhangi bir değerlendirme yapılmamıştır. Thanassoulis ve ark. (51) yaptığı başka bir çalışmada Lip (a) ve rs10455872 polimorfizmin KAD ile ilişkisi incelenmiş ve anlamlı korelasyona vurgu yapılmıştır.

Tarafımızca yapılan çalışmada Lip (a) ile KAD arasında güçlü pozitif korelasyon doğrulanmıştır. Bulgularımızda rs10455872 polimorfizmi AA genotipi ve rs3798220 polimorfizmde ise TT genotipi kuvvetli pozitif korelasyon saptanmıştır. Yukarıda bahis edilen yayınlarda polimorfizm lehine değerlendirme yapılmış ama detaylı genotip çalışması yapılmamıştır. Çalışmamız polimorfizmlere yönelik yapılan genotipleme nedeniyle özgün bir çalışmadır.

SONUÇLAR

Çalışmamıza 01/03/2016 ve 15/12/2016 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim dalı poliklinik, servis ve koroner yoğun bakım ünitelerine başvuran ve ekokardiyografi yapılan kişilerde KAD tanısı almış 75 ve aort kapakta anomali saptanmamış 77 kişinin bilgilendirilmiş onam formu ile onamı alınmış 152 hasta alındı. Sonrasında hastalar kalsifik aort darlığı saptanan hasta grubu ile normal aort kapak saptanan kontrol grubu olarak ayrıldı. Demografik verileri ve laboratuvar verileri, Lip (a) gen polimorfizmleri açısından karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma yapılırken klasik risk faktörleri olarak kabul edilen ileri yaş, erkek cinsiyet, DM ve HT inceleme gruplarında benzer oranda olmasına dikkat edilmiştir. Bu karşılaştırma sonucunda;

- 1- Lip (a) rs10455872 polimorfizminin AA genotipi ile KAD arasında güçlü pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak kuvvetli anlamlı ilişki saptanmıştır.
- 2- Lip (a) rs3798220 polimorfizminin TT genotipi ile KAD arasında güçlü pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak kuvvetli anlamlı ilişki saptanmıştır.
- 3- Lip (a) düzeyinin yüksekliği ile KAD arasında güçlü pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak kuvvetli anlamlı ilişki saptanmıştır.
- 4- LDL düzeyinin yüksekliği ile KAD arasında güçlü pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak kuvvetli anlamlı ilişki saptanmıştır.
- 5- Sigara içiciliği ile KAD arasında pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.
- 6- Renal fonksiyonlarda azalmanın göstergesi olan kreatinin düzeyinin yüksekliği ile KAD arasında pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

- 7- Karaciğer fonksiyon testlerinin göstergesi olan albümin düzeyinin düşüklüğü ile KAD arasında güçlü pozitif korelasyon ve istatistiksel olarak kuvvetli anlamlı ilişki saptanmıştır. İncelenen hasta gruplarından hiç biri karaciğer fonksiyon bozukluğuna neden olabilecek karaciğer parankim hastalığı tanısı almamıştır. Bu nedenle bu durum albüminin negatif akut faz reaktanı olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu bizi aort kapaktaki kronik inflamasyon durumunun sistemik inflamasyonun bir komponenti olabileceği öngörüsüne itmiştir. Çünkü aort kapaktaki yangı süreci çok yavaş ilerleyen ve yıllara yayılan bir durumdur. Sistemik bir durum oluşmadan bu kadar yavaş ilerleyen bir yangının böyle bir sistemik cevap oluşturması ihtimal dahilinde gözükmemektedir.
- 8- KAD oluşan olgularda ise demografik durum ve gen polimorfizmleri incelendiğinde sadece DM hastalığın ilerlemesinde risk faktörü olarak saptanmıştır.
- 9- KAD hafif, orta ve ileri darlık diye ayrıldığında 65 yaş altı bireyler ile 65-80 ve 80 yaş üstü bireyler arasında risk faktörü olarak hiçbir verinin öne çıktığı görülmemektedir. Ama bu durum çalışmamızdaki hasta sayısının azlığı ile ilişkilendirilmiştir. İleri zamanlarda daha geniş gruplarla yapılabilecek çalışmalarda bu durumun değişebileceği tahmin edilmektedir.

ÖZET

Kalsifik aort darlığı (KAD), multifaktöriyel bir hastalık olup hem çevresel hem de genetik faktörler etiolojisinde önemli rol oynamaktadır. KAD'ın patogenezinde katkıda bulunan aday genleri çalışmak, koroner arter hastalığı'nın etiolojisinin anlaşılmasına yardımcı olabilir.

Lipoprotein a [Lip (a)] yapısal olarak plazminojen ve doku plazminojen aktivatöre benzerlik gösteren ve plazminojenle bağlanma bölgesi için yarışma gösteren bir yapıya sahiptir. Bu yapısı nedeniyle fibrinolizi azaltma eğilimindedir. Ayrıca PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitör-1) sekresyonunu arttırdığı için trombojeniteyi ve yapısındaki kolesterol molekülü nedeniyle de aterogenezi artırır. Bunların yanı sıra daha fazla aterojenik olan oksidize fosfolipidleri taşıdığı için iltihabi döngüde rol alan inflamatuvar hücrelerin bulunduğu bölgeye hücum etmesine ve bu bölgede düz kas hücrelerinde hücre proliferasyonuna neden olur. Bu durum Lip (a)'yı koroner arter hastalığı, inme, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü haline getirmiştir. Lip (a) gen polimorfizmlerin araştırılması, gen modülasyon tedavilerinin ilerleme gösterdiği günümüzde risk oluşturduğu hasta gruplarında tedavi olabileceği gibi bu polimorfizmleri taşıyan bireylerde erken tanı ve tedavi için bir umut olabileceği düşünülmüştür.

Bu amaçla hastanemize başvurmuş semptom sonrası yapılan ekokardiyografi ile tanı almış KAD saptanan 75 hasta ve normal aort kapak saptanan kontrol grubundan 77 hastadan 5cc kan örneği alınarak Lip (a) düzeyi ve gen polimorfizmlerinin kalsifik aort darlığı ile ilişkili olup olmadıkları araştırılmıştır. Ekokardiyografi yapılan hastalarda açlık rutin kan tetkikleri laboratuvarımızda çalışılarak risk faktörleri açısından değerlendirilmiştir.

Lip (a) düzeyi, rs10455872 polimorfizmi AA genotipi ve rs3798220 polimorfizmi TT genotipinin KAD gelişiminde genetik bir risk faktörü olduğu saptandı. Ayrıca sigara içiciliği, LDL yüksekliği, kreatinin yüksekliği (dolayısıyla düşük renal fonksiyonun) ve albümin düzeyi düşüklüğünün (muhtemel negatif akut faz reaktanı olarak) KAD gelişiminde risk faktörü olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Lip (a) gen polimorfizmi, rs10455872, rs3798220, kalsifik aort darlığı, genetik

RELATIONSHIP BETWEEN LIPOPROTEIN A AND GENE POLYMORPHISM AND AORTIC VALVE CALSIFICATION

SUMMARY

Calcific aortic valve disease (CAD) , as a multifactorial illness, has an important role in its environmental and also genetical etiology. By studying the probably suspicious genes that contributes pathogenesis of calcific aortic valve disease, etiology of CAD can be explained clearly.

The structure of lipoprotein a [Lp(a)] is similar to plasminogen and tPA (tissue plasminogen activator) and it competes with plasminogen for its binding site, leading to reduced fibrinolysis. Also, because Lp(a) stimulates secretion of PAI-1, it leads to thrombogenesis. Lp(a) also carries cholesterol and thus contributes to atherosclerosis. In addition, Lp(a) transports the more atherogenic proinflammatory oxidized phospholipids, which attract inflammatory cells to vessel walls, and leads to smooth muscle cell proliferation. This stiation is became a risk factor high Lp(a) in blood for coronary heart disease (CHD), atherosclerosis, thrombosis, and stroke. The search for Lp(a) gene polymorphisms has been thought to be an option for early diagnosis and treatment of individuals carrying these polymorphisms as well as treatment in patients at risk for gene therapy modalities nowadays.

For this purpose, we investigated Lp(a) level and gene polymorphisms were associated with calcific aortic stenosis by taking 5cc blood samples after echocardiography from 75 patients who had calcific aortic stenosis diagnosed and 77 patients with normal aortic valve.

Before echocardiography, fasting blood tests were studied in our laboratory and evaluated and checked for risk factors.

Lp(a) level, rs10455872 polymorphism AA genotype and rs3798220 polymorphic TT genotype were found to be a genetic risk factor in the development of calcific aortic stenosis. It has also been found that smoking, blood serum LDL level elevation, elevated creatinine (hence low renal function) and low albumin level (as a possible negative acute phase reactant) are risk factors for the development of calcified aortic stenosis.

Key words: Lp(a) gene polymorphism, rs10455872, rs3798220, calcific aortic stenosis, genetic



KAYNAKLAR

1. Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation* 2005;111(24):3316-26.
2. Iung B, Vahanian A. Epidemiology of valvular heart disease in the adult. *Nat Rev Cardiol* 2011;8:162-72.
3. Iung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Gohlke-Başwolf C, Levang OW et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: the Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *Eur Heart J* 2003;24(13):1231-43.
4. Li C, Xu S, Gotlieb AI. The response to valve injury. A paradigm to understand the pathogenesis of heart valve disease. *Cardiovasc Pathol* 2011;20:183-90.
5. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *Cardiovascular Health Study. J Am Coll Cardiol* 1997;29:630-4.
6. Mohler ER, Sheridan MJ, Nichols R, Harvey WP, Waller BF. Development and progression of aortic valve stenosis: atherosclerosis risk factors--a causal relationship? A clinical morphologic study. *Clin Cardiol* 1991;14(12):995-9.
7. Novaro GM, Griffin BP. Calcific aortic stenosis: another face of atherosclerosis? *Cleve Clin J Med* 2003;70(5):471-7.
8. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, Gown AM, O'Brien KD. Characterization of the early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994;90(2):844-53.
9. Helske S, Kupari M, Lindstedt KA, Kovanen PT. Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Current opinion in lipidology*, 2007;18(5):483-91.

10. Wilmshurst PT, Stevenson RN, Griffiths H, Lord JR. A case-control investigation of the relation between hyperlipidaemia and calcific aortic valve stenosis. *Heart* 1997;78(5):475-9.
11. Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet* 2006;368:1005-11.
12. Kupari M, Lindroos M, Iivanainen AM, Heikkilä J, Tilvis R. Congestive heart failure in old age: prevalence, mechanisms and 4-year prognosis in the Helsinki Ageing Study. *Journal of internal medicine*, 1997;241(5):387-94.
13. Anderson RH. Clinical anatomy of the aortic root. *Heart* 2000;84(6):670-3.
14. <http://www.cormedicalgroup.com/wp-content/uploads/2012/08/aortic-valve-stenosis-300x195.jpg>
15. Poggianti E, Venneri L, Chubuchny V, Jambrik Z, Baroncini LA, Picano E. Aortic valve sclerosis is associated with systemic endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(1):136-41.
16. Baldassarre D, De Jong A, Amato M, Werba JP, Castelnuovo S, Frigerio B, et al. Carotid intima-media thickness and markers of inflammation, endothelial damage and hemostasis. *Ann Med* 2008;40(1):21-44.
17. Ghaisas NK, Foley JB, O'Briain DS, Crean P, Kelleher D, Walsh M, et al. Adhesion molecules in nonrheumatic aortic valve disease: endothelial expression, serum levels and effects of valve replacement. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(7):2257-62.
18. Chalajour F, Treede H, Ebrahimnejad A, Lauke H, Reichenspurner H, Ergun S. et al. Angiogenic activation of valvular endothelial cells in aortic valve stenosis. *Exp Cell Res* 2004;298(2):455-64.
19. Mann D, Zipes D, Libby P, Bonow R, Braunwald E, Braunwald's heart disease a textbook of cardiovascular medicine 10 th edition 2015. p. 1448-63
20. Jian B, Jones PL, Li Q, Mohler ER III, Schoen FJ, Levy RJ. Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis. *Am J Pathol* 2001;159:321-7.
21. Satta J, Melkko J, Pollanen R, Tuukkanen J, Paakko P, Ohtonen P, et al. Progression of human aortic valve stenosis is associated with tenascin-C expression. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:96-101.
22. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, Fischer CS, Vocke DC, Kiliç R et al. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2005;14(2):80-7.

23. Wallby L, Janerot-Sjöberg B, Steffensen T, Broqvist M. T-lymphocyte infiltration in non-rheumatic aortic stenosis: a comparative descriptive study between tricuspid and bicuspid aortic valves. *Heart* 2002;88(4):348-51.
24. Mazzone A, Epistolato MC, De Caterina R, Storti S, Vittorini S, Sbrana S et al. Neoangiogenesis, T-lymphocyte infiltration, and heat shock protein-60 are biological hallmarks of an immunomediated inflammatory process in end-stage calcified aortic valve stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(9):1670-6.
25. Chalajour F, Treede H, Gehling UM, Ebrahimnejad A, Boehm DH, Riemer RK et al. Identification and characterization of cells with high angiogenic potential and transitional phenotype in calcific aortic valve. *Exp Cell Res* 2007;313(11):2326-35.
26. O'Brien KD, Shavelle DM, Caulfield MT, McDonald TO, Olin-Lewis K, Otto CM ET AL. Association of angiotensin-converting enzyme with low-density lipoprotein in aortic valvular lesions and in human plasma. *Circulation* 2002;106:2224-30.
27. Olsson M, Rosenqvist M, Nilsson J. Expression of HLA-DR antigen and smooth muscle cell differentiation markers by valvular fibroblasts in degenerative aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1664-71.
28. Rajamannan NM, Otto CM. Targeted therapy to prevent progression of calcific aortic stenosis. *Circulation* 2004;110(10):1180-2.
29. Mohler ER, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation*. 2001;103(11):1522-8.
30. Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, Stock SR, Donovan J, Springett M et al. Human aortic valve calcification is associated with an osteoblast phenotype. *Circulation* 2003;107(17):2181-4.
31. Pohjolainen V, Taskinen P, Soini Y, Rysä J, Ilves M, Juvonen T et al. Noncollagenous bone matrix proteins as a part of calcific aortic valve disease regulation. *Hum Pathol* 2008;39(11):1695-701.
32. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nature reviews*. *Nat Rev Genet* 2003;4(8):638-49.
33. Kaden JJ, Dempfle CE, Kiliç R, Sarikoç A, Hagl S, Lang S et al. Influence of receptor activator of nuclear factor kappa B on human aortic valve myofibroblasts. *Experimental and molecular pathology*. *Exp Mol Pathol* 2005;78(1):36-40.
34. Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, Haase KK, Sarikoç A, Kılıç R et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36(1):57-66.
35. O'Brien KD, Reichenbach DD, Marcovina SM, Kuusisto J, Alpers CE, Otto CM. Apolipoproteins B, (a) and E accumulate in the morphologically early lesion of "degenerative" valvular aortic stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:523-32.

36. Olsson M, Thyberg J, Nilsson J. Presence of oxidized low density lipoprotein in nonrheumatic stenotic aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1218-22
37. Vahanian A, Iung B, Pierard L, Dion R, Pepper J. Valvular heart disease. In: Camm AJ, Lu'scher TF, Serruys PW, ed. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*, 2nd Edition. Malden/Oxford/Victoria: Blackwell Publishing Ltd; 2009:625–70.
38. Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, Chambers JB, Evangelista A, Griffin BP et al. Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;10:1-23.
39. Currie PJ, Seward JB, Reeder GS, Vlietstra RE, Bresnahan DR, Bresnahan JF et al. Continuous wave Doppler echocardiographic assessment of severity of calcific aortic stenosis: a Doppler-catheter correlative study in 100 adult patients. *Circulation* 1985;71:1162-9.
40. Otto CM, Burwash IG, Legget ME, Munt BI, Fujioka M, Healy NL et al. A prospective study of asymptomatic valvular stenosis: Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation* 1997;95(9):2262-70.
41. Weyman AE, Griffin BP. Left ventricular outflow tract: The aortic valve, aorta, and subvalvular outflow tract. In: Weyman AE, ed. *Principles and practice of echocardiography*. 2nd ed. Lea&Febiger; 1994. pp. 514-27.
42. Nishimura RA, Carabello BA. Hemodynamics in the cardiac catheterization laboratory of the 21st century. *Circulation* 2012;125:2138–50.
43. Shavelle DM. Evaluation of valvular heart disease by cardiac catheterization and angiography. Otto CM, Bonow RO (eds). *Valvular Heart Disease. A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2013.
44. Otto CM, Burwash IG, Legget ME. Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis. Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation* 1997;95:2262-70.
45. Maréchaux S, Hachicha Z, Bellouin A, Dumesnil JG, Meimoun P, Pasquet A et al. Usefulness of exercise stress echocardiography for risk stratification of true asymptomatic patients with aortic valve stenosis. *Eur Heart J* 2010;31:1390–7
46. Oh JK, Taliercio CP, Holmes DR Jr, Reeder GS, Bailey KR, Seward JB et al. Prediction of the severity of aortic stenosis by Doppler aortic valve area determination: prospective Doppler-catheterization correlation in 100 patients. *J Am Coll Cardiol* 1988;11:1227-34.
47. Pellikka PA, Sarano ME, Nishimura RA, Malouf JF, Bailey KR, Scott CG et al. Outcome of 622 adults with asymptomatic, hemodynamically significant aortic stenosis during prolonged follow-up. *Circulation* 2005;111:3290–5

48. Santos PC, Bueno CT, Lemos PA, Krieger JE, Pereira AC. LPA rs10455872 polymorphism is associated with coronary lesions in Brazilian patients submitted to coronary angiography. *Lipids Health Dis* 2014;13:74.
49. Chris B, Dimitra N, John V, Donnelly MJ, Martin SW et al. The vector population monitoring tool (VPMT): High-Throughput DNA-based diagnostics for the monitoring of mosquito vector populations. *Malaria Res Treatment* 2010;doi:10.4061/2010/190434.
50. https://www.lsbio.com/image2/human-hbv-hbsag-elisa-kit-sandwich-elisa-ls-f10106/255806_1927627.jpg
51. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, Smith JG, Smith AV, Peloso GM et al. Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med* 2013;368:503-12.
52. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Elevated lipoprotein(a) and risk of aortic valve stenosis in the general population. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:470-7.
53. Rashedi N, Otto CM. Aortic Stenosis: Changing Disease Concepts. *J Cardiovasc Ultrasound* 2015;23(2):59-69
54. Mautner GC, Roberts WC. Reported frequency of coronary arterial narrowing by angiogram in patients with valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol.* 1992;70(4):539-40.
55. Aronow WS, Ahn C, Shirani J, Kronzon I. Comparison of frequency of new coronary events in older persons with mild, moderate, and severe valvular aortic stenosis with those without aortic stenosis. *Am J Cardiol* 1998;81(5):647-9.
56. Aronow WS, Ahn C, Kronzon I, Goldman ME. Association of coronary risk factors and use of statins with progression of mild valvular aortic stenosis in older persons. *Am J Cardiol* 2001;88(6):693-5.
57. Rajamannan NM1, Evans FJ, Aikawa E, Grande-Allen KJ, Demer LL, Heistad DD et al. Calcific aortic valve disease: not simply a degenerative process. A review and agenda for research from the national heart lung and blood institute aortic stenosis working group. Executive summary: calcific aortic valve diseased 2011 update. *Circulation* 2011;124:1783–91.

EKLER



EK 1

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

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2015/222	
	PROTOKOL ADI	Lipoprotein a ve Gen Polimorfizmi ile Aort Kapak Kalsifikasyonu Arasındaki İlişki	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Fatih ÖZÇELİK	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 01/05		Tarih: 13.01.2016
	Fakültemiz Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatih ÖZÇELİK'in sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Uğur ÖZKAN'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
CALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

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

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
Dekan a.
Dekan Yrd.

EK 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 13.01.2016 tarih ve 01/05 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

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

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

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

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

- **Araştırmanın bilimsel adı:** Lipoprotein A ve gen polimorfizmi ile aort kapak kalsifikasyonu arasındaki ilişki
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Kalp kapak daralması veya kireçlenmesi ile yağ proteini arasındaki ilişki
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Prof Dr Fatih Özçelik Trakya Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı
- **Araştırmanın amacı:** Yağ proteini artışı ile kalp kapak kireçlenmesi veya daralması arasındaki ilişkiyi bulmak
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Araştırma bir tez çalışmasıdır
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Araştırma 1 mart 2016 tarihinde başlanması planlanmakta olup dokuz buçuk ay süre ile devam edecektir
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** Araştırmaya 77 sağlıklı ve 75 hasta olmak üzere 152 gönüllü ile yapılacaktır
- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Araştırma için sizden bir seferliğe mahsus olmak üzere kan örneği alınacaktır
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Araştırmada sizden alınan kandan yağ proteininize ve bunu üreten gen kısmına bakılacaktır
- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Araştırma başlangıcında kalp kapağında kireçlenme olup olmaması

durumunuza göre hasta yada kontrol grubunuz belirlenecek ve bu gruba dahil edileceksiniz

- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** -18 yaşından büyük olmak

-Kalp kapağında eko ile kapakta kireçlenme veya daralma saptanması (hasta bireyler için) veya kapağın tamamen normal olması (sağlıklı bireyler için)

-Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun kendi isteği/vasisi ile doldurması

-Kişinin kan vermesi için herhangi bir engelinin bulunmaması

- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Araştırmadan doğrudan yarar görmeniz beklenmemektedir
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Araştırmada herhangi bir sorumluluk taşımamaktasınız.
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Kan alınan bölgede kızarıklık şişme morarma ısı artışı görülebilir.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Kan alınmadan önce bu bölge alkol ile temizlenecek ve kan alındıktan sonra 5 dk sıkı baskı uygulanacaktır. Bunlara rağmen yukarıda bahsi geçen hadiseler gelişirse bu bölge alkollü pamuk ile sarılacak ve soğuk uygulama yapılacaktır.
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Araştırmamızda herhangi bir alternatif yöntem bulunmamaktadır
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Araştırmamızda kalıcı fonksiyon veya iç gücü kaybı oluşturacak zarar görmeniz beklenmemektedir. Olası zararlarınız sorumlu araştırmacı gözetiminde tedavisi planlanıp yapılacaktır. Tarafınıza tazminat ödenmeyecektir.
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Tarafınıza ödeme yapılmayacaktır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Kendi isteğiniz ile araştırmadan ayrılmak istemediğiniz sürece araştırmaya katılımınız sona erdirilmeyecektir
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?** Araştırma sonuçları ile ilgili bilgilendirilmeyeceksiniz.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:**

Dr Uğur Özkan (530) 327 75 35

- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Yağ proteini (lipoprotein a) kan seviyesi ve gen analizi (polimorfizmini) belirlemek için kullanılacaktır

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

“Artmış lipoprotein a değerleri ve aort kapak kalsifikasyonu veya stenozu arasındaki ilişki” araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar, vb...);

Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.



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

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

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

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

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

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

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- **Gönüllünün; (El yazısı ile)**

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....
.....

Tarih:

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

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

.....
.....

Tarih:

- **Açıklamaları yapan araştırmacının**

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih: