

2008 - 277

TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu
Health Sciences Research Group

Q/ 95499

Koroner arter hastalığı olan bireylerde endotelial nitrik oksit sentaz (Glu298Asp) gen polimorfizmi ile hemoreolojik parametreler arasındaki ilişkinin araştırılması

Proje No: 107S130 (SBAG-HD-225)

Doç. Dr. Z. Melek (BOR) KÜÇÜKATAY
Doç. Dr. Süleyman DEMİR
Arş.Gör. Dr. Ramazan AKBAY
Doç. Dr. Dursun DURSUNOĞLU
Prof. Dr. Ender SEMİZ

AGUSTOS 2008
DENİZLİ

ÖNSÖZ

Günümüzde çok sık görülen önemli sağlık sorunlarından biri olan Koroner arter hastalığı (KAH)'nın etyolojisinde genetik faktörler dahil birbiri ile ilişkili bir çok faktör rol oynamaktadır. Kişilerin kardiyovasküler risk değerlendirilmesinin yapılması ve bilinen risk faktörlerinin azaltılması ile yaşam tarzı değişikliği, hastalığın tedavisi kadar ve hatta daha da önemlidir. Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi tarafından sentezlenen nitrik oksit (NO)'in organizmada çok yaygın etkileri vardır. Bunlar arasında kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesine yaptığı katkılar özel bir yere sahiptir. NO'in oluşumu yada etkilerini göstermesi ile ilgili herhangi bir bozukluğun kardiyovasküler hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Bu projede, anjiyografik olarak tanımlanmış KAH'larında eNOS gen polimorfizmi ile hemoreolojik parametreler (eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, tam kan ve plazma viskozitesi) arasındaki ilişkinin incelenmesi ve sağlıklı bireylerle karşılaştırılması amaçlanmıştır. KAH olan bireylerle sağlıklı bireyler arasında genotip dağılımı ve alel frekansı açısından bir fark olduğunun gözlenebileceği ve bu farklılığın hemoreolojik parametrelerle ilişkilendirilebileceği ön görülmüştür. Hemoreolojik parametrelerin ölçümü teknik açıdan oldukça kolay, hızlı ve düşük maliyetlidir. Çalışmadan elde edilecek verilerin, hemoreolojik parametrelerin risk altındaki bireylerin önceden tespit edilebilmesi ve tanısal amaçla kullanımlarına olanak sağlayabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın sonuçları, G aleline sahip KAH'larının eritrositlerinin agregasyon eğiliminin aynı alele sahip sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu göstermektedir. Eritrositlerin agregasyon derecesi doku perfüzyonu açısından önemlidir. KAH'nın ortaya çıkarılmasında eritrosit agregasyonu ölçümünün yararlı bir metod olabileceğini ileri süren araştırmacılar vardır. KAH gelişimi sürecindeki patolojik mekanizmaların eritrosit agregasyonunun artmasına sebep olarak doku oksijenizasyonunun daha fazla bozulmasına yol açabiliyor olabileceği görülmektedir. Bu bağlamda, eritrosit agregasyonunda gözlenen değişiklikler, KAH'lığının sebebi değil sonucu gibi görünmektedir. Bizim çalışmamızda ayrıca, kardiyovasküler patolojiler açısından artmış risk altında olan T aleline sahip sağlıklı bireylerin eritrositlerinin agregasyon genlikleri G aleline sahip sağlıklı bireylere göre düşük bulunmuştur. Bu veriler, T aleline sahip genetik açıdan riskli sağlıklı bireylerde kompanzatuvar bazı mekanizmaların eritrosit agregasyonunun azalmasına sebep olarak dolaşımın düzenlenmesine katkıda bulunuyor olabileceğini düşündürmektedir. Bizim verilerimiz, hemoreolojik parametreler arasında eritrosit agregasyonunu kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi açısından ön plana çıkarmaktadır. Çalışma, denek sayısı artırılarak, eNOS geninin diğer polimorfizmleri ve diğer kardiyovasküler patolojiler de incelenecek şekilde genişletilebilir.

Araştırmacılar çalışmayı 107S130 (SBAG-HD-225) proje numarasıyla destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederler.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO ve ŞEKİL LİSTELERİ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
GEREÇ VE YÖNTEM	5
Eritrosit şekil değiştirme yeteneği (deformabilite)	5
Eritrosit agregasyonu	5
Tam kan ve plazma viskozitesi	6
Polimorfizm çalışması ve nitrit/nitrat düzeyi ölçümü	6
İSTATİKSEL ANALİZ	6
BULGULAR	7
TARTIŞMA/SONUÇ	13
REFERANSLAR	18
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU	25

TABLO VE ŞEKİL LİSTELERİ

Şekil	Sayfa
1 Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizminin PCR analizi.	7
2 Koroner arter hastaları (KAH) ve sağlıklı bireylerin genotipe göre eritrosit agregasyon genliği (AMP) değerleri	10
3 Koroner arter hastaları (KAH) ve sağlıklı bireylerin alele göre ölçülen eritrosit agregasyon genliği (AMP) değerleri	11
4 G aleline sahip sağlıklı bireyler ve KAH'larının eritrosit agregasyon indeksi (AI) değerleri	12
5 G aleline sahip sağlıklı bireyler ve KAH'larının eritrosit agregasyon yarı zamanı (t 1/2) değerleri	12
6 T aleline sahip sağlıklı bireyler ve KAH'larının 30 Pa kayma kuvveti altında ölçülen eritrosit elongasyon indeksi (EI) değerleri	12

Tablo	Sayfa
1 Kontrol grubu ve KAH'larının demografik karakterleri ve risk faktörlerinin gruplara göre dağılımı	8
2 Kontrol grubu ve KAH'larında risk faktörlerinin gruplara göre dağılımı	8
3 Kontrol grubu ve KAH'larında endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp genotip dağılımı	8
4 Kontrol grubu ve KAH'larında endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp alel dağılımı	9
5 Kontrol grubu ve KAH'larının hemoreolojik parametreleri	9
6 Kontrol grubu ve KAH'larının endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizmi genotiplerine göre hemoreolojik parametreleri	10
7 Kontrol grubu ve KAH'larının endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizmi alellerine göre hemoreolojik parametreleri	13

ÖZET

Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) geninin Glu298asp polimorfizminin koroner arter hastalığı (KAH)'lığı ile ilişkisi gösterilmiştir. Literatürde, KAH ile hemoreolojik parametreler arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmada KAH'da eNOS gen polimorfizmi ile hemoreolojik parametreler arasındaki ilişkinin incelenmesi ve kontrol grubuyla karşılaştırılması amaçlanmıştır. Genotipleme ve alel frekans dağılımı PCR yöntemiyle yapılmıştır. Eritrosit deformabilitesi ve agregasyonu bir ektasitometre, tam kan ve plazma viskozitesi bir viskometre aracılığıyla saptanmıştır. Plazma nitrit, nitrat (NO_x) konsantrasyonları Griess metoduyla belirlenmiştir. Çalışmaya katılan sağlıklı bireylerin 50 tanesinin (%67,5) GG, 21 tanesinin (%28,4) GT, 3 tanesinin ise (% 4,1) TT genotipine sahip olduğu gösterilmiştir. KAH'larından 48 tanesi (%57,8) GG, 28 tanesi (% 33,7) GT, 7 tanesi (% 8,5) TT genotipine sahiptir. Plazma NO_x konsantrasyonları açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır. Kardiyovasküler patolojiler açısından artmış risk altında olan TT genotipine ve alele göre değerlendirildiğinde, T aleline sahip sağlıklı bireylerin eritrositlerinin agregasyon genliği (AMP) değerleri GG genotipine ve G aleline sahip sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur. G aleline sahip KAH'larının eritrosit agregasyon indeksi değerleri aynı alele sahip sağlıklı bireylere göre yüksek, agregasyon yarı zamanı (t_{1/2}) değerleri ise düşük olarak tespit edilmiştir. 30 Pa kayma kuvvetinde ölçülen eritrosit deformabilitesi T aleline sahip KAH'larında sağlıklı bireylere göre yüksek olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın verileri eritrosit agregasyonunda gözlenen değişimlerin sebep olmaktan çok KAH'lığının bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak, genetik açıdan riskli sağlıklı bireylerde kompanzatuvar bazı mekanizmalar eritrosit agregasyonunu azaltmak suretiyle dolaşımın düzenlenmesine katkıda bulunuyor olabilirler.

Anahtar kelimeler: Koroner arter hastalığı, kardiyovasküler risk, nitrik oksit sentaz, polimorfizm, hemoreoloji

ABSTRACT

The Glu(298)Asp polymorphism of eNOS gene has been shown to be associated with the presence of coronary artery disease (CAD). Impaired hemorheology has been demonstrated to be related with CAD. This study aimed to investigate the relationship between eNOS Glu(298)Asp gene polymorphism and hemorheological parameters in controls and CAD patients. RBC deformability and aggregation were measured using an ectacytometry, whole blood, plasma viscosities by a viscometer. Polymerase chain reaction (PCR) was used to detect polymorphism. Plasma nitrite, nitrate (NO_x) concentrations were determined by Griess method. The genotype distribution of the control group was as follows: 50 (67,5 %) GG, 21 (28,4 %) GT, 3 (4,1 %) TT. 48 (57,8 %) of the patients with CAD had GG, 28 (33,7%) GT, 7 (8,5 %) of them TT genotype. The amplitude (AMP) of red blood cell (RBC) aggregation of healthy subjects with TT genotype and T allele, who are under increased cardiovascular risk was lower compared to control subjects with GG genotype or G allele. RBC aggregation index (AI) of CAD patients with G allele was higher and aggregation half time ($t_{1/2}$) lower compared to controls carrying the same allele. The results of this study indicate that, alterations in RBC aggregation seem to be a consequence of CAD, more than being a preexisting cause. Additionally, some compensatory mechanisms by causing decrements in RBC aggregation, may help regulation of circulation in healthy individuals with high cardiovascular risk.

Keywords: Coronary artery disease, cardiovascular risk, nitric oxide synthase, polymorphism, hemorheology.

GİRİŞ

Koroner arter hastalığı (KAH) kronik ve ilerleyici bir hastalık olup ömür boyu tedavisi gerekmektedir. Türkiye, koroner arter hastalığına bağlı mortalite açısından Avrupa ülkeleri arasında yüksek seviyelerdedir (ONAT, 2003). Koroner ateroskleroz erken yaşlarda başlayabilmekte, hastalık boyutuna ise genellikle orta yaşlarda gelmektedir. Bu sebeple, KAH için yüksek risk altındaki kişilerin belirlenerek risk faktörlerinden düzeltilebilir olanların kontrol altına alınması ve bireyin yaşam tarzının düzenlenmesi en az tedavi kadar önemlidir.

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS enziminin üç izoformu tanımlanmıştır: indüklenebilir NOS (iNOS), nöronal NOS (nNOS), ve endotelial NOS (eNOS) (BHAGAT, 1996; ALDERTON, 2001). NO myokard kontraktilitesi, trombosit agregasyonu ve damar tonüsünün düzenlenmesi, damar düz kası proliferasyonunun inhibisyonunda önemli rollere sahiptir. Bu nedenle, onun oluşumu ya da hücre içi etkilerini göstermesi ile ilgili herhangi bir patoloji esansiyel hipertansiyon, ateroskleroz, anjina ve vazospazm gibi bir grup kardiyovasküler hastalığa sebep olur (QUYYUMI, 1995; NAVA, 1995; LLOYD-JONES, 1996; VALLANCE, 1999). Eritrositler dolaşımında NO'nin metabolizma ve taşınmasında önemli rollere sahiptirler (PATEL, 2000; LAUER, 2002). Ek olarak, NO'nin eritrosit mekanik özellikleri üzerinde (deformabilite ve agregasyon) doz-bağımlı düzenleyici bir etkisi olduğu bilinmektedir (KORBUT, 1996; BOR-KUCUKATAY, 2000; BOR-KUCUKATAY, 2003). Bir çok populasyon üzerinde yapılan çalışmalar eNOS geninin Glu298Asp'ı da içeren farklı polimorfizmlerinin KAH'nın varlık ve şiddetiyle ilişkisini ortaya koymuştur (COLOMBO, 2003; BERDELİ, 2005; KERKENİ, 2006).

Hemoreolojik faktörlerin (eritrosit deformabilitesi, agregasyonu, kan ve plazma viskozitesi, plazma fibrinojen konsantrasyonu, Hct) kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiştir (LOWE, 1980; KESMARKY, 1998). Plazma fibrinojen konsantrasyonu, kan ve plazma viskozitesinin KAH için bağımsız risk faktörleri oldukları ileri sürülmüştür (BECKER, 1993; MONTALESCOT, 1998). eNOS polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişkiyi ve KAH patogenezi ve gelişiminde hemoreolojik parametrelerin rolünü gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen KAH olan bireylerde eNOS polimorfizmi ve hemoreolojik parametrelerin ilişkisini inceleyen çalışma yoktur. Bu çalışmadaki amaç, koroner arter hastalığı (KAH) olan bireylerde endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) geninin 894. pozisyonundaki Guanin bazının Timin bazı (Glu298Asp) ile yer değiştirmesinden kaynaklanan eNOS polimorfizmi ile plazma nitrik oksit

(NO) düzeyinin göstergesi olan nitrit, nitrat (NO_x konsantrasyonu) ve hemoreolojik parametreler arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

KAH multifaktöriyel bir hastalık olup, moleküler etyolojisi birçok genin etkileşimini ve çevresel faktörleri içermektedir (MADAMANCHI, 2006). Batı toplumları ve ülkemizde halen KAH'ının ana ölüm nedeni akut miyokard enfarktüsü (AMI)'dür (MCGOVERN, 1996; ONAT, 2003). Ülkemizde koroner mortalite, 45-74 yaş kesiminde (erkeklerde binde 8,2, kadınlarda binde 4,3), Avrupa ülkeleri arasında en yüksek seviyelerdedir ve koroner mortalite ile morbiditenin her yıl %5 oranında yükseldiği tahmin edilmektedir. Türkiye'de 1,12 milyon erkek ve 0,89 milyon kadında KAH bulunduğu düşünülmektedir (ONAT, 2003). ABD'de KAH olan bireylerin tedavi maliyetinin 47,4 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir. Bu hastalığın batıda morbiditeye bağlı üretim kaybı ve erken ölüme bağlı topluma maliyeti ise 43 milyar dolar civarındadır (ROSAMOND, 2007). Sayılan faktörler göz önüne alındığında, KAH'ının önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu ortaya çıkmaktadır.

NO, organizmada pek çok hücrede yapısal (cNOS) veya indüklenebilir (iNOS) NOS enzimi aracılığıyla L-arjininin terminal guanidino nitrojeninden sentezlenen yerel kan basıncının kontrolüne katkıları olan önemli bir ateroprotektif bir maddedir. cNOS endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) olmak üzere iki tiptir (BHAGAT, 1996; ALDERTON, 2001). Dolaşımdaki nitrik oksit primer olarak 7q35 ile 36. kromozom bölgeleri arasında yerleşmiş 26 exon geni tarafından kodlanan eNOS tarafından sentezlenir (MARSDEN, 1993). NO üretimindeki azalma veya yıkımındaki artışın aterogenezisi uyardığı ve aterom plakları oluşumuna sebep olabildiği, L-arjinin tedavisinin ise bu lezyonların oluşumunu engellediği gösterilmiştir (MATEO, 2000; BHAGAT, 1996; VALLANCE, 1999; SILVERI, 2001). NO'in, aterosklerotik lezyonların gelişiminde özellikle erken dönemde çok önemli olan LDL oksidasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (LLOYD-JONES, 1996).

Literatürde eNOS genindeki DNA polimorfizmleri ile eNOS ekspresyonu ve KAH arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma vardır. eNOS geninin T-786 C polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişki farklı popülasyonlarda gösterilmiştir (ROSSI, 2003; COLOMBO, 2003; RIOS, 2005, TANGUREK, 2006; JIA, 2007; KIM, 2007). Türk popülasyonunda yapılan çalışmalarda da eNOS geni T-786 C polimorfizminin KAH için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (TANGUREK, 2006). T-786 C polimorfizmine ek olarak eNOS geninin 894. pozisyonundaki Guanin bazının Timin bazı ile yer değiştirmesinden kaynaklanan Glu 298 Asp polimorfizminin

KAH ile ilişkisi de pek çok farklı popülasyonda çalışılmıştır (NAGIB EL-KILANY, 2004; SRIVASTAVA, 2005; KERKENI, 2006). Cam ve arkadaşları Türk popülasyonunda yaptıkları çalışmada eNOS geninin G894T polimorfizmine sahip bireylerin prematür koroner arter hastalığı açısından artmış risk altında olduğunu ileri sürmüşlerdir (CAM, 2005). Benzer şekilde, Berdeli ve arkadaşları da renin-anjiotensin sistemi genleri ve eNOS Glu298Asp polimorfizmlerinin prematür KAH gelişimine katkısı olduğunu göstermişlerdir (BERDELI, 2005). eNOS Asp298 aleline sahip genç, sağlıklı erkekler üzerinde yapılan çalışmalar, bu aleli taşıyan bireylerde erken ateroskleroz gelişiminin daha sık olduğunu göstermiştir. (IMAMURA, 2004). Ek olarak, eNOS geninin promotor T 786 C ve ekzon 7 G894T polimorfizmlerinin her ikisinin birden azalmış vasküler NO üretimi ve eNOS'un artmış proteolitik yıkımı ile ilgili olduğu ileri sürülmüş ve bu iki polimorfizmden herhangi birinin varlığının koroner arter hastalarında, endotel-bağımlı vazodilatasyonu zayıflattığı gösterilmiştir (ERBS, 2003). Colombo ve arkadaşları da eNOS geni Glu298Asp ve T786C polimorfizmlerinin anjiyografik olarak tanımlanmış KAH'nın varlık ve şiddetiyle ilişkili olduğunu ve bu varyantları taşıyan bireylerin koroner arter hastalığı gelişimi açısından yüksek risk altında olduklarını belirtmişlerdir (COLOMBO, 2003).

Yüksek risk faktörleri

Hematokrit (Hct), fibrinojen, plazma ve kan viskozitesi ile eritrosit agregasyonunu içeren hemoreolojik parametrelerin KAH'nın patogenezi ve gelişiminde rol oynayabileceği ve şiddeti ile de ilişkili oldukları gösterilmiştir (LOWE, 1980; MEADE, 1995; KESMARKY, 1998, WENG, 1999). Plazma fibrinojen konsantrasyonu, plazma ve tam kan viskozitesinin KAH gelişiminde bağımsız risk faktörleri olduklarını ileri süren çalışmalar vardır (BECKER, 1993; MONTALESCOT, 1998; BOGAR, 2006). Ek olarak, KAH'nın ortaya çıkarılmasında eritrosit agregasyonu ölçümünün yararlı bir metod olabileceği de öne sürülmüştür (BOSS, 1980). Kan akım mekaniğindeki değişimlerin KAH ve inme gibi bir grup kardiyovasküler patolojinin gelişiminde önemli rolü olduğu ve klasik risk faktörleriyle yakın ilişkileri bilinmektedir (DE BACKER, 2002; ALEXY, 2005). Plazma viskozitesindeki artış veya eritrosit deformabilitesindeki azalmanın endotel üzerine direk mekanik etki ile aterosklerotik KAH'nın gelişimi veya ilerlemesinde rol oynayabilecekleri ileri sürülmektedir (BECKER, 1993). Koroner arter hastaları ve yüksek risk altındaki bireylerde gözlenen hiperviskozitenin azalmış eritrosit deformabilitesine bağlı olabileceği, daha da önemlisi eritrositteki hasarın aşkar hastalık bulguları ortaya çıkmadan önce meydana gelebileceği, dolayısıyla sonuç olmaktan çok sebep olabileceği ileri sürülmüştür (MARES, 1991). Rainer ve arkadaşları KAH'larının hemoreolojik parametrelerini sağlıklı kontrollerle karşılaştırdıklarında hasta grubunun hematokritlerinde hafif bir artış, plazma, tam kan viskoziteleri ve fibrinojen düzeylerinde

önemli düzeyde yükselmeler, eritrosit agregasyonunun derece, miktar ve hızında anlamlı artışlar saptamışlardır (RAINER, 1987). eNOS polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişkiyi ve KAH patogenezi, gelişimi ve şiddetinde hemoreolojik faktörlerin rolünü tek tek inceleyen oldukça fazla sayıda çalışma olmasına rağmen, KAH olan bireylerde eNOS polimorfizmi ve hemoreolojik faktörlerin ilişkisini inceleyen bir çalışma mevcut değildir. Kan basıncının düzenlenmesinde etkin rol oynayan başka bir enzim olan Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) I/D polimorfizmi ile eritrosit deformabilitesi arasındaki ilişki gösterilmiştir. Kardiyovasküler hastalıklar açısından artmış risk altında bulunan ACE DD genotipine veya D aleline sahip bireylerin eritrosit şekil değiştirme yetenekleri II genotipi veya I aleline sahip bireylere göre yüksek bulunmuştur (BOR-KUCUKATAY, 2006). Ek olarak, ACE D aleline ve DD genotipine sahip bireylerde artmış bazal NO aktivitesi de gösterilmiştir (BUIKEMA, 1996; PRASAD, 2000). Eritrosit deformabilitesinin sağlanma ve sürdürülmesinde ortamda belli bir kritik konsantrasyonda NO varlığının önemli olduğu bilinmektedir. (BOR-KUCUKATAY, 2003) Bu bilgilerden yola çıkılarak, laboratuvarımızda gösterilen ACE DD genotipine veya D aleline sahip bireylerdeki yüksek eritrosit şekil değiştirme yeteneğinin artmış bazal NO aktivitesine bağlı olabileceği ve bunun da bahsedilen bireylerin lehine işleyen bir kompensatuar mekanizma olabileceği ileri sürülmüştür (BOR-KUCUKATAY, 2006).

Yukarıdaki bilgiler ışığında, bu çalışmada KAH'larında eNOS geninin 894. pozisyonundaki Guanin bazının Timin bazı (Glu298Asp) ile yer değiştirmesinden kaynaklanan eNOS polimorfizmi ve plazma nitrik oksit düzeyleri ile hemoreolojik parametreler arasındaki ilişkinin araştırılması planlanmıştır. Projeden elde edilecek verilerle risk altındaki bireylerin belirlenebilmesi yoluyla koroner arter hastalığının erken tanısı ve önlenmesine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'na başvurmuş ve koroner anjiyografi ile KAH teşhisi almış 35-80 yaş arasındaki 83 hasta ve anjiyografik olarak sağlıklı kabul edilen 75 kontrol üzerinde yapılmıştır. Tüm denekler fizik muayeneleri yapılarak yaş, cinsiyet, boy, kilo, kardiyovasküler hastalık varlığı ve şiddeti, kardiyovasküler global risk (kan basıncı, sigara, alkol kullanımı, diyabet, aile öyküsü, obezite, dislipidemi vb) ve ilaç kullanımı açısından değerlendirilmiştir. Total kolesterol, trigliserid, HDL kolesterol ve VLDL, LDL kolesterol sonuçları ölçülmüştür.

Anjiyografi için girilmiş damardan, EDTA'lı tüplere yaklaşık 10 ml kadar kan alınmıştır. Alınan kanlar hızla laboratuara ulaştırılmış ve aşağıdaki hemoreolojik parametreler çalışılmıştır:

1) Eritrosit şekil değiştirme yeteneği (deformabilite): Eritrosit deformabilitesi bir ektasitometre (LORCA, RR Mechatronics, Hoorn, The Netherlands) kullanılarak, 0.3 ve 30 Pascal (Pa) arası 9 ayrı sıvı kayma kuvvetinde lazer difraksiyon analizi ile değerlendirilmiştir (HARDEMAN, 1994). Ektasitometrenin çalışma prensibi kısaca şu şekildedir: Eritrosit süspansiyonları aralarında 0.3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan iki cam silindirden oluşan bir viskometre sistemine yerleştirilir. İki cam silindirin arasındaki boşluğa doldurulan süspansiyon, dıştaki cam silindirin sistemi kontrol eden bilgisayar tarafından, uygun kayma kuvvetlerini oluşturmak üzere hesaplanan bir hızda döndürülmesiyle, bu kuvvetlerin etkisi altında bırakılır. Bu sırada sabit silindirin içinde yer alan lazer kaynağından çıkan ışın, eritrosit süspansiyonuna ulaşmakta ve sonra bir ekran üzerine yansıyan difraksiyon paterni, süspansiyondaki eritrositlerin şeklini ve dönme hareketinin yarattığı akıma oryantasyonlarını yansıtmaktadır. Artan kayma kuvvetlerine paralel olarak, dairesel bir formdan elipsoid forma dönüşün derecesi ile eritrositlerin şekil değiştirme yetenekleri (deformabilite) arasında doğru orantı vardır. Elipsoid difraksiyon paterninin uzun (A) ve kısa eksenlerinin (B) uzunluklarının bilgisayar tarafından saptanması $EI=A-B/A+B$ şeklinde bir elongasyon indeksinin'nin (EI) hesaplanmasına olanak tanır.

2) Eritrosit agregasyonu: Eritrosit agregasyonu da aynı cihaz (LORCA) kullanılarak ölçülmüştür (HARDEMAN, 2001). Hastaların Hct değerleri plazma eklenmesi/veya çıkarılması ile standart olarak %40'a ayarlanmıştır. 15 dakika boyunca oksijenize edilen tam kan örnekleri aralarında 0.3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan iki cam silindirden oluşan bir sisteme yerleştirilmiştir. Bir bilgisayar programı

aracılığıyla agregasyonun miktarının ölçüsü olan agregasyon indeksi (AI), agregasyon kinetiğinin bir göstergesi olan agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$), ve agregasyon genliği (AMP) belirlenmiştir .

3) Tam kan ve plazma viskozitesi: Tam kan ve plazma viskozitesi bir Wells-Brookfield cone-plate viskometre (model DV-II+Pro, Brookfield engineering Labs, Middleboro, MA) kullanılarak ölçülmüştür. Hastaların Hct değerleri belirlenmiş ve hem orijinal Hct'te hem de plazma eklenmesi/veya çıkarılması ile Hct %40 'a ayarlanarak standart Hct'te tam kan viskoziteleri $75-375 \text{ s}^{-1}$ kayma hızında belirlenmiştir. Plazma viskozitesi de aynı viskometre kullanılarak 375 s^{-1} kayma hızında ölçülmüştür.

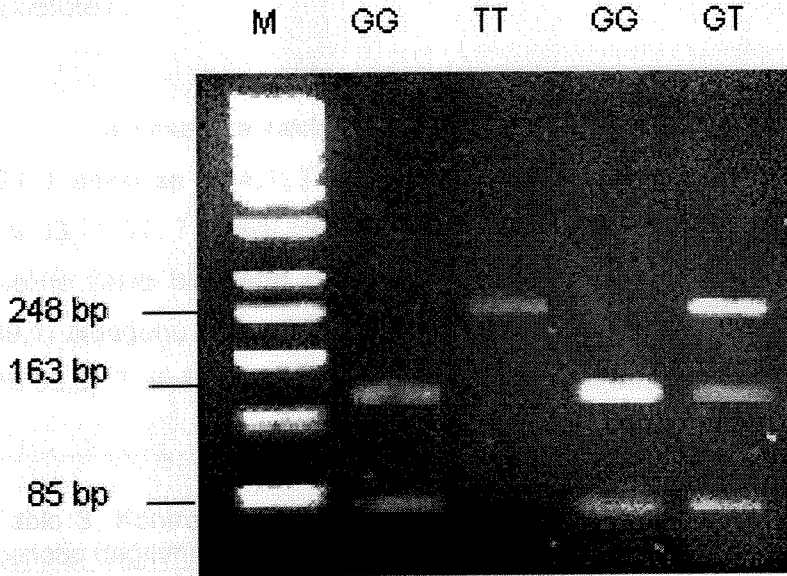
4) Polimorfizm çalışması ve nitrit/nitrat düzeyi ölçümü: Plazma nitrit, nitrat (NO_x konsantrasyonu) nitrat nitrite, nitrat redüktaz enzimi tarafından çevirildikten sonra nitrit olarak ölçülmüştür (SCHMIDT, 1992). Bu işlem için, her bir örnekten 50 ul plazma alınıp 25 ul 100 U/L nitrat redüktaz ve 25 ul 0.35 mmol/L NADH ile 30 dakika 37°C ' de inkübe edilmiştir. Ardından 50'şer uL Griess reaktifi 1 ve 2 eklenmiş, oda ısında 10 dakika inkübasyon sonrası absorbanslar 540 nm'de Diagnostics Pasteur (Anthos Labtec, Avusturya) ELISA cihazında okunmuştur (YOON, 2000). Plazma örneklerindeki nitratın nitrat redüktaz ile nitrite dönüşümü sonrasında $1 \mu\text{M/L}$ ile $100 \mu\text{M/L}$ arasında seyreltilerek hazırlanmış nitrat standartlar kullanılarak NO_x düzeyleri hesaplanmıştır.

Periferik kan örneklerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak elde edilen DNA'lardan eNOS spesifik oligonükleotid primerler kullanılarak, polimeraz zincirleme reaksiyonu (PCR) ile eNOS polimorfizmini içeren 248 bp'lik DNA parçası çoğaltılmıştır. Genotipleme için PCR ürünü 'de 4 saat 37°C 'de Ban II restriksiyon enzimi ile muamele edilmiş, agaroz jelde yürütülerek UV transilluminatörde değerlendirilmiştir (MCNAMARA, 2003).

İstatistiksel Analiz: Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SS) olarak ifade edilmiştir. Kontrol ve KAH'ına ait parametrelerin ikili karşılaştırmaları t testi kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası ve grup içindeki istatistiksel karşılaştırmalar İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik testi, Mann Whitney U testi, Ki-kare testi, Kruskal Wallis Varyans Analizi ve Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler kompüterize SPSS 10.0 programı (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc) kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Şekil 1 Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizminin kesim sonrası elde edilen jel elektroforez görüntüsünü göstermektedir. 894. pozisyonda G→T değişimi olan homozigot olgularda (TT) 248 baz çiftinde (bp) tek bant mevcuttur. Heterozigot olgularda (GT) 248 bp, 163 bp ve 85 bp'de üç bant görülür. Genetik polimorfizm göstermeyen olgularda ise (GG), 163 bp ve 85 bp'de iki bant görülür. Tablo 1 kontrol grubu ve KAH'larının demografik karakterlerini ve risk faktörlerinin gruplara göre dağılımını göstermektedir. Çalışmamıza dahil olan KAH'larının yaşları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksektir ($p=0,001$). Her iki grupta erkek denek sayısı kadınlara göre fazladır. Kontrol grubu ve KAH'ları arasında sigara, alkol kullanımı, diyabetes mellitus ve beden kitle indeksi (BKİ) açısından önemli bir fark bulunmazken, KAH'ları arasında hipertansifler ve aile öyküsü olanlar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde fazladır. Tablo 2 KAH ile kontrol grubu arasında total kolesterol, trigliserid, HDL ve LDL kolesterol, hematokrit (Hct) ve plazma nitrit/nitrat düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde farklar olmadığını göstermektedir. Çalışmaya dahil olan denekler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nın kontrolü altında olup düzeltilebilir kardiyovasküler risk faktörleri yönünden tıbbi tedavi almaktadırlar.



Şekil 1. Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizminin PCR analizi. GG (yollar 2,4), TT (yol 3), GT (yol 5), M (İşaretleyici-Marker-, yol 1).

Tablo 1. Kontrol grubu ve KAH'larının demografik karakterleri ve risk faktörlerinin gruplara göre dağılımı

	Kontrol	KAH	p
Yaş (yıl)	57,37 ± 12,17	62,36 ± 7,86	p=0,001*
Kadın/Erkek	31 / 41 (% 43,06 / 56,94)	21 / 62 (% 25,3 / 74,7)	p=0,026*
Sigara	17 (% 24,6)	30 (% 36,1)	p=0,159
Alkol	1 (% 1,4)	6 (% 7,2)	p=0,072
BKİ	26,54 ± 3,21	26,57 ± 2,82	p=0,940
Diyabetes mellitus	17 (% 24,6)	30 (% 36,1)	p=0,159
Hipertansiyon	29 (% 42)	50 (% 60,2)	p=0,034*
KAH aile öyküsü	2 (% 2,9)	12 (% 14,5)	p=0,022*

KAH: Koroner arter hastalığı, BKİ: Beden kitle indeksi

Tablo 2. Kontrol grubu ve KAH'larında risk faktörlerinin gruplara göre dağılımı

	Kontrol (ort ± SS)	KAH (ort ± SS)	p
Total Kolesterol (mg/dl)	182,55 ± 43,96	186,68 ± 44,62	p=0,675
Trigliserid (mg/dl)	135,32 ± 70,48	164,07 ± 92,23	p=0,283
HDL Kolesterol (mg/dl)	45,92 ± 14,04	42,46 ± 10,70	p=0,610
LDL Kolesterol (mg/dl)	109,61 ± 34,28	112,30 ± 37,10	p=0,943
Hematokrit (Hct %)	41,61 ± 4,76	41,20 ± 4,96	p=0,827
Nitrit/nitrat (NOx) konsantrasyonu (µM)	2,93 ± 1,15	2,97 ± 1,21	p=0,325

KAH: Koroner arter hastalığı, HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein.

Çalışmamıza katılan kontrol grubu bireylerin 50 tanesi (%67,5) GG, 21 tanesi (%28,4) GT 3 tanesi ise (% 4,1) TT genotipine sahiptir. KAH'larından 48 tanesi (%57,8) GG, 28 tanesi (% 33,7) GT, 7 tanesi (% 8,5) TT genotipine sahiptir (Tablo 3). Tablo 4 kontrol grubunda G aleline sahip bireylerin sayısının 121 (% 49,4), T aleline sahip bireylerin sayısının 27 (% 39,1) olduğunu göstermektedir. KAH'ları grubunda ise G aleline sahip bireylerin sayısı 124 (% 50,6), T aleline sahip bireylerin sayısı 42 (% 60,9) olarak bulunmuştur.

Tablo 3. Kontrol grubu ve KAH'larında endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp genotip dağılımı

	Kontrol	KAH
Normozigot (GG)	50 (% 67,5)	48 (% 57,8)
Heterozigot (GT)	21 (% 28,4)	28 (% 33,7)
Homozigot (TT)	3 (% 4,1)	7 (% 8,5)

Tablo 4. Kontrol grubu ve KAH'larında endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp aleli dağılımı

	Kontrol	KAH
G	121 (% 49,4)	124 (% 50,6)
T	27 (% 39,1)	42 (% 60,9)

Eritrosit şekil değiştirme yeteneği (deformabilite, EI) 0,30-30 Pa arasında 9 ayrı kayma kuvvetinde ölçülmüş ve ölçülen hiçbir kayma kuvvetinde kontrol grubu ve KAH'ları arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir fark saptanmamıştır. Tablo 5 0,95 Pa kayma kuvvetindeki EI değerlerini göstermektedir. KAH grubunda EI değerlerinin kontrole göre düşük olduğu görülmektedir ancak bu fark istatistiksel açıdan önemli düzeyde değildir. Her iki gruba ait deneklerin tam kan viskozitesi hem hastaların orijinal Hct değerlerinde, hem de Hct değerleri plazma eklenmesi/çıkarılması suretiyle standart Hct'e (%40) ayarlandıktan sonra 75-375 s⁻¹ arasında 3 farklı kayma hızında ölçülmüştür. Elde edilen sonuçların benzer olması sebebiyle 375 s⁻¹ kayma hızındaki veriler tablo 5'te gösterilmiştir. Hem otolog hem de standart Hct'te ölçülen tam kan viskozitesi, plazma viskozitesi, eritrosit agregasyonu yarı zamanı (t1/2) ve genliği (AMP) değerleri KAH'ları grubunda kontrole göre düşük saptanmıştır ancak bu farklar istatistiksel açıdan önemli düzeyde değildir. Benzer şekilde, eritrosit agregasyon indeksi (AI) KAH'ları grubunda kontrole göre yüksek olarak tespit edilmiştir, fark istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir.

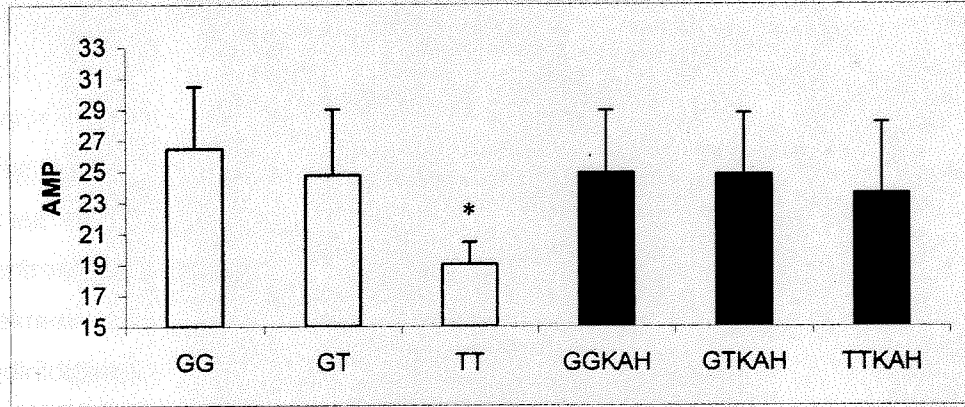
Tablo 5. Kontrol grubu ve KAH'larının hemoreolojik parametreleri

	Kontrol (ort ± SS)	KAH (ort ± SS)	p
EI (0,95 Pa)	0,165 ± 0,122	0,1489 ± 0,028	p=0,728
Otolog Hct'te TKV (375 s ⁻¹)	3,931 ± 0,510	3,894 ± 0,449	p=0,491
Standart Hct'te TKV (375 s ⁻¹)	3,838 ± 0,402	3,757 ± 0,334	p=0,331
Plazma viskozitesi (375 s ⁻¹)	1,594 ± 0,309	1,563 ± 0,291	p=0,623
Agregasyon indeksi (AI)	67,081 ± 7,733	70,154 ± 7,431	p=0,077
Agregasyon yarı zamanı (t1/2)	1,912 ± 0,818	1,623 ± 0,609	p=0,096
Agregasyon genliği (AMP)	25,911 ± 4,557	24,585 ± 4,156	p=0,325

EI: Elongasyon indeksi, Pa: Pascal, Hct: Hematokrit, TKV: Tam kan viskozitesi

Genotipe göre değerlendirildiğinde, TT genotipine sahip sağlıklı bireylerin eritrositlerinin agregasyon genliği (AMP) değerleri GG genotipine sahip sağlıklı bireylere göre

istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur (Şekil 2). Tablo 6 genotipe göre KAH'ları ve sağlıklı bireylerin grup içi ve gruplar arasında eritrosit deformabilitesi (0,95 Pa), otolog ve standart Hct'te ölçülen tam kan viskozitesi, plazma viskozitesi (375 s^{-1}), eritrosit agregasyon indeksi, agregasyon yarı zamanı ve plazma nitrit/nitrat (NOx) konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde farklı olmadıklarını göstermektedir.



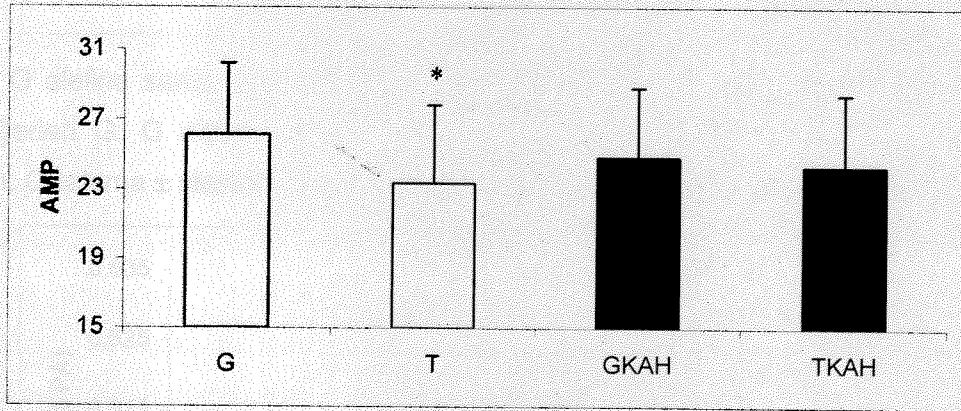
Şekil 2. Koroner arter hastaları (KAH) ve sağlıklı bireylerin genotipe göre eritrosit agregasyon genliği (AMP) değerleri GG: GG genotipine sahip sağlıklı bireyler, GT: GT genotipine sahip sağlıklı bireyler, TT: TT genotipine sahip sağlıklı bireyler, GGKAH: GG genotipine sahip koroner arter hastaları, GTKAH: GT genotipine sahip koroner arter hastaları, TTKAH: TT genotipine sahip koroner arter hastaları. Ortalama \pm standart sapma; *: GG grubundan fark, $p < 0,05$.

Tablo 6. Kontrol grubu ve KAH'larının endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizmi genotiplerine göre hemoreolojik parametreleri

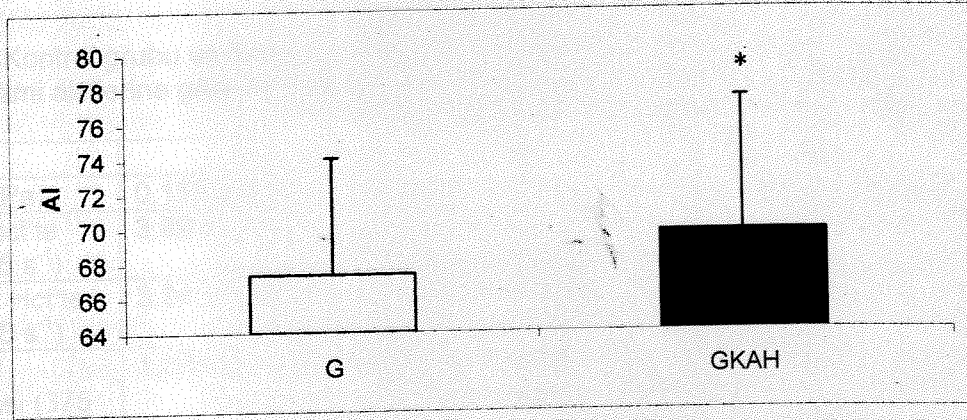
	GG	GT	TT	GGKAH	GTKAH	TTKAH
EI (0,95 Pa)	0,150 \pm 0,0289	0,179 \pm 0,172	0,147 \pm 0,054	0,152 \pm 0,0224	0,146 \pm 0,031	0,142 \pm 0,037
Otolog Hct'te TKV (375 s^{-1})	3,998 \pm 0,577	3,935 \pm 0,443	3,613 \pm 0,360	3,854 \pm 0,443	3,985 \pm 0,514	3,726 \pm 0,352
Standart Hct'te TKV (375 s^{-1})	3,821 \pm 0,346	3,921 \pm 0,537	3,687 \pm 0,245	3,772 \pm 0,385	3,816 \pm 0,380	3,624 \pm 0,408
Plazma viskozitesi (375 s^{-1})	1,603 \pm 0,299	1,521 \pm 0,240	1,520 \pm 0,114	1,560 \pm 0,292	1,544 \pm 0,234	1,491 \pm 0,155
Agregasyon indeksi (AI)	67,252 \pm 6,695	68,241 \pm 7,735	66,167 \pm 7,690	69,819 \pm 8,030	68,577 \pm 7,337	68,509 \pm 7,481
Agregasyon yarı zamanı (t1/2)	1,872 \pm 0,728	1,808 \pm 0,728	1,860 \pm 0,572	1,673 \pm 0,718	1,747 \pm 0,655	1,754 \pm 0,740
Nitrit/nitrat (NOx) konsantrasyonu (μM)	2,58 \pm 1,101	2,952 \pm 1,369	4,013 \pm 2,102	2,727 \pm 1,186	3,255 \pm 1,196	3,104 \pm 1,233

El: Elongasyon indeksi, Pa: Pascal, Hct: Hematokrit, TKV: Tam kan viskozitesi, GG: GG genotipine sahip sağlıklı bireyler, GT: GT genotipine sahip sağlıklı bireyler, TT: TT genotipine sahip sağlıklı bireyler, GKAH: GG genotipine sahip koroner arter hastaları, GKAH: GT genotipine sahip koroner arter hastaları, TKAH: TT genotipine sahip koroner arter hastaları. Ortalama \pm standart sapma.

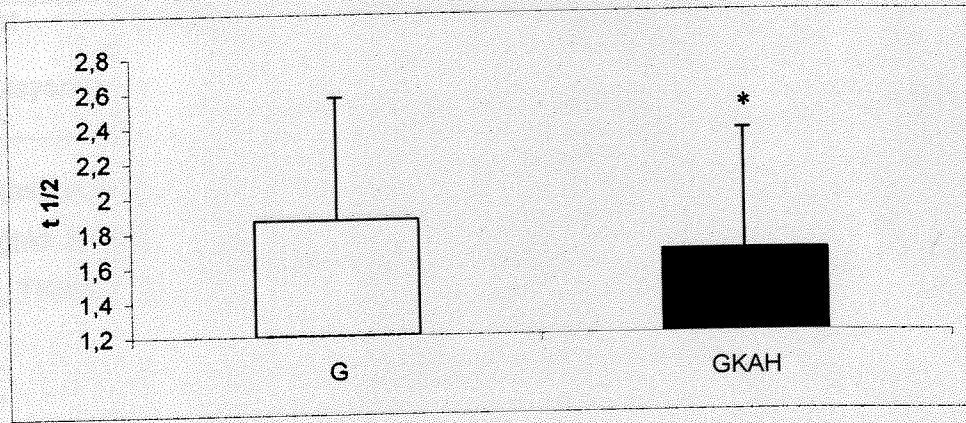
Alele göre değerlendirildiğinde, T aleline sahip sağlıklı bireylerin eritrositlerinin agregasyon genliği (AMP) değerleri G'ye göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur (Şekil 3). G aleline sahip KAH'larının eritrosit agregasyon indeksi değerleri aynı alele sahip sağlıklı bireylere göre yüksek ($p < 0,05$, Şekil 4), agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$) değerleri ise düşük ($p < 0,05$, Şekil 5) olarak tespit edilmiştir. Şekil 6, 30 Pa kayma kuvvetinde ölçülen eritrosit deformabilitesinin T aleline sahip KAH'larında kontrole göre yüksek olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Tablo 7 alele göre KAH'ları ve sağlıklı bireylerin grup içinde değerlendirildiğinde eritrosit deformabilitesi (0,95 Pa), otolog ve standart Hct'te ölçülen tam kan viskozitesi, plazma viskozitesi (375 s^{-1}), eritrosit agregasyon indeksi, agregasyon yarı zamanı ve plazma nitrit/nitrat (NO_x) konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde farklı olmadıklarını göstermektedir.



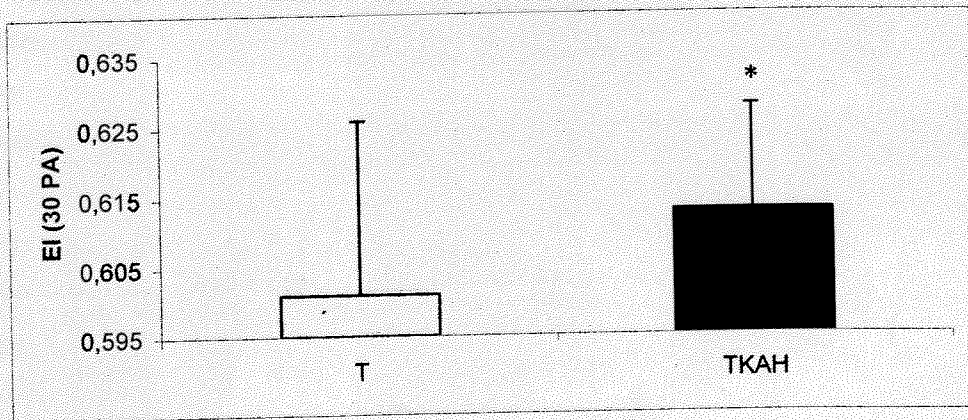
Şekil 3. Koroner arter hastaları (KAH) ve sağlıklı bireylerin alele göre ölçülen eritrosit agregasyon genliği (AMP) değerleri G: G aleline sahip sağlıklı bireyler, T: T aleline sahip sağlıklı bireyler, GKAH: G aleline sahip koroner arter hastaları, TKAH: T aleline sahip koroner arter hastaları. Ortalama \pm standart sapma; *: G grubundan fark, $p < 0,01$.



Şekil 4. G aleline sahip sağlıklı bireyler ve KAH'larının eritrosit agregasyon indeksi (AI) değerleri G: G aleline sahip sağlıklı bireyler, GKAH: G aleline sahip koroner arter hastaları. Ortalama \pm standart sapma; *:G grubundan fark, $p < 0,05$.



Şekil 5. G aleline sahip sağlıklı bireyler ve KAH'larının eritrosit agregasyon yarı zamanı (t 1/2) değerleri G: G aleline sahip sağlıklı bireyler, GKAH: G aleline sahip koroner arter hastaları. Ortalama \pm standart sapma; *:G grubundan fark, $p < 0,05$.



Şekil 6. T aleline sahip sağlıklı bireyler ve KAH'larının 30 Pa kayma kuvveti altında ölçülen eritrosit elongasyon indeksi (EI) değerleri değerleri T: T aleline sahip sağlıklı bireyler, TKAH: T aleline sahip koroner arter hastaları. Ortalama \pm standart sapma; *:T grubundan fark, $p < 0,05$.

Tablo 7. Kontrol grubu ve KAH'larının endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu(298)Asp gen polimorfizmi alellerine göre hemoreolojik parametreleri

	G	T	GKAH	TKAH
EI (0,95 Pa)	0,155 ± 0,077	0,170 ± 0,15	0,150 ± 0,0242	0,144 ± 0,032
Otolog Hct'te TKV (375 s ⁻¹)	3,99 ± 0,551	3,86 ± 0,434	3,88 ± 0,46	3,887 ± 0,468
Standart Hct'te TKV (375 s ⁻¹)	3,84 ± 0,384	3,86 ± 0,487	3,78 ± 0,38	3,743 ± 0,391
Plazma viskozitesi (375 s ⁻¹)	1,588 ± 0,083	1,52 ± 0,0452	1,56 ± 0,28	1,524 ± 0,205
Agregasyon indeksi (AI)	67,430 ± 6,834	67,71 ± 7,46	69,56 ± 7,84	68,551 ± 7,179
Agregasyon yarı zamanı (t1/2)	1,86 ± 0,72	1,82 ± 0,672	1,69 ± 0,70	1,750 ± 0,666
Nitrit/nitrat (NO _x) konsantrasyonu (µM)	2,596 ± 1,07	3,06 ± 1,49	2,86 ± 1,25	3,308 ± 1,217

EI: Elongasyon indeksi, Pa: Pascal, Hct: Hematokrit, TKV: Tam kan viskozitesi, G: G aleline sahip sağlıklı bireyler, T: T aleline sahip sağlıklı bireyler, GKAH: G aleline sahip koroner arter hastaları, TKAH: T aleline sahip koroner arter hastaları. Ortalama ± standart sapma.

TARTIŞMA/SONUÇ

Bu çalışmada, KAH olan bireylerde endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) geninin 894. pozisyonundaki Guanin bazının Timin bazı (Glu298Asp) ile yer değiştirmesinden kaynaklanan eNOS polimorfizmi ile plazma NO düzeyinin göstergesi olan nitrit, nitrat (NO_x konsantrasyonu) ve hemoreolojik parametreler (eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu, tam kan ve plazma viskozitesi, Hct) arasındaki ilişki incelenmiş ve sağlıklı bireylerle karşılaştırılmıştır. Kardiyovasküler patolojiler açısından artmış risk altında olan TT genotipine ve alele göre değerlendirildiğinde, T aleline sahip sağlıklı bireylerin eritrositlerinin agregasyon genliği (AMP) değerleri GG genotipine ve G aleline sahip sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur. G aleline sahip KAH'larının eritrosit agregasyon indeksi değerleri aynı alele sahip sağlıklı bireylere göre yüksek, agregasyon yarı zamanı (t ½) değerleri ise düşük olarak tespit edilmiştir. 30 Pa kayma kuvvetinde ölçülen eritrosit deformabilitesi T aleline sahip KAH'larında sağlıklı bireylere göre yüksek olarak bulunmuştur.

Çalışmaya katılan sağlıklı bireyler ve KAH'ları arasında sadece yaş, cinsiyet, hipertansiyon varlığı ve KAH aile öyküsü açısından fark vardır. KAH'larının yaşları kontrol grubuna göre yüksek ve her iki grupta erkek denek sayısı kadınlara göre fazladır. KAH'ları arasında hipertansifler ve aile öyküsü olanlar kontrol grubuna göre fazladır. Kontrol grubu ve KAH'ları arasında sigara, alkol kullanımı, diyabetes mellitus, Bkl, total kolesterol, trigliserid, HDL ve LDL kolesterol, Hct ve plazma nitrit/nitrat düzeyleri açısından fark olmaması hemoreolojik parametrelerde gözlenen değişikliklerde, deneklerin yukarıda sayılan özelliklerinin etkilerinin ekarte edilmesi açısından önemlidir.

Çalışmamıza katılan kontrol grubu bireylerin 50 tanesi (%67,5) GG, 21 tanesi (%28,4) GT 3 tanesi ise (% 4,1) TT genotipine sahiptir. KAH'larından 48 tanesi (%57,8) GG, 28 tanesi (% 33,7) GT, 7 tanesi (% 8,5) TT genotipine sahiptir. Alele göre değerlendirildiğinde, kontrol grubunda G aleline sahip bireylerin sayısı 121 (% 49,4), T aleline sahip bireylerin sayısı 27 (% 39,1) 'dir. KAH'ları grubunda ise G aleline sahip bireylerin sayısı 124 (% 50,6), T aleline sahip bireylerin sayısı 42 (% 60,9) olarak bulunmuştur. Liakopoulos ve ark kardiyak operasyon geçiren 105 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, 894G/T polimorfizmi için genotip dağılımını %41 GG, %52,4 GT, %6,6 TT şeklinde bulmuşlardır (LIAKOPOULOS, 2006). Jaramillo ve ark Şili popülasyonunda yaptıkları çalışmalarında, TT genotipine sahip olma oranının KAH'larında 7%, kontrol grubunda ise 1% olduğunu göstermişlerdir (JARAMILLO, 2006). Kerkeni ve ark eNOS GG, GT, TT genotiplerinin dağılım frekanslarını KAH'ları için sırasıyla %45, %44, %11 ve sağlıklı bireylerde sırasıyla %60, %35,8, %4.2 olarak bulmuşlardır (KERKENI, 2006). Bizim çalışmamızın bulguları literatürden alınan diğer popülasyonlara ait verilerle benzerdir.

Bu çalışmada NO_x düzeyleri açısından kontrol ve KAH grupları arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde fark bulunamamıştır. Afrasyap ve Öztürk de sağlıklı bireyler ile KAH'ları arasında Türk popülasyonunda NO_x düzeyi açısından fark bulunamamışlardır (AFRASYAP, 2004). Yoon ve arkadaşlarının çalışmasında ise ortalama plazma NO_x düzeyi hipertansiyonlu KAH grubunda hipertansiyonsuz KAH ve kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (YOON, 2000). Bu yükselmeye, hipertansif vakalarda NO_x seviyesini düzenleyen mekanizmalar rol oynuyor olabilirler. Çalışmamızda alele göre değerlendirildiğinde G aleline sahip KAH'ları ile T aleline sahip KAH'larının NO_x düzeyleri arasında fark saptanmış olmasına rağmen bu değişim istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir (p=0,058). Genotipe ve alele göre yapılan diğer karşılaştırmalarda da NO_x düzeyleri ile Glu298Asp polimorfizmi arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir ilişki bulunamamıştır. Benzer şekilde, Jeerooburkhan ve arkadaşları da Glu298Asp polimorfizmi

ile NO_x düzeyleri arasında ilişki gösterememişlerdir (JEEROOBURKHAN, 2001). Endojen NO sentezini plazma NO_x düzeyi gösterse de diyetle alınan nitratin da bu plazma havuzuna anlamlı düzeyde katkısı vardır (WANG J, 1997). Ayrıca nitrit/nitratin büyük bir bölümü idrarla olmak üzere dışkı yoluyla da vücuttan atılmaktadır (WANG CF, 1981). Dolayısıyla atılımındaki bir bozukluk da ölçülen plazma NO_x düzeylerini etkileyebilecektir. Tüm bu faktörler NO_x düzeylerinin Glu298Asp polimorfizmi ile ilişkisinin incelendiği çalışmalarda anlamlı ilişkiler bulunamamasına sebep olabilir. KAH, etyolojisinde birbiri ile ilişkili bir çok etmenin rol oynadığı, yaygınlığı toplumlar arasında farklılık gösteren bir hastalıktır. Benzer şekilde Glu298Asp polimorfizmi de farklı etnik gruplarda değişen sıklıkta bulunmaktadır. Bu yüzden her ülkenin çok merkezli çalışmalar düzenleyerek kendi bireylerinden oluşturduğu gen havuzunda bu polimorfizmin KAH ile ilişkisini incelemesi gerekir. Ayrıca plazma NO_x düzeylerinin birçok farklı patoloji ile ilişkili olmasından dolayı genotip ile NO_x düzeyi ilişkisini inceleyen çalışmalarda birlikte bulunan diğer patolojilerin etkisiyle NO seviyesini düzenleyen mekanizmalarda değişiklik olabilir ve polimorfizmin gerçek etkisi maskelenebilir. Bundan dolayı Glu298Asp polimorfizminin NO_x düzeyleri ile olan ilişkisinin genotipleri hariç her yönüyle eşitlenmiş deneysel yaklaşımlar ile incelenmesi daha uygun olacaktır.

Şekil değiştirebilme (deformabilite) yetenekleri eritrositlerin dolaşımdaki fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için şarttır. Penco ve ark akut miyokard enfarktüsü (AMI) geçirmiş KAH'larında filtrasyon yöntemiyle ölçtükleri eritrosit deformabilitesinin azalmış olduğunu göstermişlerdir (PENCO, 2000). Öte yandan, 40 denek üzerinde yapılmış bir çalışmada, kardiyak kateterizasyon sonucu ileri derecede KAH'lığı olduğu tespit edilmiş hastalarla hafif KAH'lığına sahip veya sağlıklı olduğu gösterilmiş olan bireyler arasında filtrasyon yöntemiyle tespit edilmiş eritrosit deformabilitesi arasında fark olmadığı gösterilmiştir (LOW, 1985). Dijital mikroskopik inceleme yöntemiyle, eritrosit elongasyonunun eritrosit deformabilitesindeki değişimin bir göstergesi olarak ölçüldüğü bir başka çalışmada da sağlıklı bireylerle KAH'ları arasında eritrosit deformabilitesi açısından bir fark olmadığı tespit edilmiştir (ALEXANDRATOU, 1999). Bizim çalışmamızda kullanılan ektasitometre (LORCA) eritrosit deformabilitesi ve agregasyonunu ölçmek için tercih edilen, güvenilir bir cihazdır (HARDEMAN, 1994; HARDEMAN, 2001). Bizim bulgularımıza göre de KAH'larının eritrosit deformabilitesi değerleri sağlıklı bireylere göre daha düşüktür, ancak bu fark istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir.

Kardiyovasküler hastalıklarda tam kan ve plazma viskozitesindeki değişimler de yaygın olarak çalışılmıştır. İskemik kalp hastalığına sahip ve anjina pektoris olan bireyler üzerinde yapılan iki ayrı çalışmada orijinal ve standart Hct'te ölçülen tam kan ve plazma viskozitesinin

sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu gösterilmiştir (LARSSON, 1988, KESMARKY, 1998). Lowe ve ark 30-55 yaş arasında 50 erkek denek üzerinde yaptıkları çalışmada, şiddetli KAH'lığı olan deneklerde orijinal Hct'te ölçülen tam kan viskozitesinin hafif derecede KAH'lığı olanlara ve sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu, bu artışın kısmen artmış Hct'e kısmen de artmış plazma fibrinojen konsantrasyonuna bağlı olduğunu; plazma viskozitesinin ise istatistiksel olarak önemli düzeyde değişmediğini göstermişlerdir (LOWE, 1980). Bizim çalışmamızda da, orijinal ve standart (40) Hct'te ölçülen tam kan ve plazma viskozitesindeki kontrole göre değişimler istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır.

Eritrosit agregasyonu komşu eritrositlerin geri dönüşümlü adezyonudur. Trombosit agregasyonunun aksine hidrodinamik kuvvetler küçüldüğünde, eritrositler dolaşımında spontan olarak agregate olurlar. Eritrositlerin agregasyon derecesi doku perfüzyonu açısından önemlidir. Eritrosit agregatları büyük damarlarda kanın akışkanlığını, mikrodolaşım düzeyinde de kapillerlerden geçişi etkiler (CHIEN, 1975). Boss KAH'nın ortaya çıkarılmasında eritrosit agregasyonu ölçümünün yararlı bir metod olabileceği ileri sürmüştür (BOSS, 1980). Literatürde KAH'larında eritrosit agregasyonunun sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu gösteren, eritrosit agregasyonu ölçümünde farklı metodlar kullanılmış (Myrenne aggregometresi, lazer reflektometre) çalışmalar mevcuttur (WENG, 1999; PFAFFEROTT, 1999; RAINER, 1987). Bizim çalışmamızda agregasyon indeksi (AI) KAH'larında kontrol grubuna göre yüksek, agregasyon kinetiğinin bir göstergesi olan agregasyon yarı zamanı ($t_{1/2}$) ise düşük bulunmuştur, ancak farklar istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir. AI'deki artış ile $t_{1/2}$ 'deki azalma birbiri ile uyumlu olup, iki parametre de agregasyon eğiliminde artışı ifade etmektedir. Agregasyon genliği (AMP) KAH'larında kontrole göre hafif derecede düşük bulunmuştur, ancak fark yine istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir.

Çalışmamızın verileri alele göre değerlendirildiğinde, G aleline sahip KAH'larının AI'leri aynı alele sahip sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek (Şekil 4), $t_{1/2}$ 'leri ise düşük (Şekil 5) bulunmuştur. Bu bulgular, yukarıda bahsedilen çalışmaların verileri ile uyumlu olup KAH'lığı gelişimi sürecinde organizmada meydana gelen değişimlerin eritrosit agregasyonunda artışa yol açıyor olabileceğini işaret etmektedir. Plazma fibrinojen konsantrasyonundaki değişimler eritrosit agregasyonu üzerinde çok önemli rol oynar (RAMPLING, 1988). Bu çalışmada plazma fibrinojen konsantrasyonundaki değişimlerin incelenmemiş olmasına karşın, literatürde KAH'larının plazma fibrinojen konsantrasyonlarının sağlıklı bireylere göre yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (RAINER, 1987; KESMARKY, 1998; MONTALESCOT, 1998). KAH'lığı gelişimi sürecinde plazma fibrinojen

konsantrasyonundaki yükselme eritrosit agregasyonundaki artışa sebep olabilir. Eritrosit agregasyonundaki artış KAH'larında doku oksijenizasyonu üzerine ek bir yüke sebep olacaktır. Eritrosit agregasyonunun bir diğer önemli belirleyicisi Hct değeridir (RAMPLING, 1988). KAH'larının Hct'lerinin sağlıklı bireylere göre yüksek olduğu gösterilmiştir (RAINER, 1987; KESMARKY, 1998). Ancak bizim çalışmamızda Hct standardize (% 40) edildikten sonra eritrosit agregasyonu ölçüldüğü için agregasyonda gözlenen değişimde Hct'in etkisi ekarte edilmiştir.

G aleline sahip bireylerle aynı aleli taşıyan KAH'ları arasında A1 ve t1/2'de gözlenen değişiklikler T aleline sahip bireylerle aynı aleli taşıyan KAH'ları arasında bulunamamıştır. Toplumda TT genotipine sahip bireylerin sayısının çok az olması TT genotipi ve T aleli ile ilgili verilerde istatistiksel analiz yapılmasını ve sonuçların yorumlanmasını zorlaştırmaktadır. Bununla beraber, genotipe göre değerlendirildiğinde TT genotipine (Şekil 2) ve alele göre değerlendirildiğinde T aleline (Şekil 3) sahip sağlıklı bireylerin eritrosit agregasyon genlikleri (AMP) GG ve G taşıyan sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Bu durum genetik olarak yüksek kardiyovasküler risk altında bulunan TT genotipi ve T aleline sahip bireylerin doku oksijenasyonlarını kolaylaştırmaya yönelik kompanseuar bir mekanizma sonucu olabilir. Sağlıklı bireylerin AMP'lerinde görülen bu fark, birey hastalandığı zaman ortadan kalkmaktadır. TT genotipine sahip denek sayısının azlığı bu konuda daha ileri tartışmalara gidilmesini engellemektedir. Benzer şekilde, T aleline sahip KAH'larının 30 Pa kayma kuvvetinde ölçülen eritrosit şekil değiştirme yetenekleri (deformabilite) aynı aleli taşıyan sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu değişim de koruyucu bir kompanseuar mekanizma sonucu olabilir. Ancak, 30 Pa çok yüksek bir kayma kuvveti olup, bu kayma kuvvetindeki değişimlerin fizyolojik önemi fazla değildir.

Bu çalışmanın verileri, KAH'lığı gelişimi sürecinde organizmada meydana gelen değişimlerin eritrosit agregasyonunda artışa yol açıyor olabileceğini, dolayısıyla eritrosit agregasyonunda gözlenen değişimlerin sebep olmaktan çok KAH'lığının bir sonucu olabileceğini göstermektedir. Ek olarak, KAH'lığı açısından yüksek risk altında bulunan TT genotipine sahip sağlıklı bireylerin eritrosit agregasyonlarının risk altında olmayan GG genotipine sahip bireylere göre düşük olması genetik açıdan riskli sağlıklı bireylerde kompanseuar bazı mekanizmaların dolaşımın düzenlenmesine katkıda bulunuyor olabileceğini düşündürmektedir. KAH gelişimi sürecinde bu kompanseuarın ortadan kalkması eritrosit agregasyonunun artmasına sebep olarak dolaşımın daha fazla bozulmasına sebep olabilir. eNOS geninin Glu(298)Asp dışında başka polimorfizmleri (T-

786C, eNOS4B/B vb) de vardır. Çalışmanın bu polimorfizmleri de içerecek şekilde genişletilmesi daha detaylı bilgiler vermesine sebep olabilecektir. Ek olarak, TT genotipine sahip bireylerin sayısını arttırmak amacıyla denek sayısı artırılarak çalışma genişletilebilir.

REFERANSLAR

AFRASYAP L., Öztürk G., NO level and endothelial NO synthase gene polymorphism (Glu298Asp) in the patients with coronary artery disease from the Turkish population, *Acta Biochim Biophysica Sinica*, 36, 661-666, (2004).

ALDERTON W.K., Cooper C.E., Knowles R.G., Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition, *Biochem. J*, 357, 593-615, (2001).

ALEXANDRATOU E., Yova D., Cokkinos D.V., Morphometric characteristics of red blood cells as diagnostic factors for coronary artery disease, *Clin Hemorheol Microcirc.*, 21, 383-8, (1999).

ALEXY T., Pais E., Wenby R.B., Hogenauer W., Toth K., Meiselman H.J. ve ark., Measurement of whole blood viscosity profiles via an automated viscometer: technical details and clinical relevance, *Clin. Lab.*, 51, 523-9, (2005).

BECKER R.C., The role of blood viscosity in the development and progression of coronary artery disease, *Cleve. Clin. J. Med.*, 60, 353-8, (1993).

BERDELI A., Sekuri C., Cam S.F., Ercan E., Sagcan A., Tengiz I. ve ark., Association between the eNOS (Glu298Asp) and the RAS genes polymorphisms and premature coronary artery disease in a Turkish population, *Clin. Chim. Acta.*, 351, 87-94, (2005).

BHAGAT K., Vallance P., Nitric oxide 9 years on, *J R Soc Med*, 89, 667-73, (1996).

BOGAR L., Juricskay I., Kesmarky G., Feher G., Kenyeres P., Toth K., Gender differences in hemorheological parameters of coronary artery disease patients, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 35, 99-103, (2006).

- BOR-KUCUKATAY M., Turgut S., Emmungil G., Turgut G., Kucukatay V., Increased deformability of red blood cells is associated with a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene, *Tohoku J. Ex.p Med.*, 208, 147-55, (2006).
- BOR-KUCUKATAY M., Wenby R. B., Meiselman H. J., Baskurt O. K., Effects of nitric oxide on red blood cell deformability, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol*, 284: H157715-84, (2003).
- BOR-KUCUKATAY M., Yalcin O., Gokalp O., Kipmen-Korgun D., Yesilkaya A., Baykal A., Ispir M., Senturk U.K., Kaputlu I., Baskurt O.K., Red blood cell rheological alterations in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis in rats, *Clin Hemorheol Microcirc*, 22, 267-75, (2000).
- BOSS N., Wietelmann H., Bierner M., Rudolph W., Schlepper M., Koenig-Erich S. ve ark., Red blood cell aggregation in men with coronary artery disease, *Eur. J. Cardiol.*, 12, 47-54, (1980).
- BUIKEMA H., Pinto Y.M., Rooks G., Grandjean J.G., Schunkert H., Van Gilst W.H., The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is related to phenotypic differences in human arteries, *Eur. Heart J.*, 17, 787-94, (1996).
- CAM S.F., Sekuri C., Tengiz I., Ercan E., Sagcan A., Akin M. ve ark., The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature coronary artery disease in a Turkish population, *Thromb. Res.*, 116, 287-92, (2005).
- CHIEN, S., Biophysical Behavior Of Red Cell In Suspensions, *The Red Blood Cell*, ed: Surgenor D.M., Academic Press, New York, (1975). Pp. 1031.
- COLOMBO M.G., Paradossi U., Andreassi M.G., Botto N., Manfredi S., Masetti S. ve ark., Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease, *Clin. Chem.*, 49, 389-95, (2003).
- DE BACKER T.L., De Buyzere M., Segers P., Carlier S., De Sutter J., Van de Wiele C. ve ark., The role of whole blood viscosity in premature coronary artery disease in women, *Atherosclerosis.*, 165, 367-73, (2002).

ERBS S., Baither Y., Linke A., Adams V., Shu Y., Lenk K. ve ark., Promoter but not exon 7 polymorphism of endothelial nitric oxide synthase affects training-induced correction of endothelial dysfunction, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23, 1814-9, (2003).

HARDEMAN M.R., Dobbe J.G, Ince C. The Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 25, 1-11, (2001).

HARDEMAN M.R., Goedhart P.T., Dobbe J.G.G., Lettinga, K.P., Laser assisted optical rotational cell analyzer (LORCA): A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters, *Clin. Hemorheol.*, 14, 605-18, (1994).

IMAMURA A., Okumura K., Matsui H., Mizuno T., Ogawa Y., Imai H. ve ark., Endothelial nitric oxide synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are associated with endothelial dysfunction in young, healthy men, *Can. J. Cardiol.*, 20, 1229-34, (2004).

JARAMILLO P.C., Munoz M.A., Lanas M.C., Lanas Z.F., Salazar L.A., Endothelial nitric oxide synthase G894T gene polymorphism in Chilean subjects with coronary artery disease and controls, *Clin Chim Acta.*, 371, 102-6, (2006).

JEEROOBURKHAN N., Jones L.C., Bujac S., Cooper J.A., Miller G.J., Vallance P., Humphrie S.E., Hingorani A.D., Genetic and environmental determinants of plasma nitrogen oxides and risk of ischemic heart disease, *Hypertension*, 38, 1054-61, (2001).

JIA C., Liu T., Liu Z., Li M., Hu M., Joint effects of eNOS gene T-786C and ADH2 Arg47His polymorphisms on the risk of premature coronary artery disease, *Thromb. Res.*, 120, 679-84, (2007).

KERKENI M., Addad F., .Chauffert M., Myara. A, Ben Farhat M., Miled A. ve ark., Hyperhomocysteinemia, endothelial nitric oxide synthase polymorphism, and risk of coronary artery disease, *Clin. Chem.*, 52, 53-8, (2006).

KESMARKY G., Toth K., Habon L., Vajda G., Juricskay I., Hemorheological parameters in coronary artery disease, *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 18, 245-51, (1998).

KIM I.J., Bae J., Lim S.W., Cha D.H., Cho H.J., Kim S. ve ark., Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (-786T>C, 4a4b, 894G>T) in Korean patients with coronary artery disease, *Thromb. Res.*, 119, 579-85, (2007).

KORBUT R., Gryglewski R.J., The effect of prostacyclin and nitric oxide on deformability of red blood cells in septic shock in rats, *J Physiol Pharmacol*, 47, 591-9, (1996).

LARSSON H., Gustavsson C.G., Odeberg H., Persson S., Increased whole blood and plasma viscosity in patients with angina pectoris and "normal" coronary arteries, *Acta Med Scand.*, 224, 109-14, (1988).

LAUER T., Kleinbongard P., Kelm M., Indexes of NO bioavailability in human blood, *News Physiol Sci*, 17, 251-5, (2002).

LIAKOPOULOS O.J., Dorge H., Popov A.F., Schmitto J.D., Cattaruzza M., Schoendube F.A., Influence of eNOS gene polymorphisms (894G/T-786/T) on postoperative hemodynamics after cardiac surgery, *Thorac Cardiovasc Surg.*, 54, 233-8, (2006).

LLOYD-JONES D.M., Bloch K.D., The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis, *Annu Rev Med*, 47, 365-75, (1996).

LOW J., Dodds A.J., McGrath M., Biggs J.C., Red cell deformability and other haemorheological variables in stable coronary artery disease, *Thromb Res.*, 38, 269-76, (1985).

LOWE G.D., Drummond M.M., Lorimer A.R., Hutton I., Forbes C.D., Prentice C.R. ve ark., Relation between extent of coronary artery disease and blood viscosity, *Br. Med. J.*, 280, 673-4, (1980).

MADAMANCHI N.R., Tchivilev I., Runge M., Genetic markers of oxidative stress and coronary atherosclerosis, *Curr. Atheroscler. Rep.*, 8, 177-83, (2006).

MARES M., Bertolo C., Terribile V., Girolami A., Hemorheological study in patients with coronary artery disease, *Cardiology.*, 78, 111-6, (1991).

MARSDEN P.A., Heng H.H., Scherer S.W., Stewart R.J., Hall A.V., Shi X.M., Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene, *J. Biol. Chem.*, 268, 17478-88, (1993).

MATEO A.O., de Artinano M.A., Nitric oxide reactivity and mechanisms involved in its biological effects, *Pharmacol Res.*, 42, 421-7, (2000).

MCGOVERN P.G., Pankow J.S., Shahar E., Doliszny K.M., Folsom A.R., Blackburn H. ve ark., Recent trends in acute coronary heart disease--mortality, morbidity, medical care, and risk factors, The Minnesota Heart Survey Investigators, *N. Engl. J. Med.*, 334, 884-90, (1996).

MCNAMARA D.M., Holubkov R., Postava L., Ramani R., Janosko K., Mathier M., MacGowan G.A., Murali S., Feldman A.M., London B., Effect of the Asp298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure, *Circulation.*, 107, 1598-1602, (2003).

MEADE T.W., Fibrinogen in ischaemic heart disease, *Eur. Heart J.*, Suppl A: 31-4, discussion 34-35, (1995).

MONTALESCOT G., Collet J.P., Choussat R., Thomas D., Fibrinogen as a risk factor for coronary heart disease, *Eur. Heart J.*, 19 Suppl H, H11-7, (1998).

NAGIB EL-KILANY G.E., Nayel E., Hazzaa S., Nitric oxide synthase gene G298 allele. Is it a marker for microvascular angina in hypertensive patients?, *Cardiovasc. Radiat. Med.*, 5, 113-8, (2004).

NAVA E., Noll G., Luscher T.F., Nitric oxide in cardiovascular diseases, *Ann. Med.*, 27, 343-51, (1995).

ONAT, A., Oniki yıllık izleme deneyimine göre, Türk erişkinlerinde kalp sağlığı, ed: ONAT, A., Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret A.Ş., İstanbul, (2003). Pp: 16-23.

PATEL R.P., Biochemical aspects of the reaction of hemoglobin and NO: implications for Hb-based blood substitutes, *Free Radic Biol Med*, 28, 1518-25, (2000).

PENCO M., Romano S., Dagianti A. Jr., Tozzi-Ciancarelli M.G., Dagianti A., Modifications of whole blood filterability during acute myocardial infarction, *Clin Hemorheol Microcirc.*, 22, 153-9, (2000).

PFAFFEROTT C., Moessmer G., Ehrly A.M., Bauersachs R.M., Involvement of erythrocyte aggregation and erythrocyte resistance to flow in acute coronary syndromes, *Clin Hemorheol Microcirc.*, 21, 35-43, (1999).

PRASAD A., Narayanan S., Waclawiw M.A., Epstein N., Quyyumi, A.A., The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene determines coronary vascular tone and nitric oxide activity, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 36, 1579-86, (2000).

QUYYUMI A.A., Dakak N., Andrews N.P., Husain S., Arora S., Gilligan D.M. ve ark., Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis, *J. Clin. Invest*, 95, 1747-55, (1995).

RAINER C., Kawanishi D.T., Chandraratna P.A., Bauersachs R.M., Reid C.L., Rahimtoola S.H. ve ark., Changes in blood rheology in patients with stable angina pectoris as a result of coronary artery disease, *Circulation.*, 76, 15-20, (1987).

RAMPLING, M.W., Red cell aggregation and yield stress, *Clinical Blood Rheology*, ed: Lowe G.D.O., Boca Raton, FL: CRC Press, (1988). Pp: 45-64.

RIOS D.L., Callegari-Jacques S.M., Hutz M.H., Endothelial nitric oxide synthase and fractalkine chemokine receptor polymorphisms on angiographically assessed coronary atherosclerosis, *Clin. Chim. Acta.*, 362, 138-46, (2005).

ROSAMOND, W., Flegal K., Friday G., ve ark., Heart Disease and Stroke Statistics—2007 Update. A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee, *Circulation*, 115, e69-171, (2007).

ROSSI G.P., Cesari M., Zanchetta M., Colonna S., Maiolino G., Pedon L. ve ark., The T-786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study, *J Am. Coll. Cardiol.*, 41, 930-7, (2003).

SCHMIDT H.H., Warner T.D., Nakane M., Forstermann U., Murad F., Regulation and subcellular location of nitrogen oxide synthases in RAW264.7 macrophages, *Mol. Pharmacol.*, 41, 615-24, (1992).

SILVERI N.G., Mazzone M., Portale G., Carbone I., Nitric oxide A general review about the different roles of this innocent radical, *Minerva Med.*, 92, 167-71, (2001).

SRIVASTAVA K., Biswas U.K., Narang R., Varghese J.J., Das N., Prevalence of eNOS Glu298Asp polymorphism in healthy volunteers from a region of Northern India, *Community Genet.*, 8, 180-3, (2005).

TANGUREK B., Ozer N., Sayar N., Terzi S., Yilmaz H., Dayi S.U. ve ark., The relationship between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (T-786 C) and coronary artery disease in the Turkish population, *Heart Vessels.*, 21, 285-90, (2006).

VALLANCE P., Hingorani A., Endothelial nitric oxide in humans in health and disease, *Int J Exp Path.*, 80, 291-303, (1999).

WANG C.F., Cassens R.G., Hoekstra W.G., Fate of ingested ¹⁵N-labelled nitrate and nitrite in the rat, *J Food Sci.*, 46, 745-48, (1981).

WANG J., Brown M.A., Tam S.H., Chan M.C., Whitworth J.A., Effects of diet on measurement of nitric oxide metabolites, *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 24, 418-20, (1997).

WENG X., Cloutier G., Genest J., Jr., Contribution of the -455G/A polymorphism at the beta-fibrinogen gene to erythrocyte aggregation in patients with coronary artery disease, *Thromb. Haemost.*, 82, 1406-11, (1999).

YOON Y., Song J., Hong S.H., Kim J.Q., Plasma Nitric Oxide Concentrations and Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms in Coronary Artery Disease, *Clin. Chem.*, 46, 1626-30, (2000).

**TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje No: 107S130 (SBAG-HD-225)

Proje Başlığı: Kroner arter hastalığı olan bireylerde endotelial nitrik oksit sentaz (Glu298Asp) gen polimorfizmi ile hemoreolojik parametreler arasındaki ilişkinin araştırılması

Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Doç. Dr. Z. Melek (BOR) KÜÇÜKATAY
Doç. Dr. Süleyman DEMİR
Arş.Gör. Dr. Ramazan AKBAY
Doç. Dr. Dursun DURSUNOĞLU
Prof. Dr. Ender SEMİZ

Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Pamukkale Üniversitesi

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji-
Biyokimya-Kardiyoloji AD'ları Kınıklı 20070 DENİZLİ

Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: Yok

Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: Başlangıç Tarihi: 01/09/2007

Bitiş Tarihi: 01/09/2008

Öz (en çok 70 kelime)

Koroner arter hastalarında (KAH) eNOS Glu(298)Asp gen polimorfizmi ile hemoreolojik parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. T aleline sahip sağlıklı bireylerin eritrositlerinin agregasyon genliği G aleline sahip sağlıklı bireylerden düşüktür. G aleline sahip KAH'larının agregasyon indeksleri aynı alele sahip sağlıklı bireylere göre yüksek, agregasyon yarı zamanları düşüktür. Eritrosit agregasyonunda gözlenen değişimler KAH'lığının sonucu gibi görünmektedir. Genetik açıdan riskli sağlıklı bireylerdeki kompanzatuvar mekanizmalar eritrosit agregasyonunu azaltmak suretiyle dolaşımın düzenlenmesine katkıda bulunuyor olabilirler.

Anahtar Kelimeler: Koroner arter hastalığı, kardiyovasküler risk, nitrik oksit sentaz, polimorfizm, hemoreoloji

Projeden Yapılan Yayınlar: Proje kesin raporunun yazılmasını takiben projeden elde edilen veriler yayın olarak hazırlanacaktır.