



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

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

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hatice UYGUN**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

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

**Ağustos-2011**



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

**ÇOCUKLARDA İZOLE ATRİYAL SEPTAL  
DEFEKT İLE *ROCK* (RHO-KİNAZ) GEN  
POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hatice UYGUN  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

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

**TEZ ONAY SAYFASI**

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

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

**Dr. Hatice UYGUN**

**Ağustos-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. Doç. Dr. Ali BAY
4. Doç. Dr. Mithat BÜYÜKÇELİK
5. Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

## I. ÖNSÖZ

Bu çalışmada bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen ve her konuda bana yardımcı olan, değerli tez hocam Sayın Doç. Dr. Osman BAŞPINAR,

Eğitimimde büyük emekleri olan Pediatri Anabilim Dalı'nın saygıdeğer hocalarına, istatistiksel analizlerde bana değerli zamanını ayıran ve yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK, örneklerin toplanması, işlenmesi ve bu çalışmanın düzenlenmesinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Serdar ÖZTUZCU'nun şahsında tüm laboratuvar ekibine,

Kanların toplanmasında yardımcı olan asistan arkadaşlarım, Dr. Gül KAYA, Dr. Sibel ÖZTÜRK, Dr. Derya SALKIN ve birlikte çalıştığım fedakar ve özverili tüm asistan arkadaşlarıma, sevgili intörn hekim arkadaşlarıma, pediatriinin tüm özverili hemşirelerine ve çalışanlarına,

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan Uzm. Dr. Mehmet AKSOY

Desteği ve sevgisiyle her zaman yanımda olan biricik eşim Dr. Özhan UYGUN ve bugünlere gelmemde büyük emeği olan anne ve babama,

teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Hatice UYGUN  
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. Atriyal septal defekt.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Embriyoloji.....	3
2.1.3. Etyoloji.....	5
2.1.4. Epidemiyoloji.....	6
2.1.5. Atriyal septum anatomisi.....	7
2.1.5.1. Sağ atriyum.....	8
2.1.5.2. Sol atriyum.....	8
2.1.6. Atriyal septal defekt tipleri.....	9
2.1.6.1. Ostium sekundum ASD (Fossa ovalis defektleri)..	9
2.1.6.2. Sinüs venozus ASD.....	9
2.1.6.3. Koroner sinüs tipi ASD.....	9
2.1.6.4. Ostium primum ASD.....	9
2.1.7. Patent foramen ovale.....	10
2.1.8. Atriyal septal anevrizma.....	10
2.1.9. Atriyal septal defektlere eşlik eden anomaliler.....	10
2.1.10. Patofizyoloji.....	11
2.1.11. Klinik belirti ve bulgular.....	12
2.1.12. Fizik muayene.....	13
2.1.13. Tanı.....	13
2.1.13.1. Elektrokardiyografi.....	13

2.1.13.2. Telekardiyografi.....	14
2.1.13.3. Ekokardiyografi.....	14
2.1.14. Tedavi.....	15
2.1.14.1. Cerrahi tedavi.....	15
2.1.14.2. Kateter yöntemi ile defektin onarımı.....	16
2.1.14.2.1. Perkütan ASD kapatılma kriterleri.....	17
2.1.14.2.2. Transkateter kapatmaya bağlı oluşabilecek komplikasyonlar.....	17
2.1.14.2.3. Transkateter ASD kapatılmasının kontrendikasyonları.....	17
2.1.14.2.4. Transkateter yöntem ile kapatmanın avantajları.....	18
2.1.15. Atriyal septal defektlerin doğal seyri.....	18
2.1.16. İnfektif endokardit profilaksisi.....	19
2.1.17. Yaşam kalitesi.....	19
2.2. Rho-kinaz sinyalizasyon yolağı.....	19
2.2.1. Rho proteinleri.....	19
2.2.2. Rho-kinaz.....	21
2.2.3. Kardiyovasküler doku ile rho-kinaz sinyalizasyon yolağı ilişkisi.....	24
2.2.4. Rho-kinaz gen polimorfizmi.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Araştırmanın tipi.....	29
3.2. Araştırmanın evreni.....	29
3.3. Araştırmaya dahil edilme ölçütleri.....	29
3.4. Kanların alınması ve saklanması.....	30
3.5. DNA izolasyonu ve polimerize zincir reaksiyonu (PCR).....	30
3.6. PCR işlemi ile Ekzon 16 (Rs35768389) ve Ekzon 26 (Rs34945852) bölgesi polimorfizmlerinin tespiti.....	30
3.7. Real time PCR ile Ekzon 10 (Rs:9808232) bölgesi polimorfizmlerinin tespiti.....	33

3.8. İstatistiksel analiz.....	35
4.BULGULAR.....	36
5.TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR VE ÖNERİ.....	44
7. KAYNAKLAR.....	45
8. EKLER.....	58
8.1. Etik Kurul Kararı.....	58

### III. ÖZET

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

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hatice UYGUN

ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI AD

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Osman BAŞPINAR

GAZİANTEP-Ağustos/2011, 59 Sayfa

Atriyal septumda foramen ovale dışındaki açıklıklar atriyal septal defekt (ASD) olarak tanımlanır. Atriyal septal defektlerin etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Rho-kinaz sinyal yolağının, hücrenin farklılaşması, çoğalması, bölünmesi ve ölümü gibi çok sayıda hücre fonksiyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. ASD oluşum teorilerinden birisi, transkripsiyon faktörlerindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan gen ekspresyonu ve farklılaşmasındaki anormalliklerdir. Bu çalışmada *ROCK-2* gen polimorfizmi ile izole ASD arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır.

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Pediatrik Kardiyoloji Bölümü polikliniğine başvuran, izole ASD 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 (tek nükleotid polimorfizmi) tespitleri yapılmıştır. Kontrol grubundan 22, ASD grubundan 27 kişinin DNA'ları ayrıştırılmadığından çalışmadan çıkarılmıştır.

*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 saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Sonuç olarak, *ROCK2* geni Thr431Asn polimorfizmi ile izole ASD arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

Anahtar sözcükler: Atriyal septal defekt, Polimorfizm, *ROCK2*, Rho-kinaz.

#### IV. ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE ASSOCIATION BETWEEN *ROCK2* (RHO-KINASE) GENE POLYMORPHISM AND ISOLATED ATRIAL SEPTAL DEFECTS IN CHILDREN

**Dr. Hatice UYGUN**  
**Resident Thesis, Department of Pediatrics**  
**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Osman BAŞPINAR**  
**Gaziantep-August 2011, 59 pages**

Apertures at atrial septum except foramen ovale are named as atrial septal defect(ASD). The etiopathogenesis of ASD's can not be clearly illuminated. Has been shown that Rho-kinase signal pathway plays a role at some critical cellular functions like cell differentiation, proliferation, division and death. One of the theories about ASD formation is abnormalities in gene expression and differentiation caused by mutation at transcription factors. The aim of this study was to investigate the relationship between ROCK-2 gene polymorphism and isolated ASD.

The patients who admitted to Pediatric Cardiology department outpatient clinic of University of Gaziantep Medicine Faculty Hospital and have been diagnosed as isolated ASD (n=150) and healthy volunteers who has no cardiac disease (n=150) was taken into this study. DNA isolation were made from blood samples of the patients and control group. SNP (single nucleotide polymorphism) detection was made for exon 16 and 26 by PCR method and for Exon 10 by Real Time PCR method. 22 persons in control group and 27 patients in ASD group were excluded from the study because of unsuccessful DNA isolation.

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 statistically significant difference between controls and patients in genotype frequencies and allele frequencies ( $p>0.05$ ).

Finally no statistically significant relation between isolated ASD and Thr431Asn polymorphism on ROCK2 gene has been found ( $p>0.05$ ).

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

**V. KISALTMALAR**

<b>Kısaltma</b>	<b>Açıklama</b>
ASD	: Atriyal septal defekt
AV	: Atriyovertriküler
cGMP	: Siklik guanil mono fosfat
EDTA	: Etilendiamintetra asetik asit
FO	: Foramen ovale
GDP	: Guanozin difosfat
GTP	: Guanozin trifosfat
GTPaz	: Guanozin trifosfataz
kDa	: Kilodalton
LA	: Sol atriyum
LV	: Sol ventrikül
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
OR	: Odds oranı
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PFO	: Patent foramen ovale
PKN	: Protein kinaz
Qp	: Pulmoner akım
Qs	: Sistemik akım
RA	: Sağ atriyum
RV	: Sağ ventrikül
SD	: Standart sapma
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
TÖE	: Transözefagial ekokardiyografi

## VI. TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Rho-kinaz substratları .....	23
<b>Tablo 2.</b> Ekzon 10 için HRM (High Resolution Melting) analizi ile SNP tespiti .....	34
<b>Tablo 3.</b> Atriyal septal defekt ve kontrol gruplarının cinsiyet, yaş ve çocukluk dönemlerine göre dağılımı .....	37
<b>Tablo 4.</b> Atriyal septal defektli hastaların çapa göre sınıflaması .....	38
<b>Tablo 5.</b> Kontrol grubu ve ASD hastalarında <i>ROCK2</i> geni Ekzon16 Asp601Val polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları .....	39
<b>Tablo 6.</b> Kontrol grubu ve ASD hastalarında <i>ROCK2</i> geni Ekzon26 Lys1083Met polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	39
<b>Tablo 7.</b> Kontrol grubu ve ASD hastalarında <i>ROCK2</i> geni Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	40
<b>Tablo 8.</b> Sekundum ASD ile Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları.....	40

**VII. ŞEKİLLER LİSTESİ**

<b>Şekil 1.</b> İnteratriyal septumun embriyolojik gelişim süreci.....	5
<b>Şekil 2.</b> Amplatzer septal oklüder .....	16
<b>Şekil 3.</b> Rho aktivitesinin düzenlenmesi.....	20
<b>Şekil 4.</b> Rho-kinaz ve düzenlenmesi.....	22
<b>Şekil 5.</b> Vasküler düz kas kasılmasının mekanizması.....	27
<b>Şekil 6:</b> Real Time PCR ile SNP tespiti.....	35
<b>Şekil 7.</b> Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı.....	36
<b>Şekil 8.</b> Atriyal septal defektli hastaların çocukluk dönemlerine göre dağılımı....	37
<b>Şekil 9.</b> Atriyal septal defektli hastaların boyuta göre dağılımı .....	38

**VIII. RESİMLER LİSTESİ**

<b>Resim 1.</b> Ekzon 16 PCR sonucu.....	31
<b>Resim 2.</b> Ekzon 16 kesim sonucu.....	32
<b>Resim 3.</b> Ekzon 26 PCR sonucu.....	33

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Atriyal septumda foramen ovale dışındaki açıklıklar atriyal septal defekt (ASD) olarak tanımlanır (1.2). Atriyal septal defektlerin kesin nedeni tam bilinmemekle birlikte hem çevresel etkenlerin hem de ailesel yatkınlığın etyolojide rol oynadığı kabul edilmektedir. Çocuklarda atriyal septal defekt sıklığı birçok yazara göre değişmekle birlikte tüm doğumsal kalp anormalliklerinin %6-10'unu oluşturmaktadır (3). İnsidansı 1500 canlı doğumda birdir (4). Ancak renkli Doppler ekokardiyografi ile yapılan yeni çalışmalarda insidansın daha da yüksek olduğu (%0.2) bildirilmektedir (5). Etiyopatogenez ile ilgili çeşitli hipotezler öne sürülmektedir; atriyal septal defekt oluşumuna, transkripsiyon faktörlerindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkan gen ekspresyonu ve farklılaşmasındaki anormalliklerin neden olabileceği hipotezi, bizi bu çalışmayı yapmaya sevketmiştir.(6).

Rho-kinaz sinyal yolağının, hücrenin farklılaşması, çoğalması, bölünmesi ve ölümü, trombosit kümeleşmesi, lenfosit ve fibroblast adhezyonu, aktin hücre iskeleti reorganizasyonu, hücre hareketi ve göçü, düz kas kasılması, stres liflerinin oluşumu, aksonal uzama ve tümör metastazı gibi hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli görevleri olduğunu biliyoruz. Rho proteinleri monomerik GTPazların Ras süperfamilyasının Rho subfamilyası üyeleridir. Küçük molekül ağırlıklı GTP bağlayıcı proteinler, 20-40 kDA'lık monomerik G proteinleridir. Rho-kinaz yaklaşık 1388 aminoasit dizisinden oluşur. Bu dizide amino (N) ve karboksil (C) uçları bulunmaktadır. Rho-kinaz, aynı zamanda *ROCK $\alpha$*  veya *ROCK2* olarak isimlendirilir. *ROCK $\beta$*  veya *ROCK1* Rho-kinazın bir izoformudur. İnsanda *ROCK1* ve *ROCK2* genleri sırasıyla 18. kromozom (18q11.1) ve 2. kromozomda (2p24) yer almaktadır. *ROCK1*'in akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve testiste *ROCK2*'nin de beyin ve kalpte daha fazla eksprese edildiği bildirilmiştir. Rho-kinaz enziminin hemen hemen her dokuda varlığı gösterilmiştir (7-11).

Rho-kinaz yolağının ASD'nin patogeneğinde rolü olabileceğini gösteren insanlar üzerinde yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu alışma ile Türk toplumunda *ROCK2* gen polimorfizmi (Thr431Asn (ekzon 10), Lys1083Met (ekzon 26) ve Asp601Val (ekzon 16)) ile ASD arasındaki muhtemel ilişkiyi ortaya koymak amaçlanmıştır. İzole ASD'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. Atriyal septal defekt

#### 2.1.1 Tanım

Atriyal septumda foramen ovale dışındaki açıklıklar ASD olarak tanımlanır (1,2).

Defektin lokalizasyonuna göre “sekundum atriyal septal defekt (fossa ovalis defekti), ostium primum tip atriyal septal defekt, sinüs venozus tip atriyal septal defekt ve koroner sinüs tipi atriyal septal defekt” olmak üzere dört farklı şekilde görülürler (1).

Defektlerin tümü gerçek interatriyal septumda yer almıyor olsalar da benzer şekilde interatriyal bağlantıya neden olurlar. İzole veya diğer konjenital kalp hastalıkları ile birlikte görülebilirler (1).

İlk olarak Galen normal fetusta interatriyal ilişkinin varlığını göstermiştir. Leonardo Da Vinci ise 1513 yılında (Quaderni d'Anatomia,1513) insan otopsilerinde ASD'yi bildirmiştir (12). ASD'nin ilk anatomik tanımını ise 1875 yılında Von Rokitansky yaparken, Bedford ve arkadaşları (13) 1941 yılında bir kısım hastada ASD'yi klinik olarak tanımlamışlardır .

#### 2.1.2. Embriyoloji

Fetal hayatın ilk 20 gününde kalp ve damarların gelişimi başlamaktadır. Başlangıçta birbirine paralel iki boru şeklinde olan bu sistem 4. haftanın başında tek bir boru halinde orta hatta birleşir. Bunu izleyerek kalp tüpünde boğumlaşmalarla atriyum, ventrikül ve trunkus bölgeleri belirir (14-16).

Fetal hayatın birinci ayı sonunda atriyumlar iki loblu bir görünüm kazanır. Primitif kalbin septum primum ve septum sekundum olarak bilinen iki septasının gelişimi ile iki atriyum oluşur. Bu septumlar ortaya çıkış zamanlarına göre isimlendirilir. Septum primum embriyolojik yaşamın 4. haftasında primitif atriyumun ön alt kısmında, sagittal bir kıvrım şeklinde atriyovenriküler (AV) kanalın endokard yastıklarına doğru büyür

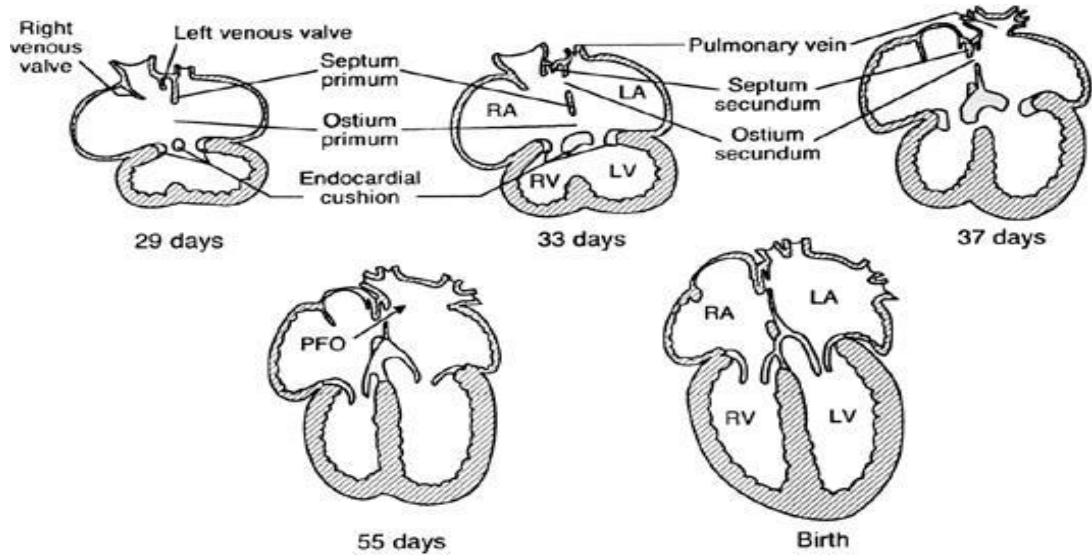
(Şekil 1).

Septum primumun alt kenarındaki açıklık ‘ostium primum’ olarak adlandırılır. Septum primumun AV kanalın endokard yastıkları ile kaynaşması ve ostium primumun kapanmasından önce, septum primumda ikinci bir açıklık ortaya çıkar. Bu açıklık septum primumun üst kısmındaki dokunun rezorpsiyonu ile oluşur ve ‘septum primum ostium sekundum’ olarak adlandırılır. Bu yapı embriyolojik yaşamın 5-6. haftalarında oluşur. Bu sırada primitif kalpte ikinci bir septum gelişmeye başlar. Septum primumun sağında yer alır ve bu ikinci septum ‘septum sekundum’ olarak adlandırılır. Alt ucu atriyal septumun en alt kısmı ile kaynaşır. Septum sekundumdaki açıklık konkav şekli nedeni ile foramen ovale (FO) adını alır. Foramen ovale ve ostium sekundum sağ atriyum ile sol atriyum arasında sağdan sola kan akımına izin verir. Bu sağdan sola akım fetusta akciğerlerdeki pulmoner damar direncinin sistemik damar direncinden fazla olmasıyla oluşur (17).

Doğumdan sonra septum sekundum ve septum primumun foramen ovale bölgesinde kaynaşması ile foramen ovale ve septum primum tümüyle kapanır. Ancak yetişkinlerin %25-35’inde septum primumun kapağı septum sekundum ile tam olarak kaynaşmaz ve foramen ovalenin kapağı olarak davranır. Bu yapı açılma riski taşır ve patent foramen ovale (PFO) adını alır (2).

Sağ atriyum basıncı sol atriyum basıncından fazla olduğunda şanta izin verir. Ancak normal bir bireyin postnatal yaşamında sol atriyum basıncı sağ atriyum basıncından fazla olduğu için foramen ovalenin kapağı genellikle kapalıdır.

Atriyal septasyon ile eş zamanlı olarak sinüs venozusun sağ boynuzu sağ atriyumla birleşirken, sol boynuzu ise koroner sinüsü oluşturur. Sinoatriyal bileşkede içe katlanma ile sağ ve sol venöz kapaklar meydana gelir. Sol venöz kapak fossa ovalisin süperiyor, posteriyor ve inferiyor kenarlarına füzyon yaparken sağ venöz kapak inferiyor vena kava ve koroner sinüsün rudimenter kapaklarını oluşturur (sırasıyla Eustachian ve Thebesian kapaklar) (18)



Şekil 1. İnteratriyal septumun embriyolojik gelişim süreci

### 2.1.3.Etyoloji

Atriyal septal defektlerin kesin nedeni iyi bilinmemekle birlikte hem çevresel etkenlerin hem de ailesel yatkınlığın etyolojide rol oynadığı kabul edilmektedir. Atriyal septal defektler genellikle sporadik olarak oluşsa da ailevi olarak da görülebilir.

Ailevi geçişin en iyi bilinen örneği Holt Oram sendromudur. Holt Oram tarafından 1960 yılında tanımlanmıştır. En sık radius yokluğu veya hipoplazisi şeklinde üst ekstremitte anormallikleri ve sağ dal bloğu veya 1. derece atriyoventriküler blok gibi iletim anormallikleri ASD'ye eşlik eder (19).

Li ve ark. 1997 yılında bir komponenti ASD olan, üst ekstremitte anomalileri ile birlikte giden ve yüksek penetranslı otozomal dominant kalıtım paterni gösteren Holt-Oram sendromuna, TBX5'teki mutasyonun sebep olduğunu göstermişlerdir (20).

Foramen ovale tipi ASD'lerin bir başka ailevi tipi, uzun AV iletili ailevi ASD sendromudur. Otozomal dominant geçişli olup penetransı çok yüksektir. Ancak bunlarda iskelet anormalliği görülmez (13).

Son yıllarda sendromik olmayan ve ailesel geçiş gösteren ASD alt tipleri tanımlanmıştır. Bunlarla ilgili iki heterozigot gen, NKX2.5 ve GATA-4 tespit edilmiştir (21).

Nadeau ve ark. (22) 2010 yılında yaptıkları çalışmalarında transkripsiyon faktörü

olan Tbx5, GATA4, NKX2.5'in mutasyonlarının insanda ASD oluşumunda etkili olduğunu göstermişlerdir .

King ve ark. (23) 2008 yılında yaptıkları çalışmalarında hücrenin çoğalması, farklılaşması ve ölümünde rolü olan transkripsiyon faktörü E2F3'ün kaybının farelerde ASD ve birçok konjenital kalp hastalığı oluşumunda rolü olduğunu göstermişlerdir .

Matsson ve ark. (24) 2007 yılında yaptıkları çalışmalarında 15. kromozom q13–q21 lokalizasyonundaki alfa kardiyak aktin (ACTC1)'in normal kardiyak morfogenezde kritik önemi olduğu ve eksikliğinin ASD oluşumuna neden olduğunu göstermişlerdir .

Zhu ve ark. (25) 2007 yılında yaptıkları çalışmalarında transkripsiyon faktörü olan Csx/Nkx-2.5'teki mutasyonların memelilerde ASD oluşumuna neden olduğunu göstermişlerdir .

Genetik danışmanlık yapılırken bu ailesel formların tanınması önemlidir. Birinci derece akrabalarda hastalığın görülme riski ASD'nin sık görülen sporadik formunda %3 iken, ailesel formlarında bu oran %50'e çıkmaktadır (26).

Otozomal dominant geçişli Noonan sendromlu olguların %25'inde ASD görülmekte, atriyoventriküler septal defektlerin primum ASD komponenti, Down sendromu, DiGeorge sendromu ve otozomal resesif geçişli Ellis-Van Creveld sendromu ile birlikte görülmektedir (27).

#### **2.1.4. Epidemiyoloji**

Ekokardiyografi klinik kullanıma girene kadar ASD'nin prevalansı tam olarak ortaya konulamamıştır. Çünkü çoğu hasta asemptomatiktir. Bu hastalar kardiyak kateterizasyon ve anjiyografi için de aday değildir. Aynı zamanda sık rastlanılan kendiliğinden kapanma nedeni ile post mortem verilerin incelenmesine dayalı klinik çalışmaların da prevalansı tam olarak göstermediği düşünülmektedir.

Çocuklarda atriyal septal defekt sıklığı birçok yazara göre değişmekle birlikte tüm doğumsal kalp anormalliklerinin %6-10'unu oluşturmaktadır (3). İnsidansı 1500 canlı doğumda birdir (4). Ancak renkli Doppler ekokardiyografi ile yapılan yeni çalışmalarda insidansın daha da yüksek olduğu (%0.2) bildirilmektedir (5).

Erişkinlerin %25'inde patent foramen ovalenin varlığı bilinmektedir. Gerçek ASD ise erişkinlerin en sık rastlanılan doğuştan kalp anomalisidir. Bunun nedeni hastaların çoğunda ciddi semptom olmadığından hastalığın gözden kaçmasıdır.

Çocuklarda ve erişkinlerde ASD'nin kadınlarda erkeklere oranla iki kat daha fazla görüldüğü bilinmektedir (3). Ancak bunun nedeni hala açıklanabilmiş değildir.

### **2.1.5. Atriyal septum anatomisi**

Kalbin sağ tarafından bakıldığında, atriyal septumun interatriyal ve atriyoventriküler bölümlerden oluştuğu görülebilir. İnteratriyal septum, morfolojik sağ atriyumun anatomik bulgusu olan fossa ovalis ile karakterizedir. Dıştaki kaslı çevre dokusu at nalı şeklindeki limbus olup, içteki merkezi çukurlaşma fossa ovalisin kapağıdır (28,29).

Limbus ve kapak arasındaki potansiyel atriyumlar arası geçiş yoluna (fetal dönem boyunca açık olan) 'foramen ovale' denir. Sol taraftan bakıldığında, atriyal septumun atriyoventriküler bölümü mitral anülüsün altında, sol ventrikül ile sağ atriyumun arasında kaldığından, sadece interatriyal bölümü görülebilir. Aynı şekilde fossa ovalisin limbusu mat bir kapakla kapatılmıştır ve bu yüzden sol atriyum tarafından limbusun görülebilmesi mümkün değildir (30).

Erişkinlerin 2/3'ünde foramen ovale anatomik olarak kapalıdır, fakat kalan 1/3'ünde açık olup şant ve paradoksik emboli için risk oluşturmaktadır. Her iki atriyumun oldukça büyüdüğü durumlarda atriyal septumun gerilmesi açık olan foramen ovaleyi edinilmiş bir atriyal septal defekte dönüştürebilir. Posteriyor aortik sinüs interatriyal septumun hemen komşuluğundadır. Transseptal işlem esnasında fossa ovalisin kapağının sınırları içerisinde kalmaya özen gösterilmelidir, aksi halde aortik sinüs yırtılabilir (29)

Atriyal septumun atriyoventriküler bölümü majör müsküler ve minör membranöz parçalardan oluşur ve sağ atriyumun sol ventrikülden ayırır. Bu sol ventrikül ile sağ atriyum arasında potansiyel bir geçiş yolu olduğunu açıklar. Atriyoventriküler septum aşağı yukarı Koch üçgenine denk gelir. Koch üçgeni AV düğümü ve AV (his) demetinin proksimal bölümünü içine alan önemli bir anatomik cerrahi bölgedir. Atriyoventriküler septumun müsküler bölümü anteriyordaki membranöz septum ile posteriyordaki internal kardiyak nokta arasında bulunur. Müsküler septumda bir defekt olduğu zaman mitral anülüs düşerek triküspit anülüsünün bulunduğu seviyeye gelir, böylece defekt primer olarak interatriyal defekt (primum atriyal septal defekt) adını alır ve AV ileti inferiyora kayar (29-31).

### 2.1.5.1. Sağ atriyum

Krista terminalis olarak isimlendirilen belirgin internal kas çıkıntısı sağ atriyum serbest duvarını, koroner sinüsü ve vena kavayı bulunduran pürüzsüz yüzeyle posteriyor bölge ve müsküler anteriyor bölge olmak üzere ikiye ayırır. Müsküler anteriyor bölge sağ atriyal apendiksi de oluşturan paralel pektinat kaslarla kaplıdır (28,30).

Sağ atriyal apendiks sağ aortik sinüsün yakın komşuluğunda olup proksimal sağ koroner arterin üzerinde uzanır. Pektinat kasları arasında sağ atriyum serbest duvarı kağıt kadar incedir, dolayısı ile kateter ile kolaylıkla yırtılabilir (28,30).

İnferiyor vena kava kan akımı üstaki kapağının etkisiyle foramen ovaleye, süperiyor kan akımı ise triküspit kapağa doğrudur (30). Bundan dolayı transseptal kateterizasyonu inferiyor vena kava yolu ile gerçekleştirmek daha kolaydır. Aynı mantıkla sağ ventrikül apeksinde yapılacak bir işlemin süperiyor vena kava yolu ile gerçekleştirmesi daha kolaydır.

Sağ atriyumun endokrin fonksiyonları da vardır. Sağ atriyum dilatasyonu veya konjestif kalp yetmezliği gibi durumlarda atriyal natriüretik peptid salgılar, sodyum ve vücut sıvısının düzenlenmesinde kardiyorenal sistemin bir parçası olarak rol oynar (2).

### 2.1.5.2. Sol atriyum

Pulmoner venlerin ağızları sol atriyal boşluğun posterolateral (sol pulmoner venler) ve posteromediyal tarafında (sağ pulmoner venler) bulunur. Sol ve sağ üst pulmoner venler anterosuperiora doğru yönelirken, alt pulmoner venler posteriyor atriyal duvara dik bir açıyla sol atriyuma girerler (28,30). Sol atriyal kas lifleri pulmoner venlerin içine doğru bir miktar uzanır.

Atriyal apendiks anterolateral bölgede bulunur ve sol sirkümfleks arterin veya bazı kişilerde sol koroner arterin üzerinde, sol atriyoventriküler olukta uzanır (29).

Sol atriyal apendiks sağ atriyal apendiksten daha küçük, daha kıvrımlıdır ve piramit şekline daha az benzer (28,30). %80 oranında birden fazla loba sahiptir (en sık iki lobludur fakat dört loblu da olabilir). Yaşa ve cinsiyete bağlı olarak apendiksin boyutlarında da farklılıklar olabilir. Sağ atriyal serbest duvarının aksine solda krista terminalis bulunmaz ve pektinat kasları apendiks dışında yoktur. Koroner sinüs sol atriyumun posteriyor duvarı boyunca sol atriyoventriküler olukta uzanır.

### **2.1.6. Atriyal septal defekt tipleri**

#### **2.1.6.1. Ostium sekundum ASD (Fossa ovalis defektleri )**

Gerçek atriyal ‘septal’ defektler, fossa ovalisteki defektler olup sekundum ASD olarak isimlendirilirler. En sık görülen formdur (%70-80). Müsküler interatriyal katlantı, septum olarak adlandırılır ve fossanın yokluğu veya perforasyonu sekundum defekti oluşturur(32). Sekundum ASD’ler tek ya da multipl (pencereli atriyal septum) olabilirler (17).

#### **2.1.6.2. Sinüs venozus ASD**

Tüm ASD’lerin % 5-10’unu oluşturur. Sinüz venozus tipi ASD süperiyor vena kava girişi ile yakın ilişki içerisinde olup atriyal septumun süperiyor kısmında yerleşmiştir. Nadiren inferiyor vena kava ağzında yer alırlar. Sadece anteriyor rimi bulunur (2). Sıklıkla bir veya daha fazla pulmoner ven (genellikle sağ akciğere ait olanlar) anormal olarak süperiyor vena kavaya drene olurlar. Bazen defekte süperiyor vena kava da dahil olur; bu durumda sistemik venöz kanın bir kısmı sol atriuma girer, fakat nadiren siyanoza neden olur.

Ekokardiyografi ile bir sinüs venozus ASD saptandığı zaman, ilişkili parsiyel venöz dönüş mutlaka araştırılmalıdır.

#### **2.1.6.3. Koroner sinüs tipi ASD**

Nadir olarak görülür. Koroner sinüs çatısının gelişimsel eksikliği sorumlu tutulmaktadır (2). Fossa ovalis’in anteriyor inferiyor kısmının defektidir. Koroner sinüs ile sol atriyum arasındaki atriyal septum dokusunun kısmen veya tamamen yokluğu ile karakterizedir. Birçok vakada persistan sol süperiyor vena cava mevcuttur (32).

#### **2.1.6.4. Ostium primum ASD**

Atriyal septumun büyük kısmının defektif olduğu tiptir. Bu hastalardaki temel anomali atriyal septal defekt içindeki bir soldan sağa şant ile mitral kapak yetersizliğinin (bazen triküspit) bileşimidir. Primum ASD aynı zamanda parsiyel atriyoventriküler septal defekt olarak da bilinir. Şant genellikle orta ile büyük derecede olup, mitral yetersizliğin derecesi hafif ile orta düzeyde ve pulmoner arteriyel basınç tipik olarak

normal veya sadece hafifçe artmıştır (17). Mitral kapak her zaman yarık şeklindedir ve birçoğu asemptomatiktir.

### **2.1.7. Patent foramen ovale (PFO)**

Fetal hayatta sağ atriyumdan sol atriyuma doğru normal interatriyal bağlantıyı sağlayan foramen ovale, postnatal dönemde pulmoner venöz dönüş artıp sol atriyum (LA) basıncı sağ atriyum (RA) basıncını geçince, fossa ovalis valvinin limbusu üzerine basılması ile fonksiyonel olarak kapanır. Yaşamın ilk yılında limbus ve valv arasında fibröz adezyonların oluşması ile tam anatomik kapanma gerçekleşir. Normal toplumun %25-30'unda bu birleşme olmaz, ancak LA basıncı RA basıncından daha yüksek olduğu sürece valv limbus üzerine kapalı kalacağından interatriyal şant görülmez. Bu duruma 'patent foramen ovale' adı verilir. Sağ atriyal dilatasyona sekonder olarak limbus gerilip kapak valv ile arası açılırsa, foramen ovaleden kardiyak siklus boyunca interatriyal şant görülür, akkiz bir ASD olarak nitelendirilecek bu duruma 'valvüler inkompetan foramen ovale' adı verilir (15,33-36).

### **2.1.8. Atriyal septal anevrizma**

Fossa ovalis valvinin dokuca fazlalığı nedeni ile meydana gelir. Atriyal septumun sağ veya sol atrium içine doğru >10 mm uzanmasıdır. Zamanla gerileme eğilimindedir. Bebeklerde daha sıktır. Patent foramen ovale, sekundum ASD ve mitral valv prolapsusu ile birlikte sık görülür (33 ,37).

### **2.1.9. Atriyal septal defektlere eşlik eden anomaliler**

Tüm ASD'lerin %14'ünde pulmoner venöz dönüş anomalisi görülür (sinüs venozus ASD'lerde %83, sekundum ASD'lerde %3). Mitral valv prolapsusu mitral kleft, mitral yetmezlik, triüspit yetmezliği, ventriküler septal defekt (VSD), patent duktus arteriyozus (PDA), pulmoner darlık, aort koarktasyonu ASD ile birlikte sık görülen kardiyovasküler sistem anomalileridir (15,38).

Primum ASD'lerle birlikte diğer ASD tipleri, sol persistan süperiyor vena kava, VSD, PDA, pulmoner darlık, sol ventrikül çıkış yolu darlıkları ve aort koarktasyonu görülebilir.

### 2.1.10. Patofizyoloji

Postnatal ilk birkaç hafta içinde pulmoner vasküler direnç düşer, sağ ventrikül (RV) kompliyansı artar, böylece ASD'den sol-sağ şant artar (39,40). Atriyal septumdaki defekt nedeni ile LA'dan RA'ya geçen kan RV tarafından akciğere pompalanır. Pulmoner kan akımı sistemik kan akımına oranla artmıştır. Büyük defekt söz konusu olduğunda kronik sol-sağ şant sağ taraflı kalp yapıları üzerinde hacim yüklenmesine neden olur. Triküspit ve pulmoner kapak anulusu genişler, kapaklarda yetersizlik gelişebilir. Ayrıca ana pulmoner arterin genişlemesi görülebilir.

ASD'den şantın yönünü LA ve RA'nın nispi basınçları belirler. Atriyal basınçlar ilgili oldukları ventriküllerin doluşa karşı direnci ve esnekliği ile belirlenir. Bu nedenle oluşan şantın düzeyi, LV ve RV'nin göreceli esnekliğine bağlıdır (14,41).

Doğumda RV ve LV esnekliği birbirine çok yakındır, bu nedenle neonatal dönemde şant çok azdır. Pulmoner vasküler direnç azaldıkça ve RV karakteristik olarak ince duvarlı şeklini aldıkça RV'nin doluşa karşı direnci azalır ve ASD'den geçen sol-sağ şant zamanla artar. Ayrıca yaşla birlikte LV esnekliği de azalır bu da sol-sağ şantı artırır. LA basıncı tüm kalp siklusu boyunca RA basıncını aştığı için sol-sağ şant devamlıdır. Sol-sağ basınç farkları ventrikül sistolünün ikinci yarısında en belirgindir. Sol atriyumun V dalgası sırasında farklı bir pik oluşur. En fazla sol-sağ şant bu sırada oluşur (41,42).

Atriyal septumdan geçen sol-sağ şant ekspiryumda göğüs içi basıncının artması ile artar, inspiryumda göğüs içi basıncının azalması ile azalır. Sağ-sol şantta durum tam tersidir. Sağ ventrikül hipertrofisi ve pulmoner vasküler hastalık kalp siklusu sırasındaki sağ-sol şantın süresini ve düzeyini artırır (41,42).

Defektin çapı şant miktarını belirlemede ikincil rol oynar. Klasik olarak ASD de defekt çapının şant miktarı ile ilişkisi olmadığı kabul edilirse de son zamanlarda defekt çapı ve defekt alanı ile pulmoner akımın ( $Q_p$ ) sistemik akıma ( $Q_s$ ) oranı ( $Q_p/Q_s$ ) arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir (43).

Çapı  $\leq 6$  mm,  $Q_p/Q_s < 1.5$ , sağ ventrikül yüklenmesi olmayan, interventriküler hareketleri normal, pulmoner arter basıncı  $< 30$  mmHg olan izole defektler küçük ASD; çapı  $\geq 7$  mm,  $Q_p/Q_s > 1.5$ , sağ ventrikül yüklenmesi olan izole defektler orta-geniş ASD'ler olarak nitelendirilir (18).

ASD'li bebeklerde semptomların belirgin olmaması, erken yaşamda sağ ventrikülün müküler duvarının kalın ve esnekliğinin düşük olmasına bağlıdır. Bebek büyüdükçe ve

pulmoner vasküler direnç düştükçe, sağ ventrikül duvarı incelir ve ASD'den geçen soldan sağa şant artar (2). Kalbin sağ tarafından kaynaklanan büyük kan akımı sağ atriyum ve ventrikülün genişlemesine ve pulmoner arterin dilatasyonuna neden olur. Sol atriyum genişleyebilir ancak, sol ventrikül ve aort normal büyüklüktedir. Artmış pulmoner kan akımına rağmen pulmoner arteriyel basınç, pulmoner ve sistemik dolaşım arasında yüksek basınçlı bağlantının olmamasından dolayı genellikle normaldir.

Pulmoner vasküler direnç, erişkin dönemde artmaya başlamaktadır. Bu da şantın ters dönmeye ve klinik olarak siyanoza neden olabilmektedir. Bu durum çocukluk çağı boyunca genelde görülmemektedir (17). Pulmoner vasküler obstrüktif hastalık vakaların % 5-10'unda bildirilmektedir (33,44).

### **2.1.11.Klinik belirti ve bulgular**

ASD'li bebeklerin çoğu asemptomatiktir. Fizik muayenede sol ikinci interkostal aralıkta yumuşak bir sistolik üfürüm, ikinci sesin geniş ve çift olarak duyulması ile tesadüfen fark edilir (2).

Semptomlar yaşa ve şantın büyüklüğüne bağlıdır. İleri derecede büyük bir sekundum ASD bile, çocukluk çağında nadiren kalp yetersizliği oluşturur. Ancak primum ASD'lerde sol AV kapak yetersizliği nedeni ile kalp yetersizliği daha sık görülür. Küçük çocuklarda hafif büyüme geriliği bulunabilirken; daha büyük çocuklarda egzersiz kapasitesinde azalma görülebilir (17).

Orta derece şantı olan büyük çocuklar genelde asemptomatiktir. Büyük şanlı çocuklarda çabuk yorulma, dispne görülebilir ve yakınmalar çocuk büyüdükçe artar. Kalp yetersizliği ve tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonları görülebilir. Çocukluk çağındaki bu nispeten selim seyirinin aksine erişkinlerde yaşın ilerlemesi ile yaşam kalitesi olumsuz etkilenir ve önemli derecede mortalite ve morbiditeye neden olur. Yaşla birlikte şantın artması kalp yetersizliğini artırıp 30'lu yaşlardan sonra pulmoner hipertansiyona bağlı olarak pulmoner vasküler obstrüktif hastalık oranını giderek artırabilir. Kronik atriyal hacim yükü hastalarda atriyal flutter, fibrilasyon, taşikardi gibi disritmilere zemin oluşturur. Disritmiler yaşla birlikte artarak mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden birini oluştururlar. Paradoksal emboli ve disritmiye ikincil olarak gelişen tromboembolik olaylar da önemli sorun oluşturabilir (14,45,46).

### **2.1.12. Fizik muayene**

Büyük şanlı hastalarda prekordiyum belirgin ve kalp vurusu hiperdinamiktir. Sol parasternal kenar ve subksifoid bölgenin palpasyonunda aşırı dinamik ve genişlemiş sağ ventrikül vurusu hissedilebilir (13).

Her ne kadar sık görülme de izole ASD'li hastalarda pulmoner vasküler hastalık geliştiği zaman buna bağlı siyanoz görülebilir.

Soldan sağa şant nedeni ile artmış olan kan akımı pulmoner kapaktan geçerken ejeksiyon tipinde 2. interkostal aralıkta duyulan sistolik üfürüme neden olur. Genellikle trill yoktur. ASD'nin karakteristik dinleme bulgusu ikinci sesin geniş ve sabit çiftleşmesidir. Büyük sol-sağ şanlı ve pulmoner arter basıncı normal olan hastalarda duyulur (32).

Qp/Qs oranı 2/1'den büyük olduğu zaman triküspit kapaktan geçen kan miktarı artar ve sternum sol alt kenarında erken middiyastolik üfürüm duyulur (47). ASD'de ayrıca pulmoner arter dilatasyonundan kaynaklanan diyastolik üfürüm duyulabilir (32).

### **2.1.13. Tanı**

#### **2.1.13.1. Elektrokardiyografi**

Genellikle sinüs ritmi görülmekle birlikte bazen bazı hastalarda kavşak ritmi veya supraventriküler taşikardi ya da atriyal flutter görülebilir. Büyük hastalarda 1. derece AV blok görülebilir veya PR mesafesi uzayabilir (48). Vakaların yarısında RA yüklenmesine bağlı P dalgası sivridir (2). QRS kompleksinin süresi genellikle uzamıştır ve karakteristik olarak V1 derivasyonunda inkomplet sağ dal bloğuna bağlı rsR' veya rSr' paterni görülebilir. Bu durum RV volüm yüklenmesini gösterir (13). Üçüncü dekattan sonra ASD'li hastalarda atriyal disritmiler, özellikle de atriyal fibrilasyon, flutter ve supraventriküler taşikardi yüksek oranda görülür (13,14).

### 2.1.13.2. Telekardiyografi

Küçük bebekler ve şant miktarı çok küçük erişkinlerde telekardiyografi genelde normaldir. Önemli sol-sağ şant olduğu zaman sağ ventrikül dilatasyonuna bağlı hafif veya orta düzeyde kardiyomegali ve pulmoner vasküler gölgelerde artış görülebilir. Ana pulmoner arter ve dallarının genişlemesi ve aort kavsinin geniş olması karakteristiktir. Pulmoner vaskülarite artışı ve pulmoner belirginleşme şantın büyüklüğü ve yaşla orantılı olarak artar. Pulmoner vasküler hastalık gelişirse, ana pulmoner arter hızla genişler ve periferel damarlanma azalarak silinir (13).

Sekundum ASD'de normal görünümde olan sol ventrikül, parsiyel atriyoventriküler defektlerde mitral yetersizliğine bağlı olarak genişlemiştir.

### 2.1.13.3 Ekokardiyografi

İki boyutlu ekokardiyografi ile sağ atrium ve sağ ventriküldeki genişleme ve ASD görülür (49). Subkostal görüntü yöntemi ASD tanısında en etkili tanı yöntemlerindedir. Çünkü atriyal septum en iyi bu pozisyonda görülür (2). M-mod ekokardiyografi ile özellik gösteren bulgu saptanmaz. Sadece anormal septal hareket görülebilir (50). İki boyutlu ekokardiyografi ASD'nin, RA ve RV boyutlarının direkt olarak görülmesini ve morfolojinin değerlendirilmesini sağlayan yararlı, noninvaziv tanı yöntemidir (13). İki boyutlu ekokardiyografi, ASD'nin direkt görülmesinin yanısıra RA, RV ve pulmoner arterin genişlemesini ve septumun paradoksal hareketlerini de gösterir.

Doppler ekokardiyografi, atriyal seviyede sol-sağ şantın akımını saptayabilir (39). Karakteristik olarak ASD'den geçen şant küçük defektlerde akım yönünde türbülans akım gösterirken, geniş defektlerde ise laminar akım gösterir. Sekundum ASD'de atriyal şant geç sistol ve erken diyastolde oluşur. Doppler tekniğı Qp/Qs oranı hakkında yaklaşık bilgi verir (51).

Renkli akım Doppler ekokardiyografi ile ASD'den kan akımı geçişi ve hacmi kolayca görülebilir (52). Ayrıca sağ ventrikül sistolik basıncı ve pulmoner arter basıncı hesaplanabilir (2).

Transözefagial görüntüleme tekniklerinin gelişimine paralel olarak çocuklarda doğumsal kalp hastalıklarının tanısında ve tedavisinde girişimsel uygulamalarda yol göstericiliğı ile transözefagial ekokardiyografi (TÖE) uygulama alanı bulmuştur (53,54). TÖE'nin özellikle girişimsel kardiyojide ASD'lerin kapatılma işlemleri

sırasında floroskopi ile eş zamanlı kullanımı rutin protokollerde yer almaktadır (55,56).

TÖE girişimsel işlem öncesinde atriyal morfoloji hakkında bilgi verir, interatriyal septumun uzunluğu, ASD'nin normal veya işlem sırasında ölçüm balonu ile gerilmiş çapı ölçülebilir, kenarların atriyoventriküler kapaklarla ilişkilerinin belirlenmesini sağlayabilir (55,57).

Üç boyutlu ekokardiyografi ASD'nin septumdaki pozisyonu, şekli, boyutları, kardiyak siklus boyunca değişimi ve komşu yapılarla ilişkisini en iyi gösteren yöntemdir. İki boyutlu ekokardiyografiden farklı olarak defektin tam karşıdan görüntülenmesine olanak verir (58,59).

Kalp kateterizasyonu ise ekokardiyografinin gelişiminden önce, ASD tanısında temel tanı yöntemi olarak kullanılmaktaydı, ancak şu an için sekundum ASD'nin tanısı için gerekli değildir. Birçok hastada klinik ve girişimsel olmayan tekniklerle tanı konulabilmektedir. Pulmoner vasküler hastalık ve ilave kardiyak anomalilerin saptanmasında halen önemli yeri vardır.

## **2.1.14. Tedavi**

### **2.1.14.1. Cerrahi tedavi**

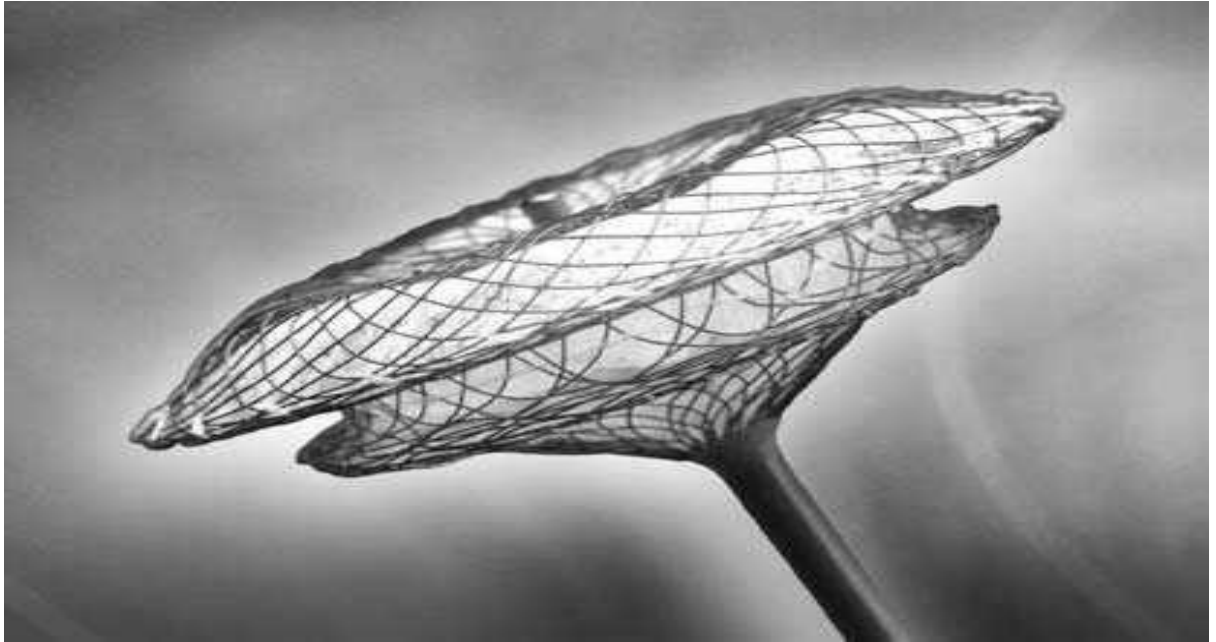
Günümüzde büyük çaplı ASD'li hastalarda dahi cerrahinin elektif yapılması konusunda genelde fikir birliği vardır. Daha önceleri çocuk ve genç erişkinlerde  $Q_p/Q_s > 1.5/1$  ise ilk tercih cerrahi idi. Ancak birçok ASD'li bebeğin bu durumu çok iyi tolere etmesi ve ASD'nin kendiliğinden kapanma şansı olması nedeni ile genelde dört yaşına kadar beklenmektedir. Dört yaşından sonra ertelemenin avantajı yoktur. Kalp yetersizliği ve pulmoner hipertansiyonu olan bebek ve küçük çocuklarda erken operasyon gerekebilir (60).

Atriyal şantın küçük olduğu veya belirgin pulmoner hipertansiyonun mevcut olduğu olgularda cerrahi tedavi tartışmalıdır. Çünkü küçük defektler genellikle iyi prognoza sahiptir. Bu nedenle küçük defektleri kapatmanın yararı, kardiyο-pulmoner by-pass'ın riski ile karşılaştırılırsa operasyonun risklerinin küçük defektleri kapatmanın yararından çok daha fazla olduğu görülür. Benzer şekilde ilerlemiş pulmoner vasküler hastalık mevcut ise operasyonun mortalite ve morbiditesi yüksek olacaktır (41).

### 2.1.14.2. Kateter Yöntemi ile Defektin Onarımı

Atriyal septal defektin transkateter ile kapatılması açık kalp cerrahisine alternatif bir yöntem olarak yaklaşık olarak otuz yıldır kullanılmaktadır.

ASD onarımı için günümüzde Amplatzer septal oklüder, uygulama kolaylığı olması, başarı oranının yüksek olması ve güvenli bir şekilde kullanılabilmesi nedeni ile daha çok tercih edilmektedir (61,62) (Şekil 2).



Şekil -2: Amplatzer septal oklüder

Atriyal septal defektin transkateter yöntemi ile kapatılabilmesi için atriyal septanın kenarlarının ve yapısının iyi bilinmesi gerekir. Hangi cihaz ile onarım yapılırsa yapılsın tüm cihazlarda uygulama tekniği anjiyografik görüntüleme ve balon ile defektin ölçümünü içerir. Daha sonra uygun boyuttaki cihaz, taşıyıcı katetere yüklenerek defekt bölgesine taşınır. Cihazın yerleştirilmesi, saliverilmesi ve yerine sabitlenmesi transözefagial ekokardiyografi ve floroskopi eşliğinde yapılır. İşlemden hemen sonra defektten küçük rezidüel kaçak özellikle renkli dopler ekokardiyografi ile sıkça görülür. Birçok hastada rezidüel şant kendiliğinden kaybolur. İşlemden bir yıl sonra bu hastaların sadece %5-10'unda rezidüel şant izlenmektedir (63).

### **2.1.14.2.1.Perkütan ASD kapatılma kriterleri**

1. Defekti çevreleyen atriyal dokunun hayati kardiyak yapılara (mitral kapak, triküspit kapak, vena kava süperiyor, sağ üst pulmoner ven, koroner sinüs) uzaklığı 4-5 mm'den fazla olmalı
2. Anteriyor, posteriyor ya da inferiyor kenarlardan en az ikisi sağlam olmalı
3. Süperiyor kenarı eksik defektlere sağ üst pulmoner vene yakınlığı nedeni ile uygulanmaz.

### **2.1.14.2.2.Transkatater kapatmaya bağlı oluşabilecek komplikasyonlar**

1. Kardiyak perforasyon
2. Cihaz malpozisyonu
3. Emboli
4. Rezidüel şant
5. Vasküler travma
6. Trombüs
7. AV kapak yetmezliği
8. Atriyal aritmi
9. İnfektif endokardit
10. Ani ölüm

Emboli ve malpozisyona sıklıkla cerrahi müdahale gerekmektedir (64). Emboli riski literatürde %1 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde yaklaşık %0.5 civarında bildirilmektedir (2,63).

Transkateter kapatma sonrası görülen elektrokardiyografik anormallikler; prematür atriyal kontraksiyon, atriyal flutter, atriyal fibrilasyon, supraventriküler taşikardi, ST elevasyonu ve AV bloktur (65).

İşlemden altı ay sonrasına kadar infektif endokardit proflaksisine devam edilmelidir.

### **2.1.14.2.3.Transkateter ASD kapatılmasının kontrendikasyonları**

1. Sinüs venozus tipi defekt olması
2. Primum ASD'ler

3. Pulmoner vasküler hastalık gelişmiş olması
4. Büyük defektler
5. Yetersiz kenarların olması (< 5mm)

#### **2.1.14.2.4. Transkateter yöntem ile kapatmanın avantajları:**

En önemli avantajı perkütan yolla kapatma işleminin gerçekleşmiş olması ve dolayısı ile psikolojik etkilerinin daha az olmasıdır. Skar gelişmemesi, daha kısa hastanede yatış süresinin olması ve yoğun bakım izlemi gerektirmemesi hem hasta hem de aile açısından önemli faktörlerdir. İşlem sırasında atriyal miyokard etkilenmediği için aritmi riski oldukça düşüktür (66).

#### **2.1.15. Atriyal septal defektlerin doğal seyri**

Eşlik eden başka kardiyak defekt yok ise ve defekt çok büyük değilse oldukça iyidir. Birçok hasta altıncı-yedinci dekada kadar şikayetleri olmadan yaşar (12,67). Bebeklerde küçük ASD'lerin kendiliğinden kapanma oranı %4-66 arasında bildirilmektedir (68). ASD'nin kendiliğinden kapanmasının 2-8 yaşlar arasında olduğu belirtilmekte, ancak kapanma mekanizması tam bilinmemektedir. 2 yaşından küçük hastalarda cerrahi tedaviye karar vermeden önce kendiliğinden kapanma olabileceğinden hastanın çok iyi değerlendirilmesi gerekmektedir (2).

Kendiliğinden kapanma sıklığı ve zamanının ASD'nin çapı ile ters orantılı olduğu kabul edilmektedir (2). Bazı yazarlar, defekt çapı 3 mm'den küçük olan hastaların takip edilmeyeceğini, defekt çapı 3-5 mm veya 5-8 mm olanların ise 12. ve 15. ayda değerlendirilebileceğini çünkü bu dönemde değerlendirildiğinde vakaların %80'inin kapanmış olduğunun görüleceğini bildirmektedir (69).

Orta ve büyük çaplı ASD'li cerrahi tedavi yapılmayan hastalar genellikle üçüncü dekada kadar semptomatik değildirler, daha sonra progresif olarak semptomatik hale gelirler (41).

Pulmoner vasküler hastalık, tedavi edilmemiş ASD'li hastaların %5-10'unda, daha sık olarak da kadınlarda görülür (70). Genellikle 20 yaşından sonra oluşursa da, çok nadiren erken çocukluk çağında da gelişebilir (71). Pulmoner vasküler hastalığın nedenleri, hangi hastalar ve hangi yaşın risk oluşturduğu konusunda tartışmalar devam etmektedir (2).

### **2.1.16. İnfektif endokardit profilaksisi**

ASD'den geçen şant akım hızı düşük olduğundan izole sekundum ASD'lerde infektif endokardit gelişme riski normal toplumdaki farklı değildir, bunlarda infektif endokardit riski taşıyan ilişkili anomaliler yoksa profilaksi önerilmez. Ancak defekt kapatıldıktan sonra 6 ay süre ile profilaksi gereklidir. Primum ASD ise; daima atriyoventriküler septal defekt kompleksinin bir varyantı olduğundan, AV kapak malformasyonu açısından orta risk grubuna girer ve yaşam boyu profilaksi önerilir (72).

### **2.1.17. Yaşam kalitesi**

ASD'si çocukluk çağında kapatılan hastaları uzun dönem izleminde (20-30 yıl) yaşam kalitelerini kendi görüşlerine göre normal, kişisel ve sosyal ilişkilerinin iyi, eğitim düzeylerinin yaşadıkları ülke ortalamasının da üzerinde olduğu görülmüştür (73).

## **2.2. 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 (74). 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 (75).

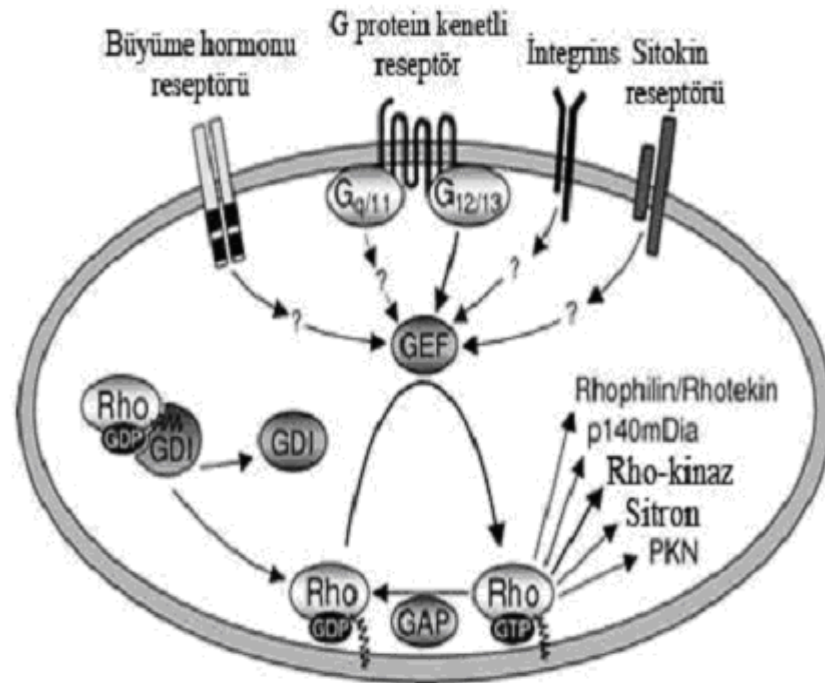
RhoA, RhoB ve RhoC'nin efektör bölgeleri aynı aminoasit dizilimine sahiptirler ve bu GTPaz proteinlerin hücrel fonksiyonları benzerdir. Rho'nun açıklanan çoğu fonksiyonu RhoA ile yapılan çalışmalara dayanmaktadır (76). RhoA, vücutta en fazla bulunan ve en çok çalışılan Rho proteini alt tipidir (77).

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 (78).

Rho'nun aktive olabilmesi için geranilgeranillenmiş C-terminal ucu ile membrana tutunması gerekir. Guanin nükleotid değişiminden sonra Rho; Rho-kinaz (*ROCK*), protein kinaz N, rhophilin, rhotekin, citron, p140 mDia ve fosfolipaz D gibi alt efektörlerini aktive eder (79). 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 artırarak 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) (80,81).



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

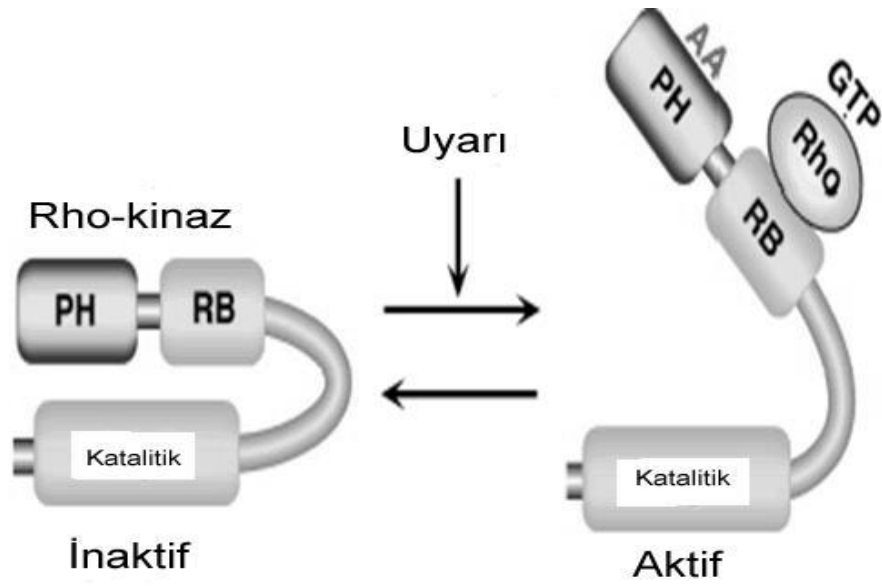
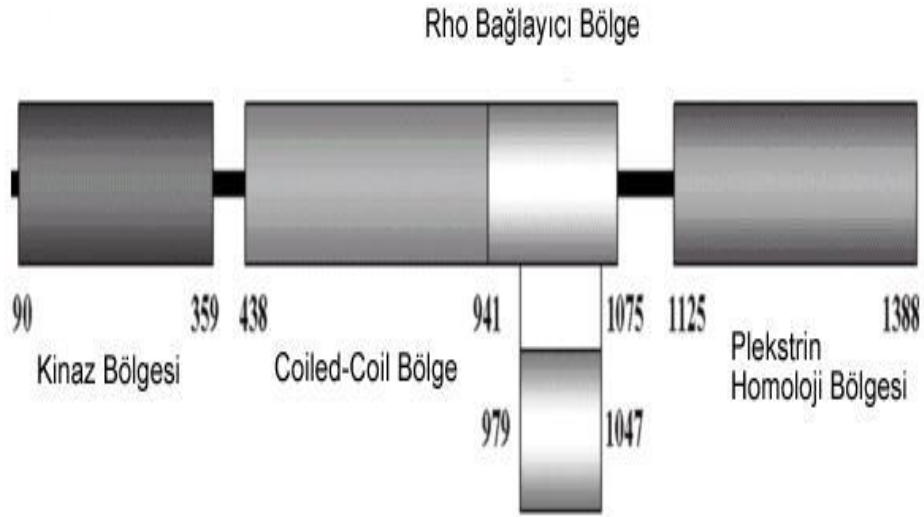
Rho-kinaz sinyal yolağının, hücrenin farklılaşması, çoğalması, bölünmesi ve ölümü, trombosit kümeleşmesi, lenfosit ve fibroblast adhezyonu, aktin hücre iskeleti reorganizasyonu, hücre hareketi ve göçü, düz kas kasılması, stres liflerinin oluşumu, aksonal uzama ve tümör metastazı gibi hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde

önemli görevleri olduğu bilinmektedir (82-84).

### 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 (85). *ROK $\beta$*  (veya *ROCK1*) Rho-kinazın bir izoformudur (86). İnsanda *ROCK1* ve *ROCK2* genleri sırasıyla 18. kromozom (18q11.1) ve 2. kromozomda (2p24) yer almaktadır (87). *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 (88).

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 (89). Bu olay sonucu aktive olan Rho-kinaz (Tablo 1) substratları fosforile ederek çeşitli hücre içi olaylara katkıda bulunur (90,91).



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

**Tablo 1:** Rho-kinaz substratları

<b>Substratlar</b>	<b>Fonksiyonları</b>	<b>Hücresel Yanıtlar</b>
Miyozin fosfatazın miyozin bağlayıcı alt ünitesi	Miyozin fosfatazın inhibisyonu	Düz kas kasılmasında $Ca^{2+}$ 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 inaktive edici aktivitesinin aktivasyonu	Düz kas kasılmasında $Ca^{2+}$ 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 $Ca^{2+}$ 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  $Ca^{2+}$ /kalmomodulin bağımlı miyozin hafif zincir kinaz ve miyozin fosfataz arasındaki dengeye bağlıdır (90).

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. Rho-kinaz miyozin bağlayan alt üniteyi fosforile ederek miyozin fosfatazı inhibe eder. Bu enzim miyozin 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 (92).

### **2.2.3. Kardiyovasküler doku ile rho-kinaz sinyalizasyon yolağı ilişkisi**

Trombin, anjiyotensin II, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve serotonin gibi çeşitli vazoaktif ajanlar Rho-kinaz sinyal yolağını aktive ederler. Fasudil ile uzun süre tedavi sonucunda vasküler düz kas hücrelerinin 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 (93). 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 endoteliumlu dokularda fenilefrin ile oluşturulan kasılmaları endoteliumsuz 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 halkalarında, nitrik oksid sentaz (NOS) inhibitörleri ve guanilat siklaz inhibitörleri varlığında, fenilefrin kasılmalarının Y-27632'ye verdiği gevşeme yanıtları küntleşmiştir (93). 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, hücresel mikrotübül ağının veziküler transport, sinyal iletimi ve hücre bölünmesi gibi çeşitli hücresel olaylarda görev aldığı bildirilmiştir (94).

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 (95).

Tavşan baziler arterinde yapılan bir çalışmada, Rho-kinaz enziminin selektif bir inhibitörü olan Y-27632, endotelin-1 ile indüklenen kasılmaları inhibe etmiştir (93). Ek olarak Rho-kinaz yolağı sığır serebral arterindeki  $Ca^{2+}$  duyarlılığından da sorumludur (96). Rho kinaz enzimini ve kısmen protein kinazı da inhibe eden fasudilin in vivo olarak hayvanlara verildiğinde vazodilatör etki oluşturduğu gösterilmiştir. Bu ajan günümüzde serebral vazospazmın tedavisinde denenmektedir (96).

Aortokoroner ya da infrainguinal bypass ameliyatı yapılan hastalardan alınan safen veni, in vitro ortamda arteriyel basınç koşullarında perfüze edildiğinde fenilefrin ve serotonine duyarlılığın arttığı görülmüştür. Bu duyarlılık Y-27632 ile önlenebilmiştir (97).

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 (98).

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 (99).

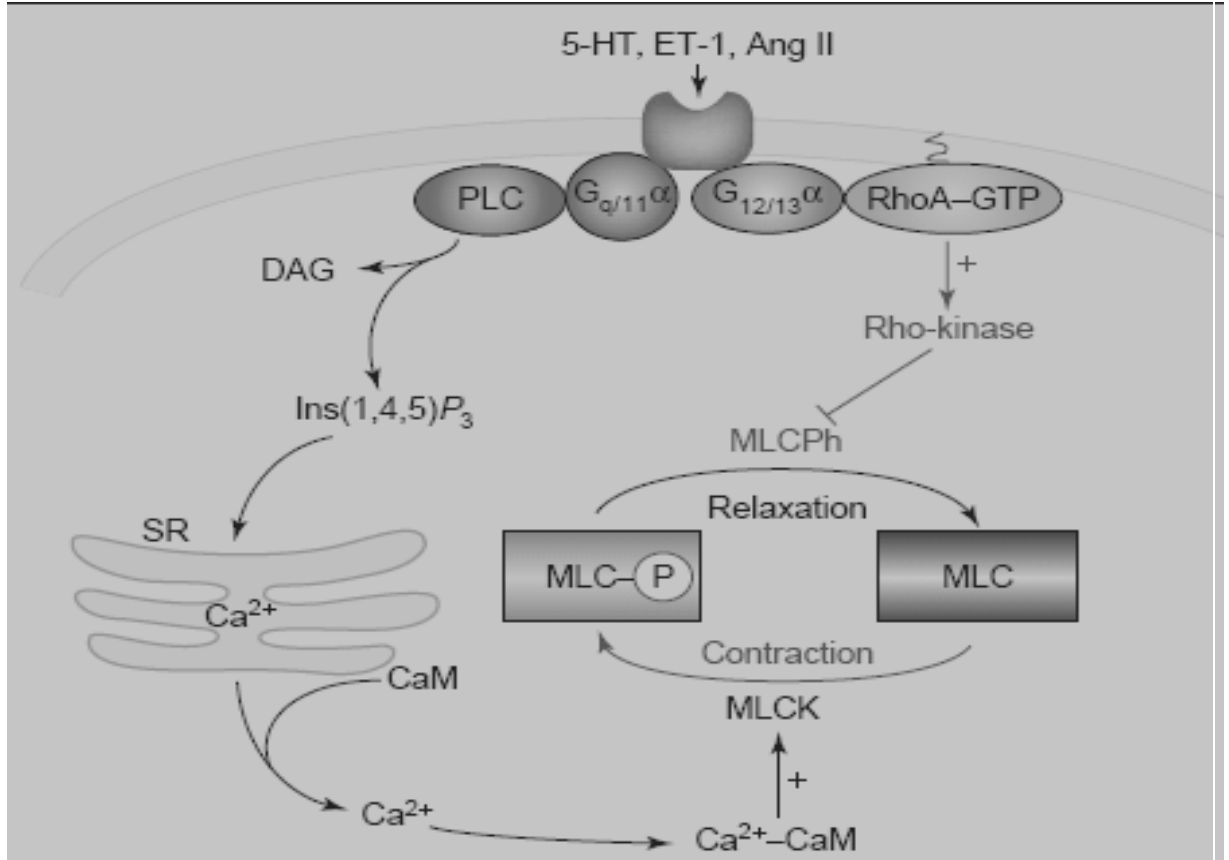
Koroner bypass ameliyatı yapılan 15 hastadan izole edilen endoteli uzaklaştırılmış

internal torasik arterlerde serotonin ve histamin ile oluşturulan kasılmalar hidroksifasudil 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. Hidroksifasudil, miyozin bağlayıcı alt ünite fosforilasyonunu inhibe ederken C-kinaz ile aktive olan fosfataz inhibitörü fosforilasyonunu inhibe etmemiştir (100).

Vasküler düz kas hücrelerinin media tabakasından subendotelyal bölgeye göçü, balon anjiyoplasti ve ateroskleroz sonucu gelişen intimal kalınlaşma da 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-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 (101).

Rho-kinaz yolağı bozuklukları sıklıkla ölüme neden olan hipertansiyon, vasküler spazm ve arteriyosklerozun patolojisinde yer almaktadır. Rho-kinaz aktivitesini spesifik olarak inhibe eden problemlerin 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-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 (74,102).

Vazospastik anjina, iskemik inme ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda Rho-kinazın önemli rol oynadığı gösterilmiştir (102). Rho-kinaz, miyozin fosfataz inaktivasyonu ve direkt miyozin hafif zincir fosforilasyonu ile kalsiyumdan bağımsız olarak (Şekil 5) düz kas kasılmasını artırır (103-105).



**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 (106,107). Anestezi altındaki köpekte pacing ile indüklenen efor anjinasında, fasudil ve hidroksifasudil ST segment depresyonunu önlemiş ve koroner kan akımını arttırmıştır (108). Diğer bir çalışmada ise endotelin-1 ile oluşturulan vazospastik iskemide, fasudilin miyokardiyal hasarı önlediği bildirilmiştir (109). 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 (110,111).

Fenilefrin, anjiyotensin-II ve endotelin-1 gibi vazokonstriktör ajanlar, hem  $G_{q/11}$  hem de  $G_{12/13}$  proteinleri ile eşleşen reseptörleri uyarır (112).  $G_{q/11}$ ,  $PLC_{\beta}$ -aracılı  $Ca^{+2}$ -bağımlı miyozin hafif zincir kinaz düzenlenmesinde rol oynarken,  $G_{12/13}$ , Rho-kinaz aracılı miyozin fosfatazın düzenlenmesinde rol oynar. Rho-kinaz aktivasyonu, vasküler

direncin artmasının olası bir nedenidir (113). 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 (114). Miyozin hafif zincir fosfatazın inhibisyonu  $Ca^{+2}$  duyarlılığından sorumludur. Rho-kinaz yolunun önemi pulmoner vazokonstriksiyonda (115), sıçanlardaki mineralokortikoid kaynaklı hipertansiyonda (116), artan vasküler reaktivitede ve serebral vazospazmda gösterilmiştir (117). Rho-kinaz polimorfizminin ikizlerde herediter hipertansiyon patogenezinde rolü olabileceği gösterilmiştir (118). Kronik NOS inhibisyonu nedeniyle hipertansif olan sıçanların arterlerinde  $\alpha_2$ -agoniste verilen kontraktıl yanıtın, RhoA aktivasyonu aracılığıyla arttığı bildirilmiştir (119). Rho-kinaz proteini, arterlerde sentezlenir ve agonist kaynaklı düz kas kontraksiyonunu düzenler ve Rho-kinaz inhibitörünün vazodilatör etkisi endotel tabakasından bağımsızdır. Bu nedenle Rho-kinaz sinyali vasküler direncin kontrolünde rol oynayabilir ve Rho-kinaz inhibitörleri, hipertansiyon, vazospazm ve ateroskleroz gibi bazı kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde etkili olabilir (120). Rho-kinaz aktivasyonu, muhtemelen Bax upregülasyonu ve apoptozisi indükleyerek iskemi-reperfüzyonla oluşan hücre ölümüne katkıda bulunur (121).

RhoA/*ROCK* yolağı endotelial NOS aktivitesinin düzenlenmesinde de önemlidir. Rho-kinaz direkt olarak endotelial NOS'u Thr495'den fosforile eder ve endotelde NO oluşumunu baskılar (122).

#### **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. Sağlıklı toplumlarda bu değişiklikler kodlanmış proteinin işlevinde herhangi bir değişikliğe neden olmayan noktalarda veya deoksiribonükleik asitin kodlayıcı olmayan bölgelerinde görülür.

Rho-kinaz gen polimorfizmi ile ilgili şimdiye kadar yayınlanmış araştırmalar hipertansiyon ile ilişkilidir. Amerikan toplumunda ikizler üzerinde yapılan çalışmalarda *ROCK2* gen polimorfizmi ile hipertansiyon arasında ilişki saptanırken (118,123), Çin toplumunda *ROCK2* geni Thr431Asn polimorfizminin hipertansiyonla ilişkili olmadığı bulunmuştur (120).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırmanın tipi

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Pediatrik Kardiyoloji polikliniğine başvuran ve ekokardiyografi ile ASD tanısı almış hastalarda *ROCK2* (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 alınmıştır.

#### 3.2. Araştırmanın evreni

Araştırmanın evrenini, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Kardiyoloji polikliniğine başvuran veya serviste yatan hastalardan ASD 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. ASD 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 Laboratuar'ında  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de DNA izolasyonu yapılabilmeye kadar saklandı. Kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA eldesi yapıldı.

### **3.5. DNA izolasyonu 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 üreli parçalama çözeltisi eklenir (üre lysis buffer). Pellet tamamen çözülür. 400 µl %20'lik sodyum dodesil sülfat eklenir. 100 µl 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 1 ml %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 1 ml %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 µl) distile su eklenerek  $+4$  derecede bir gece çözünmeye bırakılır. Daha sonra derin dondurucuya kaldırılır.

### **3.6. PCR işlemi ile Ekzon 16 (Rs35768389) ve Ekzon 26 (Rs34945852) bölgesi polimorfizmlerinin tespiti**

#### **Ekzon 16 (rs35768389) PCR işlemi**

Optimizasyon işlemlerinden sonra hasta gruplarının Ekzon 16 ve Ekzon 26

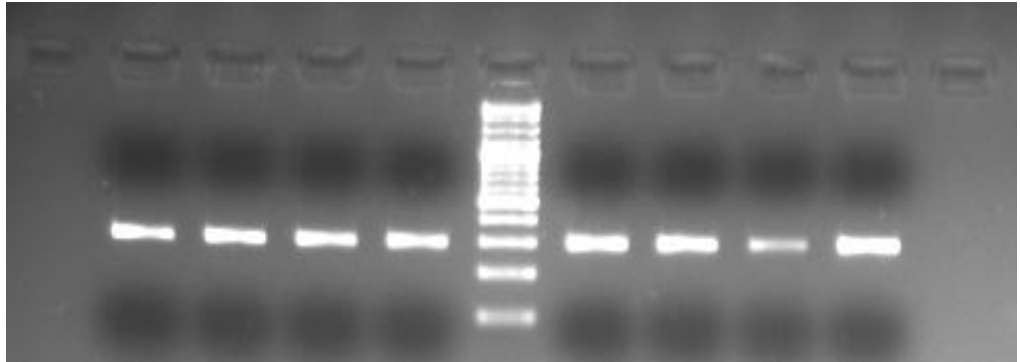
bölgelerinin ayrı ayrı PCR protokolleri oluşturularak PCR işlemi gerçekleştirildi. Ekzon 16 bölgesi PCR karışımı için:

ddH <sub>2</sub> O	= 18. µl
10 x 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).



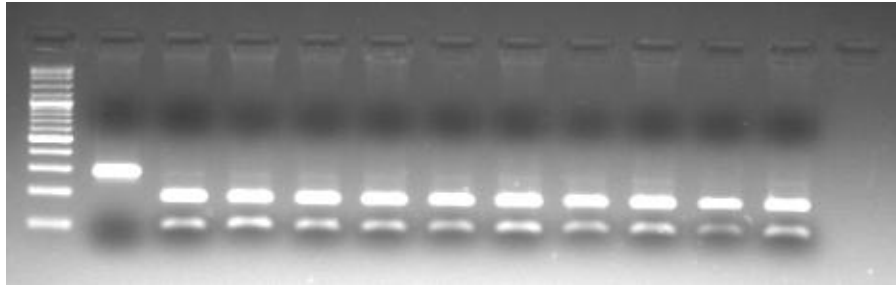
**Resim 1:** Ekzon 16 PCR sonucu

### **Ekzon 16 enzim kesim işlemi**

PCR işleminden sonra ekzon 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:** Ekzon 16 kesim sonucu

**Ekzon 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

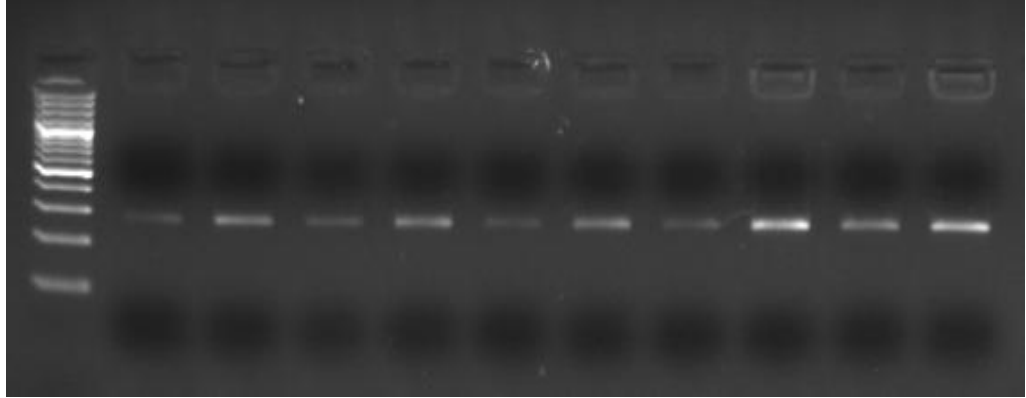
Karışım 0.2'lik PCR tüplerine aktarılarak reaksiyon işlemine geçildi. Reaksiyon işlemi için;

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:** Ekzon 26 PCR sonucu

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

PCR işleminden sonra ekzon 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 2).

**Tablo 2:** Ekzon 10 için HRM (High Resolution Melting) analizi ile SNP tespiti

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

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



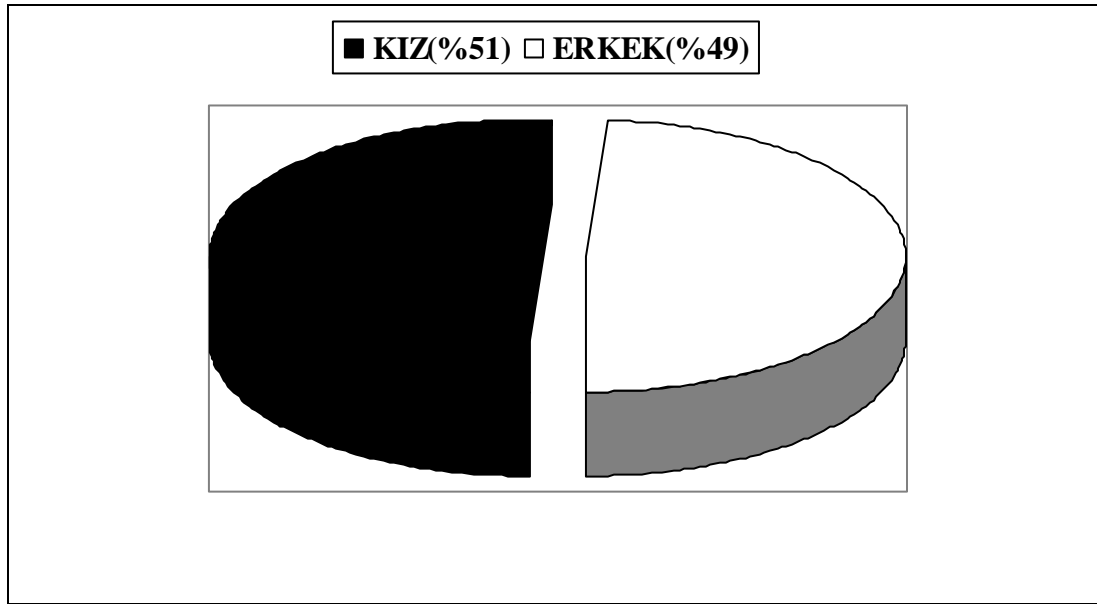
**Şekil 6:** Real Time PCR ile SNP tespiti. 1: Thr/Thr, 2: Thr/Asn, 3: Asn/Asn

### 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, gruplar arasında verilerin genotip dağılımı ve allel sıklıklarının karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önlem düzeyi  $p < 0.05$  olarak alındı.

#### 4. BULGULAR

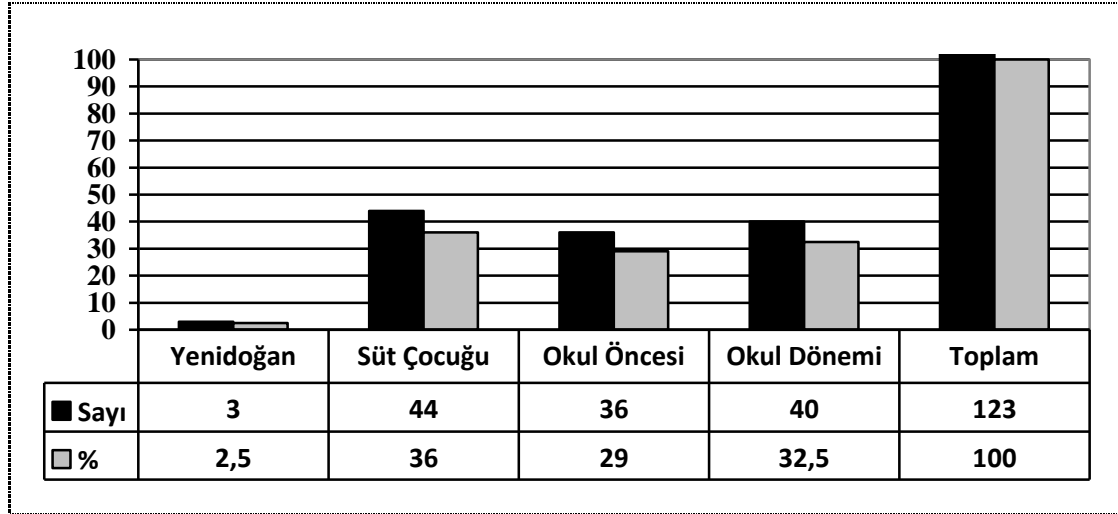
Çalışmaya %51 kız (n=77), %49 erkek (n=73) olmak üzere 150 izole ASD hastası ve %48 kız (n=72), %52 erkek (n=78) olmak üzere toplam 150 kontrol grubu alındı. Kontrol grubundan 22, ASD grubundan 27 kişi DNA ayrışımı yapılamadığından çalışmadan çıkarıldı. Böylece çalışmaya 128 kontrol (%48 kız, %52 erkek) ve 123 izole ASD hastası (%51 kız, %49 erkek) ile devam edildi (Şekil 7).



Şekil 7: Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı

Kontrol grubunun yaş ortalaması  $100.3 \pm 54.2$  ay, ASD grubunun yaş ortalaması  $62.3 \pm 56.2$  ay olarak saptandı (Tablo 3). ASD'li hasta grubunu %2.5 (n=3) yenidoğan hastalar, %36 (n=44) süt çocukları, %29 (n=36) okul öncesi çocuklar ve %32.5 (n=40) okul dönemi çocukları oluşturmaktaydı (Şekil 8). Kontrol grubunu %8.5 (n=11) süt çocukları, %33 (n=42) okul öncesi çocuklar, %58.5 (n=75) okul dönemi çocukları oluşturmaktaydı ve hiç yenidoğan yoktu. İki grup arasında cinsiyet açısından yapılan

karşılaştırmada anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 3).



**Şekil 8:** Atriyal septal defektli hastaların çocukluk dönemlerine göre dağılımı

**Tablo 3:** Atriyal septal defekt ve kontrol gruplarının cinsiyet, yaş ve çocukluk dönemlerine göre dağılımı

Parametreler	Kontrol grubu (n=128) (%)	ASD grubu (n=123) (%)	P değeri
Yaş (ay)	100.3±54.2	62.3± 56.2	
Kız/Erkek (%)	62/66 (48/52)	63/60 (51/49)	0.6595
Kız/Erkek Oranı	0.93	1.05	
Yenidoğan (%)	0 (0)	3 (2.5)	<0.0001
Süt çocuğu (%)	11 (8.5)	44 (36)	
Okul öncesi (%)	42 (33)	36 (29)	
Okul dönemi (%)	75 (58.5)	40 (32.5)	

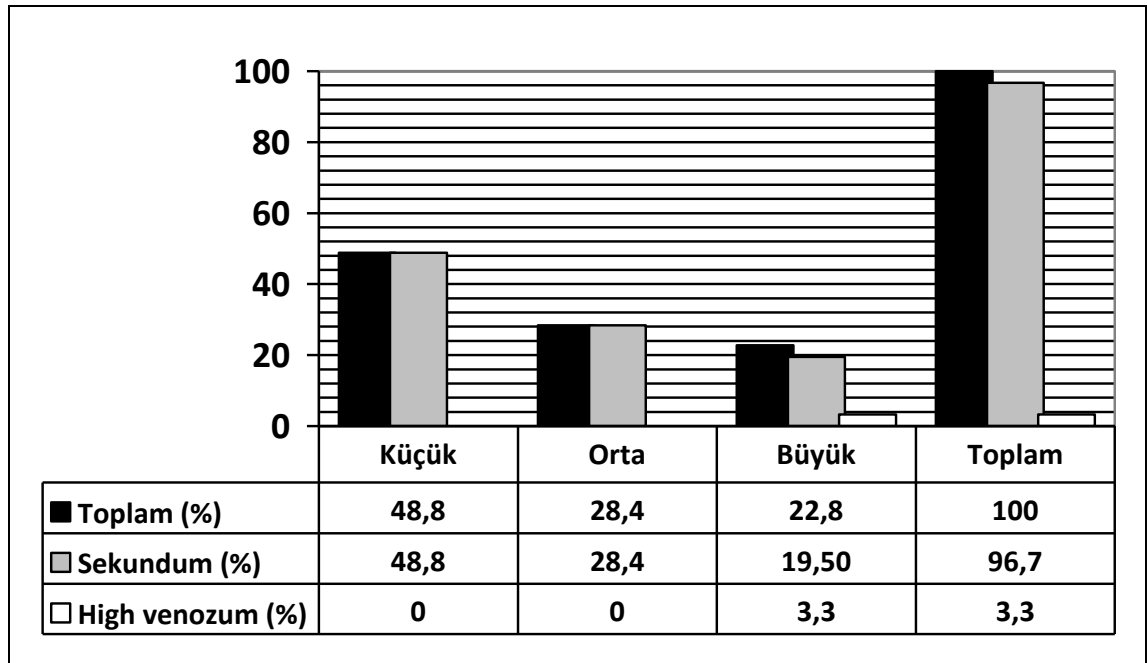
Ki-kare testi

Defekt tiplerine göre sınıflama yaptığımız zaman hastaların %96.7 (n=119) sekundum ASD, %3.3 (n=4) high venozum ASD idi ve primum ASD'li hasta yoktu.

ASD'li hastaları defekt çapına göre sınıfladığımız zaman hastaların %48.8 (n=60) küçük, %28.4 (n=35) orta ve %22.8 (n=25) büyük boyutlu ASD'ye sahip idi. Bu hastalardan çapı küçük olanların tamamı sekundum ASD, büyük çaplı olanların ise; %85.7 (n=24) sekundum ASD ve %14.3 (n=4) high venozum ASD idi (Tablo 4, Şekil 9).

**Tablo 4:** Atriyal septal defektli hastaların çapa göre sınıflaması

ASD Tipi	Küçük (n)(%)	Orta (n)(%)	Büyük (n)(%)	Toplam(n)(%)
Sekundum	60 (48.8)	35 (28.4)	24 (19.5)	119 (96.7)
High venozum	0 (0)	0 (0)	4 (3.3)	4 (3.3)
<b>Toplam</b>	60 (48.8)	35 (28.4)	28 (22.8)	123 (100)



**Şekil 9:** Atriyal septal defektli hastaların boyuta göre dağılımı

Kontrol grubu ve ASD hastalarında *ROCK2* geni Ekzon 16 Asp601Val ve Ekzon 26 Lys1083Met polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları incelenmiş ve

herhangi bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ )(Tablo 5,6).

**Tablo 5:** Kontrol grubu ve atriyal septal defektli hastalarda *ROCK2* geni Ekzon16 Asp601Val polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	Hasta grubu (n=123) (%)	P
Asp/Asp	128 (100)	123 (100)	
Asp/Val	0 (0)	0 (0)	
Val/Val	0 (0)	0 (0)	>0.05
Asp	256 (100)	246 (100)	
Val	0 (0)	0 (0)	

Ki-kare testi

**Tablo 6:** Kontrol grubu ve atriyal septal defektli hastalarda *ROCK2* geni Ekzon26 Lys1083Met polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları

Genotipler/ Alleller	Kontrol grubu (n=128) (%)	Hasta grubu (n=123) (%)	P
Lys/Lys	128(100)	123(100)	
Lys/Met	0 (0)	0 (0)	
Met/Met	0 (0)	0 (0)	>0.05
Asp	256(100)	246(100)	
Val	0 (0)	0 (0)	

Ki-kare testi

Kontrol grubu ile ASD hastaları arasında *ROCK2* geni ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için genotip frekansı, Thr-Asn allel sıklıkları incelenmiş ve herhangi bir farklılık bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 7-8).

**Tablo 7:** Kontrol grubu ve atriyal septal defektli hastalarda *ROCK2* geni Ekzon10 Thr431Asn polimorfizmi genotip frekansı ve allel sıklıkları

<b>Genotipler/ Alleler</b>	<b>Kontrol grubu (n=128) n (%)</b>	<b>Hastalar (n=123) n (%)</b>	<b>P</b>	<b>OR (95% CI)</b>
<b>Thr/Thr</b>	32 (25.0)	37 (30.1)		
<b>Thr/Asn</b>	54 (42.2)	59 (48.0)	0.853	0.945 (0.519-1.722)
<b>Asn/Asn</b>	42 (32.8)	27 (21.9)	0.088	0.556 (0.283-1.094)
<b>Thr</b>	118 (46.1)	133 (54.1)		
<b>Asn</b>	138 (53.9)	113 (45.9)	0.097	0.743 (0.522-1.056)

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

**Tablo 8:** Sekundum atriyal septal defektli hastalarda Ekzon 10 Thr431Asn polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıkları

<b>Genotip/ Alleler</b>	<b>Kontrol grubu (n=128) n (%)</b>	<b>ASD tipi Sekundum (n=119) n (%)</b>	<b>P</b>	<b>OR (95% CI)</b>
<b>Thr/Thr</b>	32 (25.0)	36 (30.3)		
<b>Thr/Asn</b>	54 (42.2)	57 (47.9)	0.836	0.938 (0.513-1.717)
<b>Asn/Asn</b>	42 (32.8)	26 (21.8)	0.085	0.550 (0.278-1.089)
<b>Thr</b>	118 (46.1)	129 (54.2)		
<b>Asn</b>	138 (53.9)	109 (45.8)	0.072	0.723 (0.507-1.030)

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

## 5.TARTIŞMA

Atriyal septumda foramen ovale dışındaki açıklıklar ASD olarak tanımlanır (1,2). Atriyal septal defektin ilk anatomik tanımını 1875 yılında Von Rokitansky yaparken Bedford ve arkadaşları 1941 yılında ASD'yi klinik olarak tanımlamışlardır (13).

Atriyal septal defektlerin kesin nedeni iyi bilinmemekle birlikte hem çevresel etkenlerin hem de ailesel yatkınlığın etyolojide rol oynadığı kabul edilmektedir. Atriyal septal defektler genellikle sporadik oluşa da ailevi olarakta görülebilir.

Çocuklarda atriyal septal defekt sıklığı birçok yazara göre değişmekle birlikte tüm doğumsal kalp anormalliklerinin %6-10'unu oluşturmaktadır (3). İnsidansı 1500 canlı doğumda birdir (4). Ancak renkli Doppler ekokardiyografi ile yapılan yeni çalışmalarda insidansın daha da yüksek olduğu (%0.2) bildirilmektedir (5).

Bizim çalışmamızda 123 hastanın 63'ü (%51) kız, 60'ı (%49) erkek olup K/E: 1.05 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda çocuklar ve erişkinlerde ASD'nin kadınlarda erkeklere oranla 2 kat daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (3,12). Ertürk ve arkadaşları (124) 149 olguyu geriye dönük olarak değerlendirdikleri çalışmalarında K/E: 1.8; Azhari ve arkadaşları (125) K/E: 1.6; Christensen ve arkadaşları (126) ise K/E: 1.4 olarak bulmuşlardır. Hüdaoğlu (127) 370 ASD'li olguyu incelediği tez çalışmasında K/E: 1.1 olarak bulmuştur. Bizim sonuçlarımız bu çalışma ile benzerdir. Çalışmamızda yaş ortalamamız  $62.3 \pm 56.2$  ay olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda hastalarımızın %48.8'inde (n:60) defekt çapı 0-7 mm (küçük ASD), %28.4'ünde (n:35) defekt çapı 8-15 mm (orta ASD), %22.8'inde (n:28) defekt çapı >15 mm (geniş ASD) idi. Ertürk ve arkadaşlarının (124) çalışmasında defekt çapları 4 mm ve altı %49, 5-6 mm %10, 7-8 mm %11 ve 8 mm üzerinde %28 olarak bildirilmiştir. Radzik ve arkadaşlarının (69) çalışmasında ise defekt çapı 8 mm ve üzerinde olanlar %4 olarak bulunmuştur.

Atriyal septal defektleri tiplerine göre sınıfladığımızda olguların %96.7'i (n:119)

izole sekundum ASD, % 3,3'ü (n:4) high venosum ASD idi.

Rho-kinaz sinyal yolağının, hücrenin farklılaşması, çoğalması, bölünmesi ve ölümü, trombosit kümeleşmesi, lenfosit ve fibroblast adhezyonu, aktin hücre iskeleti reorganizasyonu, hücre hareketi ve göçü, düz kas kasılması, stres liflerinin oluşumu, aksonal uzama ve tümör metastazı gibi hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli görevleri olduğu bilinmektedir (82-84).

Rho-kinaz yolunun önemi pulmoner vazokonstriksiyonda (114), sıçanlardaki mineralokortikoid kaynaklı hipertansiyonda (116), artan vasküler reaktivitede ve serebral vazospazmda yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (117).

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 (118,123), Çin toplumunda *ROCK2* geni Thr431Asn polimorfizminin hipertansiyonla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (120).

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

Biz de, transkripsiyon faktörlerindeki mutasyona bağlı olarak ortaya çıkan gen ekspresyonu ve farklılaşmasındaki anormalliklerin ASD gelişimine neden olabileceği hipotezinden yola çıkarak bununla ilişkili, defektten sorumlu olabileceğini düşündüğümüz *ROCK2*'nin gösterebileceğimiz polimorfizmlerinin konjenital kalp hastalıklarının etyopatogenezine ışık tutabileceğini düşünerek bu çalışmayı yapmaya karar verdik (6).

Literatüre baktığımızda transkripsiyon faktörü olan Tbx5, GATA4, NKX2.5'in mutasyonlarının insanda ASD oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (22).

Hücrenin çoğalması, farklılaşması ve ölümünde rolü olan transkripsiyon faktörü E2F3'ün kaybının farelerde ASD ve birçok konjenital kalp hastalığı oluşumunda rolü olduğu gösterilmiştir (23). 15.kromozom q13–q21 lokalizasyonundaki alfa kardiyak aktin (ACTC1)'in normal kardiyak morfogenezde kritik önemi olduğu ve eksikliğinin ASD oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (24). Transkripsiyon faktörü olan CSX/NKX2.5'teki mutasyonların memelilerde ASD oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (25).

Bizim çalışmamızda, kontrol grubu ve ASD hastalarında *ROCK2* geni Ekzon16

Asp601Val ve Ekzon 26 Lys1083Met polimorfizmi için genotip frekansı ve allel sıklıklarını inceledik ve herhangi bir farklılık saptayamadık ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu ve ASD hastalarında *ROCK2* geni Ekzon 10 bölgesi polimorfizmi için Thr-Thr, Thr-Asn ve Asn-Asn genotip frekansı ve Thr-Asn allel sıklıklarını inceledik ve istatistiksel bir farklılık saptayamamakla birlikte Asn alleli açısından p değerini  $>0.05$  olarak bulduk.

Bu bilgiler ışığında araştırmamızın sonucu olarak Türk toplumunda *ROCK2* geni Ekzon 10, Ekzon 16 ve Ekzon 26 bölgesinde polimorfizm saptanmamakla birlikte ASD'li hastalarda rho-kinaz ile ilgili olarak yapılmış ilk çalışma olması, daha geniş katılımlı, daha fazla sayıda çalışmalara ihtiyaç duyulması açısından ümit verici olmuştur.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu araştırmada aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. Bu araştırmada *ROCK-2* geninin ekzonunda yer alan sadece 2 SNP'si incelenmiştir. Bu gendeki hem ekzon hem de intron bölgesindeki diğer SNP'ler de çalışılıp, ASD ile ilişki olup olmadığı incelenebilir.
2. *ROCK1* geni ile ASD ilişkisi de bilinmemektedir ve bu gendeki polimorfizmler ile ilişkisi de araştırılabilir.
3. Bu konuda yapılmış başka çalışma olmadığı için karşılaştırma yapılamamıştır, farklı toplumlarda ilişkinin olup olmadığı araştırılabilir.
4. Anlamlı sonuca ulaşabilmek için çalışmanın daha fazla sayıda hasta ve kontrol grubu ile yapılması önerilebilir.

## 7.KAYNAKLAR

1. Fyler DC. Atrial septal defect secundum. In: Nadas AS, Fyler DC (eds). Nadas' Pediatric Cardiology (3<sup>rd</sup> ed). Philadelphia, W.B Saunders, 1972:513-524
2. Porter CJ, Edwards WD. Atrial Septal Defect. In: Allen HD, Driscoll DJ, Shaddy RE, Feltes TF (eds). Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children and Adolescent: Including the Fetus and Young Adults (7<sup>th</sup> ed). Philadelphia, Lippicott Williams & Wilkins, 2008:632-644.
3. Campbell M. Natural history of atrial septal defect. Br Heart J. 1970;32:820-826.
4. Glenn WWL, Baue AE, Geha AS, Hammond GL, Laks H. Thoracic and cardiovascular surgery (4<sup>th</sup> ed). Norwalk-Conneticut, Appleton-Centory-Crofte,1983:657-663
5. Garne E. Atrial and ventricular septal defects-epidemiology and spontaneous closure. J Matern Fetal Neonatal Med. 2006;19:271-276.
6. Loirand G, Guérin P, Pacaud P. Rho Kinases in Cardiovascular Physiology and Pathophysiology, Circ Res. 2006;98:322-334.
7. Tikkanen J, Heinonen OP. Maternal exposure to chemical and physical factors during pregnancy and cardiovascular malformations in the offspring. Teratology. 1991;43:591-600.
8. Tynan M, Anderson RH. Ventricular septal defect. In: Anderson RH, Baker EJ, Macartney FJ, Rigby ML, Shinebourne EA,Tynan M (eds). Pediatric Cardiology (2<sup>nd</sup> ed). Churchill Livingstone, 2002:983-1014.
9. Switzer DF, Nanda NC. Doppler color flow mapping. Ultrasound Med Biol. 1985;11:403-416.
10. Sagin G. Echocardiographic evaluation of ventricular septal defects. Arch Turk Soc Cardiol. 2006;34:110-125.

11. Onat T, Sağın G. Interrelations between echocardiographic measurements of left ventricular, left atrium, ascending aorta, defect diameter and pulmonary arterial pressure in isolated ventricular septal defect. *Türk Kardiyol Dern Arş.* 1992;20:280-289.
12. Bozer AY. Kalp hastalıkları ve cerrahisi. Ankara, 1985:34-36.
13. Basket RJ, Tancock E, Ross DB. The gold standart for atrial septal defect closure: current surgical results, with an emphasis on morbidity. *Pediatr Cardiol.* 2003;24:444-447.
14. Porter CJ, Feldt RH, Edwards WD, Seward JB, Schaff HV. Atrial Septal Defects. In: Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds). *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children and Adolescent: Including the Fetus and Young Adults*(6<sup>th</sup> ed). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001:687-703.
15. Ferreira Martins JD, Anderson RH. The anatomy of interatrial communications- what does the interventionist need to know? *Cardiol Young* 2000;10:464-473.
16. Mainwaring RD, Mirali-Akbar H, Lamberti JJ, Moore JW. Secundum-type atrial septal defect with failure to thrive in the first year of life. *J Card Surg* 1996;11:116-120.
17. Porter CJ, Feldt RH, Edwards WD, Dearani JA. Atrial Septal Defects. In: Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds). *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children and Adolescents: Including the Fetus and Young Adults* (6<sup>th</sup> eds). Philedelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:618-635.
18. Fyler DC. Atrial septal defect secundum. In: Nadas' *Pediatric Cardiology*. Philedelphia: Hanley& Belfus, 1992:500-525.
19. Oram S, Holt M. Familial heart disease with skeletal malformations. *Br Heart J* 1960;22:236-242.
20. Li QY, Newbury-Ecob RA, Terret JA. Holt-Oram Syndrome is caused by mutation in TBX5 a member of the Brachyury (T) gene family. *Nat Genet* 1997;15:21-29.
21. Srivastava D, Olson EN. A genetic blueprint for cardiac development. *Nature* 2000;407:221-226.

22. Nadeau M, Georges RO, Laforest B, Yamak A, Lefebvre C, Beauregard J, et al. An endocardial pathway involving Tbx5, Gata4, and Nos3 required for atrial septum formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:19356-19361.
23. King JC, Moskowitz IP, Burgon PG, Ahmad F, Stone JR, Seidman JG, et al. E2F3 plays an essential role in cardiac development and function. *Cell Cycle*. 2008;7:3775–3780.
24. Matsson H, Eason J, Bookwalter CS, Klar J, Gustavsson P, Sunnegårdh J, et al. Alpha-cardiac actin mutations produce atrial septal defects. *Hum Mol Genet*. 2008;17:256–265.
25. Zhu W, Shiojima I, Hiroi Y, Zou Y, Akazawa H, Mizukami M, et al. Functional analyses of three Csx/Nkx-2.5 mutations that cause human congenital heart disease. *J Biol Chem*. 2000;275:35291–35296.
26. Edwards WD. Applied anatomy of heart. In: Giuliani ER, Fuster V, Gersh BJ, McGoon MD, McGoon DC (eds). *Cardiology: Fundamentals and Practise* (2<sup>nd</sup> ed). St Louis, Mosby-Year Book, 1991:47-112.
27. Meriç F: İzole atriyal septal defektlerde hemodinamik değerlendirme: Katater, ekokardiyografi, radyonüklid anjiyografi ile Qp/Qs ölçümleri ile, ASD indeksi, ventrikül septum hareketlerinin incelenmesi. Yan dal uzmanlık tezi, İstanbul Üniv. Tıp Fakültesi Pediatrik Kardiyoloji 1997,s.14-16.
28. Edwards WD. *Anatomy of the Cardiovascular System; Clinical Medicine* (Vol 6), Philadelphia:Harper & Row;1984;16:1-24.
29. Seward J. Transesophageal echocardiographic anatomy. In:Freeman W, Seward J, Khanderia B, Tajic AJ, eds. *Transesophageal echocardiography*. Boston:Little, Brown; 1994:55-101.
30. Beerman LB, Zuberbuher JR. Atrial Septal Defect. In: Anderson RH, Baker EJ, Macartnay FJ, Rigby ML, Shinebourne EA, Tynan M (eds). *Pediatric Cardiology* (2<sup>nd</sup> ed). Churchill Livingstone, 2002:901-930
31. Stark JF, Tsang VT. Secundum Atrial Septal Defect and Partial Anomalous Pulmonary Venous Return. In: Stark JF, Leval MR, Tsang VT (eds). *Surgery for*

Congenital Heart Defects (3<sup>rd</sup> ed). London, John Wiley&Sons Ltd. 2006;343-354.

32. Vick GW, Titus JL. Defects of the atrial septum including the atrioventricular canal. In: Garson A Jr, Bricker JT, McNamara DG (eds). *The Science and Practise of Pediatric Cardiology* (1<sup>st</sup> ed). Pennsylvania, Lea&Febiger,1990:1023-1054.

33. Kerut EK, Norfleet WT, Plotnick GD, Giles TD. Patent foramen ovale: a review of associated conditions and the impact of physiological size. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:613-623.

34. Cockerham JT, Martin TC, Gutierrez FR, Hartmann AF Jr, Goldring D, Strauss AW. Spontaneous closure of secundum atrial septal defect in infants and young children. *Am J Cardiol*. 1983;52:1267-1271.

35. Du ZD, Cao QL, Koenig P, Heitschmidt M, Hijazi ZM. Speed of normalization of right ventricular volume overload after transcatheter closure of atrial defect in children and adults. *Am J Cardiol*. 2001;88:1450-1453.

36. Beerman LB, Zuberbuhler JR. Atrial septal defect. In: Anderson RH, Macartney FJ, Shinebourne EA, Tynan M (eds) . *Pediatric Cardiology*. New York, Churchill Livingstone, 1987:541-562.

37. Mahoney LT, Truestell SC, Krzmarzick TR, Lauer RM. Atrial septal defects that present in infancy. *Am J Dis Child*. 1986;140:1115-1118.

38. Splanger JG, Feldt RH, Danielson GK. Secundum atrial septal defect encountered in infancy. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1976;71:398-401.

39. Clark RD, Edelen JS. *Case Studies in Echocardiography: A Diagnostic Workbook*. Philadelphia, Saunders, 1977;238-242.

40. Vick GW, Titus JL. Defects of the atrial septum including the atrioventricular canal. In: Garson A Jr, Bricker JT, McNamara DG (eds). *The Science and Practise of Pediatric Cardiology* ( 1<sup>st</sup> ed). Philadelphia/London, Lea & Febiger. 1990:1023-1054.

41. Beerman LB, Zuberbuhler JR. Atrial septal defect. In: Anderson RH, Macartey FJ, Shinebourne EA, Tynan M (eds). *Pediatric Cardiology*. New York, Churchill Livingstone, 1987:541-562.

42. Fuse S, Tomita H, Hatakeyama K, Kubo N, Abe N. Effect of size of a secundum atrial defect on shunt volume. *Am J Cardiol.* 2001;88:1447-1450.
43. Steele PM, Fuster V, Cohen M, Ritter DG, McGoon DC. Isolated atrial septal defect with pulmonary vascular obstructive disease: long term follow up and prediction of outcome after surgical correction. *Circulation* 1987;76:1037-1042.
44. Haworth SG. Pulmonary vascular disease in secundum atrial septal defect in children. *Am J Cardiol.* 1983;51:265-272.
45. Nugent EW, Plaught WH, Edwards JE, Williams HW. Congenital Heart Disease. In: Hurst JW, Schlant RC (eds). *The Heart* (7<sup>th</sup> ed). New York, McGraw-Hill. 1990:676-683.
46. Garson A Jr, Bink-Boelkens M, Hesslein PS, Hordof AJ, Keane JF, Neches WH, et al. Atrial flutter in the young: A collaborative study of 380 cases. *J Am Coll Cardiol.* 1985;6:871-878.
47. Anderson RH. Simplifying the understanding of congenital malformation of the heart. *Int J Cardiol.* 1991;32:131-142.
48. Clark EB, Kugler JD. Preoperative secundum atrial septal defect with coexisting sinus node and atrioventricular node dysfunction. *Circulation* 1982;65:976-980
49. Gullace G, Savoia MT, Knippel M, Ravizza P, Ranzi C. Reliability of subcostal TD echocardiography to detect atrial septal defect. *G Ital Cardiol.* 1982;12:59-63.
50. Weyman AE: Miscellaneous echocardiographic techniques I: contrast echocardiography. In: Weyman AE (ed). *Principles and Practice of Echocardiography* (2<sup>nd</sup> ed). Pennsylvania, Lea&Febiger, 1994;302-326.
51. Cloez JL, Schmidt KG, Birk E, Silverman NH. Determination of pulmonary to systemic blood flow ratio in children by a simplified Doppler echocardiographic method. *J Am Coll Cardiol.* 1988;11:825-830.
52. Hajduczuk ZD, Winniford MD, Kerber RE. Sensitivity of contrast ultrasound in

detection of atrial septal defect with predominant left-to-right shunting. *J Am Soc Echocardiogr.* 1992;5:475-480.

53. Tuccillo B, Stümper O, Hess J, van Suijlen RJ, Bos E, Roelandt JR, et al. Transesophageal echocardiographic evaluation of atrial morphology in children with congenital heart disease. *Eur Heart J.* 1992;13:223-231.

54. Robenson DA, Muhiduudeen IA, Silverman NH. Pediatric transeusophageal echocardiography. In: Silverman NH (ed). *Pediatric echocardiography.* Baltimore, Williams & Wilkins. 1993:597-615.

55. Stümper O, Witsenburg M, Sutherlend GR, Cromme-Dijkhuis A, Godman MJ, Hess J. Transesophageal echocardiographic monitoring of interventional cardiac catheterization in children. *J Am Coll Cardiol.* 1991;18:1506-1514.

56. Saygılı A, Yıldırım SV, Tokel K. Assesment of atrial pathologies in children using transesophageal echocardiography. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2004;4:124-129.

57. Wolfe LT, Rossi A, Ritter SB. Transesophageal echocardiography in infants and children: use and importance in the cardiac intensive care unit. *J Am Soc Echocardiogr.* 1993;6:286-289.

58. Acar P. Three-dimensional echocardiography in transcatheter closure of atrial septal defects. *Cardiol Young* 2000;10:484-492.

59. Vargo AT. Cardiac catheterization angiography. In: Garson A Jr, Bricker JT, McNamara DG (eds). *The Science and Practise of Pediatric Cardiology* (1<sup>st</sup> ed). Philadelphia/London, Lea & Febiger, 1990:913-945.

60. Rashkind W. Transcatheter treatment of congenital heart disease. *Circulation.* 1983;67:711-716.

61. Amin Z. Transcatheter closure of secundum atrial septal defects. *Catheter Cardiovasc Interv* 2006;68:778-787.

62. Lui X, Stice JD. Shape-memory alloys and their application. *J Appl Manufactur Syst.* 1990;3:65-72.

63. Çeliker A. Atriyal ve ventriküler septal defektlerin transkateter ile kapatılması; taşidisritmi tedavisinde radyofrekans kateter ablasyon. *Güncel Pediatri Derg.* 2006;4: 11-13
64. Faella HJ, Sciegata AM, Alonso JL, Jmelnitsky L. ASD closure with the Amplatzer device. *J Interv Cardiol.* 2003;16:393-397.
65. Chessa M, Carminati M, Butera G, Bini RM, Drago m, Rosti L, et al. Early and late complications associated with transcatheter occlusion of secundum atrial septal defect. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:1061-1065.
66. John Sutton MG, Tajik AJ, McGoon DC. Atrial septal defect in patients ages 60 years or older: Operative results and long-term postoperative follow-up. *Circulation* 1981;64:402-409.
67. Delanay JW, Li JS, Rhodes JF. Major complications associated with transcatheter atrial septal occluder implantation: A review of the medical literature and the manufacturer and user facility device experience (MAUDE) database. *Congenit Heart Dis.* 2007;2:256-264.
68. Gross RE, Pomeranz AA, Watkins E JR, Goldsmith EI. Surgical closure of defects of the interarticular septum by use of an atrial well. *N Engl J Med.* 1952;247:455-460.
69. Radzik D, Davignon A, van Doesburg N, Fournier A, Marchand T, Ducharme G. Predictive factors for spontaneous closure of atrial septal defects diagnosed in the first 3 months of life. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22:851-853.
70. Haworth SG. Pulmonary vascular disease in secundum atrial septal defect in childhood. *Am J Cardiol.* 1983;51:265-272.
71. Rhee EK, Evangelista JK, Nigrin DJ, Erickson LC. Impact of anatomic closure on somatic growth among small, asymptomatic children with secundum atrial septal defect. *Am J Cardiol.* 2000;85:1472-1475.
72. Dajani AS, Taubert KA, Wilson W, Bolger AF, Bayer A, Ferrieri P, et al. Prevention of bacterial endocarditis. Recommendations by the American Heart Association. *Circulation* 1997;96:358-366.

73. Bernstein D. Congenital Heart Disease. In: Klieman RM, Berhman RE, Jenson HB, Stanton BF (eds). Nelson Textbook of Pediatrics (18<sup>th</sup> eds ). Saunders, 2008:1878-1894.

74. Madaule P, Axel R. A novel ras-related gene family. Cell 1985;41:31-40.

75. Takai Y, Sasaki T, Matuzaki T. Small GTP-Binding Proteins. Physiol Rev 2001;81:153-208.

76. Shibata R, Kai H, Seki Y, Kato S, Morimatsu M, Kaibuchi K, et al. Role of Rho-associated kinase in neointima formation after vascular injury. Circulation. 2001;103:284-289.

77. Chitale K, Wingard CJ, Clinton Webb R, Branam H, Stopper VS, Lewis RW, et al. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway. Nat Med. 2001;7:119-122.

78. Casey PJ, Seabra MC. Protein prenyltransferases. J Biol Chem. 1996;271:5289-5292.

79. Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. Biochem J. 2000;348:241-55.

80. Olofsson B. Rho guanine dissociation inhibitors: pivotal molecules in cell signaling. Cell Signal 1999;11:545-554.

81. Zheng Y. Db1 family guanine nucleotide exchange factors. Trends Biochem Sci. 2001;26:724-732.

82. Gerthoffer WT. Mechanisms of vascular smooth muscle cell migration. Circ Res. 2007;100:607-621

83. Gerthoffer WT. Migration of airway smooth muscle cells. Proc Am Thorac Soc. 2008;5:97-105.

84. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular

system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;290:661-668.

85. Nakagawa O, Fujisawa K, Ishizaki T, Saito Y, Nakao K, Narumiya S. *ROCK-I* and *ROCK-II*, two isoforms of Rho-associated coiled-coil forming protein serine/threonine kinase in mice. *FEBS Lett*. 1996;392:189-193.

86. 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;15:2208-2216.

87. Takahashi N, Tuiki H, Saya H, Kaibuchi K. Localization of the gene coding for *ROCKII/Rhokinase* on human chromosome 2p24. *Genomics*. 1999;55:235-237.

88. Tanaka T, Nishimura D, Wu RC, Amano M, Iso T, Kedes L, et al. Nuclear Rhokinase, *ROCK2*, targets p300 acetyltransferase. *J Biol Chem*. 2006;281:15320-15329.

89. Amano M, Fukata Y, Kaibuchi K. Regulation of cytoskeleton and cell adhesion by the small GTPase Rho and its targets. *Trends Cardiovasc Med*. 1998;8:162-168.

90. Hirano K. Current topics in the regulatory mechanism underlying the  $\text{Ca}^{+2}$  sensitization of the contractile apparatus in vascular smooth muscle. *J Pharmacol Sci*. 2007;104:109-115.

91. Miura Y, Kikuchi A, Musha T, Kuroda S, Yaku H, Sasaki 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;268:510-515.

92. Buhl AM, Johnson NL, Dhanasekaran N, Johnson GL. G alpha 12 and G alpha 13 stimulate Rho- dependent stress fiber formation and focal adhesion assembly. *J Biol Chem*. 1995;270:24631-24634.

93. Miao L, Dai Y, Zhang J. Mechanism of RhoA/Rho kinase activation in endothelin-1-induced contraction in rabbit basilar artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:983-989.

94. Chitaley K, Webb RC. Microtubule depolymerization facilitates contraction of rat aorta via activation of Rho-kinase. *Vascul Pharmacol*. 2002;38:157-161.

95. Coussin F, Scott RH, Wise A, Nixon GF. Comparison of sphingosine 1-phosphate-induced intracellular signaling pathways in vascular smooth muscles differential roles in vasoconstriction. *Circ Res.* 2002;91:151-157.
96. Shirao S, Kashiwagi S, Sato M, Miwa S, Nakao F, Kurokawa T, et al. Sphingosylphosphorylcholine is a novel messenger for Rho-kinase mediated  $Ca^{2+}$  sensitization in the bovine cerebral artery: unimportant role for protein kinase C. *Circ Res.* 2002;91:112-119.
97. McGregor E, Gosling M, Beattie DK, Ribbons DM, Davies AH, Powell JT, et al. Circumferential stretching of saphenous vein smooth muscle enhances vasoconstrictor responses by Rho-kinase-dependent pathways. *Cardiovasc Res.* 2002;53:216-219.
98. van Nieuw Amerongen GP, van Delft S, Vermeer MA, Collard JG, van Hinsbergh VW. Activation of RhoA by thrombin in endothelial hyperpermeability role of Rho kinase and protein tyrosine kinase. *Circ Res.* 2000;87:335-340.
99. Büyükaşar 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. *Eur J Pharmacol.* 2004;498:211-217.
100. Kandabashi T, Shimokawa H, Mukai Y, Matoba T, Kunihiro I, Morikawa K, et al. Involvement of rho-kinase in agonist-induced contractions of arteriosclerotic human arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:243-248.
101. Ai S, Kuzuya M, Koike T, Asai T, Kanda S, Maeda K, et al. Rho-Rho kinase is involved in smooth muscle cell migration through myosin light chain phosphorylation and independent pathways. *Atherosclerosis.* 2001;155:321-327.
102. Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of *ROCKs* in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290:661-668.
103. Kureishi Y, Kobayashi S, Amano M, Kimura K, Kanaide H, Nakano T, et al. Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem.* 1997;272:12257-12260.
104. 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;22:32-39.

105. Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science.* 1996;273:245-248.

106. 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;21:300-311.

107. Matsumoto Y, Uwatoku T, Oi K, Abe K, Hattori T, Morishige K, et al. 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;24:181-186.

108. 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;134:1724-1730.

109. 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 ;35:203-211.

110. Demiryürek S, Kara AF, Celik A, Babül A, Tarakçioğlu M, Demiryürek AT. Effects of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on myocardial preconditioning in anesthetized rats. *Eur J Pharmacol.* 2005;527:129-140.

111. Demiryürek S, Kara AF, Celik A, Tarakçioğlu 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.

112. Gohla A, Schultz G, Offermanns S. Role for G(12)/G(13) in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. *Circ Res.* 2000;87:221-227.

113. Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology. *J Mol Med.* 2002;80:629-638.

114. Sakurada S, Takuwa N, Sugimoto N, Wang Y, Seto M, Sasaki Y, Takuwa Y.  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent activation of Rho and Rho kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. *Circ Res*. 2003;93:548-556.
115. 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;282:990-998.
116. Weber DS, Webb RC. Enhanced relaxation to the rho-kinase inhibitor Y-27632 in mesenteric arteries from mineralocorticoid hypertensive rats. *Pharmacology*. 2001;63:129-133.
117. 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;132:302-308.
118. Seasholtz TM, Wessel J, Rao F, Rana BK, Khandrika S, Kennedy BP, et al. Rho kinase polymorphism influences blood pressure and systemic vascular resistance in human twins: role of heredity. *Hypertension*. 2006;47:937-947.
119. 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;283:1361-1369.
120. Zhao Q, Wang L, Yang W, Chen S, Huang J, Fan Z, et al. Interactions among genetic variants from contractile pathway of vascular smooth muscle cell in essential hypertension susceptibility of Chinese Han population. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18:459-466.
121. 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;282:8069-8078.
122. 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;361:462-467.
123. 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;49:1015-1031.

124. Ertürk L, Özyürek A.R, Ülger Z. Sekundum atrial septal defektlerde spontan kapanma. SSK Tepecik Hast Derg . 2002;12:97-100.

125. Azhari N, Shihata MS, Al-Fatani A. Spontan closure of atrial septal defects within the oval fossa. Cardiol Young 2004;14:148-155.

126. Christensen DD, Vincent RN, Campbell RM. Presentation of atrial septal defect in the pediatric population. Pediatr Cardiol. 2005;26:812-814.

127. Hüdaoğlu S. İzole atriyal septal defekt, ventriküler septal defekt ve patent duktus arteriyozusun klinik seyri. Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları.

## 8.EKLER

## 8.1. Etik Kurul Kararı

KARAR BİLGİLERİ		Karar No: 12/2010-16	Tarih:16.12.2010			
		Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Osman BAŞPINAR'ın sorumluluğunda yürütülen "Çocuklardaki ventriküler veya atriyal septal defekt ile ROCK2 gen polimorfizmi arasındaki ilişkisinin araştırılması." Adlı projede değişiklik başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak 16.12.2010 tarihli Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmada Arş.Gör.Dr.Mehmet AKSOY ve Arş.Gör.Dr.Hatice UYGUN'un görevlendirilmesi ile ilgili protokol değişikliğinin uygunluğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.				
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı-Soyadı/ Etik Kurul Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç.Dr.Belgin ALAŞEHİRLİ Başkan	Farmakoloji	G.Ü.Tıp Fak. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr.Vedat DAVUTOĞLU	Kardiyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Kardiyoloji A.D	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr.Serdar ÜŞÜMEZ Raportör/Üye	Diş Hekimi	G.Ü. Diş Hek. Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Ercan SİVASLI Üye	Pediyatri	G.Ü.Tıp Fak. Pediyatri A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Beyhan CENGİZ Üye	Fizyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Fizyoloji A.D.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd.Doç.Dr.Ş.Nur AKSOY Üye	Biyokimya	G.Ü.Tıp Fak. Biyokimya A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı
Ecz.Ahmet BOŞNAK Üye	Eczacı	G.Ü. Tıp Fak. Farmakoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı

\* Araştırma ile ilişki

\*\* Toplantıda Bulunma

