

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

**KORONER YAVAŞ AKIMDA PARAOKSONAZ GEN
POLİMORFİZMLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Arzu Neslihan AKGÜN**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mustafa Ferzeyn YAVUZKIR**

**ELAZIĞ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mehmet AKBULUT

Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa Ferzeyn YAVUZKIR _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....
.....
.....
.....
.....

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimin süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarıma, tezimi hazırlamamda yardımını esirgemeyen hocam Doç. Dr. Mustafa Ferzeyn Yavuzkır'a, ihtisas süresi boyunca gösterdikleri dostluk ve yardımlarından dolayı birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, tezimin laboratuvar çalışmalarında emeği geçen kardiyoloji klinik ve poliklinik çalışanlarına, tezimi hazırlamada desteği olan herkese ve aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Arzu Neslihan AKGÜN

ÖZET

Günümüzde gittikçe artan oranda morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam eden koroner arter hastalığının (KAH) gelişimi, tanısı ve tedavisi araştırma konuları başında gelmiştir. Miyokard iskemisini düşündüren anjinal yakınmaları olan ve anjiyografide koroner arterleri normal saptanan hastalarda göğüs ağrısının nedenini açıklamak klinikte sık karşılaşılan bir sorundur. Koroner yavaş akım (KYA) anjiyografik bir bulgudur. Koroner yavaş akım fenomeni (KYAF), epikardiyal damarlarda darlık yapan lezyon olmamasına rağmen koroner arterler için ayrı ayrı, belirtilen hedef damar bölgelerine koroner kan akımının ulaşması gereken zamandan daha yavaş ve geç ulaşması ya da hiç ulaşamaması olarak ifade edilir. Koroner yavaş akım tanısının daha güvenilir olması için kantitatif bir yöntem olan TIMI kare sayımı kullanılır.

Paraoksonaz 1 (PON 1), HDL kolesterol yapısında yer alan ve okside LDL (oxLDL) yapısındaki lipid peroksitleri hidrolize ederek lipoprotein oksidasyonunu önleyici role sahip bir enzimdir. Bu özelliği nedeniyle ateroskleroza karşı koruyucu özelliği olabileceği düşünülmüş ve in vitro çalışmalarda bu etkisi gösterilmiştir. Klinik çalışmalar sonucunda koroner arter hastalığı (KAH) tespit edilmiş olan hastalarda serum PON 1 seviyesinin, sağlıklı kişilere göre daha düşük bulunmuş olması da bu görüşü desteklemektedir. Serum PON 1 geni bu nedenle son yıllarda araştırmaların odak noktası olmuştur. Serum PON 1 gen aktivitesini etkileyen çeşitli nedenler araştırılmış ve PON 1 gen polimorfizmleri ile KAH arasındaki ilişki sorgulanmıştır. Çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı anti-aterojenik olduğu düşünülen paraoksonaz 1 geninin polimorfizmlerini (M/L55, R/Q192) ve bu polimorfizmlerin KYAF'daki etkisini araştırmayı göstermekti.

Çalışmamıza Haziran 2013-Şubat 2014 arasında kardiyoloji polikliniğine göğüs ağrısı ile başvurup yapılan koroner anjiyografi sonucunda KYA saptanan 50 hasta grubu ve NKA saptanan 50 kontrol grubu alındı. Paraoksonaz 1 geni L55M ve Q192R polimorfizmleri ile KYA arasındaki ilişki araştırıldı. Serum PON 1 geni Q192R polimorfizmi-QQLM genotipi ile KYA arasında anlamlı ilişki saptandı. Aynı zamanda hipertansiyonun KYA grubunda daha fazla görüldüğü ve aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü.

Sonuç olarak PON 1 geni Q192R polimorfizmi- QQLM genotipinin hastalarda kontrol grubuna oranla daha yüksek olması ve aradaki farkın anlamlı olması Q192R-QQLM genotipinin KYA için risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koroner yavaş akım, koroner arter hastalığı, paraoksonaz geni, yüksek dansiteli lipoprotein, düşük dansiteli lipoprotein

ABSTRACT

PARAOXONASE GENE POLYMORPHISMS IN CORONARY SLOW FLOW

Nowadays an increasing cause of morbidity and mortality of coronary artery disease continues to be (CAD) development, early diagnosis and treatment of research subjects has been. Which is suggestive of myocardial ischemia and anginal symptoms in patients with angiographically normal coronary arteries to explain the cause of chest pain is a problem frequently encountered in clinical practice. Coronary slow flow (CSF) is the angiographic findings. Coronary slow flow phenomenon (CSFP), epicardial vessels with no stenotic lesions, although there was coronary artery separately for the specified target vessel regions in coronary blood flow should reach time slower or arrive late or can not be reached is expressed as. To be more reliable diagnosis of CSF which is a quantitative method used TIMI frame count.

Paraoxonase 1 (PON 1), the structure of HDL cholesterol and oxidized LDL (OxLDL) by hydrolyzing lipid peroxides in the structure of lipoprotein oxidation is an enzyme inhibitor role. Because of this feature, seems to be protective against atherosclerosis and this effect has been shown in in vitro studies. In clinical studies of coronary artery disease (CAD) have been identified in patients with serum PON1 levels, was found to be lower compared to healthy subjects supports this view. Serum PON1 gene therefore in recent years has been the focus of research. Several factors affecting the activity of PON1 gene have been investigated and the relationship between PON1 gene polymorphisms with CAD has been questioned. Contradictory results were obtained. The purpose of this study, which is considered anti-atherogenic paraoxonase 1 gene polymorphisms (M/L55, R/Q192) and aimed to investigate the effect of polymorphisms in CSFP.

Our study to the cardiology clinic between June 2013-February 2014 patients admitted with chest pain underwent coronary angiography results CSF in 50 patients and 50 control subjects with NCA. L55M and Q192R paraoxonase 1 gene polymorphisms and investigated the association between CSF. Serum PON-1 gene Q192R polymorphism between QQLM genotype was significantly correlated with the CSF. Hypertension also mostly occur in the CSF group and the difference was found to be statistically significant.

As a result of the PON1 gene Q192R polymorphism genotype-QQLM to be higher in patients than in controls, and this difference is meaningful Q192R genotype-QQLM suggests that there may be a risk factor for CSF.

Keywords: Coronary slow flow, coronary artery disease, paraoxonase gene, high-density lipoprotein, low density lipoprotein.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Koroner Kan Akımı	2
1.1.1. Koroner Kan Akımı ve Rezistansın Regülasyonu	5
1.1.2. Koroner Kan Akımının Endotelial Kontrolü	7
1.1.3. Koroner Kan Akımının Otoregülasyonu	8
1.1.4. Koroner Kan Akımının Metabolik Regülasyonu	8
1.1.5. Koroner Kan Akımının Nöral ve Humoral Regülasyonu	9
1.1.6. Koroner Kan Akımının Miyojenik Kontrolü	10
1.2. Koroner Hiperemi ve Koroner Akım Rezervi	11
1.3. Koroner Yavaş Akım	13
1.3.1. Koroner Yavaş Akım Değerlendirme Yöntemleri	15
1.3.2. Koroner Yavaş Akımın Muhtemel Etiyopatogenezi	17
1.3.3. Koroner Yavaş Akımın Klinik Prezantasyonu	19
1.3.4. Koroner Yavaş Akım ve Sendrom X	19
1.3.5. Sekonder Koroner Yavaş Akım	20
1.3.6. Koroner Yavaş Akımda Tedavi	21
1.4. İnsan Serum Paraoksonazları (PON)	21
1.4.1. PON (paraoksonaz) Genleri	22
1.4.2. Paraoksonaz 1 (PON 1) Yapısı ve Genel Özellikleri	23
1.4.3. PON 1 Fonksiyonları, Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları	25
1.4.4. PON 1 Geninin Polimorfizmi	28
1.4.5. PON 1'in Önemi	30

1.4.6. Koroner Arter Hastalığı ve PON 1	32
1.4.7. HDL (Yüksek Dansiteli Lipoprotein) ve PON 1	34
1.4.8. PON 1 Enziminin Regülasyonu	35
1.4.9. Koroner Yavaş Akım ve PON 1 Gen Polimorfizmleri	36
2. GEREÇ VE YÖNTEM	39
2.1. Hastalar ve Kontrol Grubu	39
2.1.1. Hastalar	39
2.1.2. Kontrol Grubu	39
2.2. Anjiyografi	39
2.3. DNA İzolasyon İşlemi	40
2.3.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler	40
2.3.2. İzolasyon Aşamaları	40
2.3.3. DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi	41
2.3.4. TaqMan Problemleri ile Genotiplendirme	42
2.4. İstatistiksel Analiz	44
3. BULGULAR	45
3.1. Hasta ve Kontrollerde PON 1 rs854560 (55 L/M) Polimorfizm Dağılımları	46
3.2. Hasta ve Kontrollerde PON 1 rs662 (192 Q/R) Polimorfizm Dağılımları	46
3.3. İkili Genotip Sıklıkları	47
3.4. En Az Bir Adet Q, R, L ve M Alleli Taşıma Sıklıkları	48
3.5. Hipertansiyon ile PON 1 Geni Q192R ve L55M Polimorfizmleri Arasındaki İlişki	49
3.6. Olguların Demografik Özellikleri ile PON 1 Geni L55M ve Q192R Genotipleri ile İlişkisi	49
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	56
6. ÖZGEÇMİŞ	70

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	TIMI akım dereceleme yöntemi	15
Tablo 2.	Koroner yavaş akım ve kardiyak sendrom X farklılıkları	20
Tablo 3.	Sekonder koroner yavaş akım mekanizmaları	20
Tablo 4.	RT-PCR’ da kullanılan genotiplleme testleri	43
Tablo 5.	RT-PCR reaksiyon karışım	43
Tablo 6.	Genotiplleme için uygulanan RT-PCR programı	44
Tablo 7.	Hastaların ve kontrol olgularının demografik özellikleri	46
Tablo 8.	PON1 L55M genotip ve allel dağılımı ile sıklıkları	47
Tablo 9.	PON1 Q192R genotip ve allel dağılımı ile sıklıkları	48
Tablo 10.	Hasta ve kontrol grubunda PON1 Q192R ve PON1 L55M genotip frekansları	49
Tablo 11.	Hasta ve kontrol en az bir adet Q,R, L ve M alleli taşıma sıklıkları	49
Tablo 12.	Olguların Demografik Özellikleri ile PON 1 geni L55M ve Q192R genotip p değerleri	51

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Koroner kan akımının nörohormonal dengesi	3
Şekil 2.	Miyokardiyal oksijen sunum ve ihtiyacının major belirleyicileri	4
Şekil 3.	Koroner akım direnç bölgeleri	6
Şekil 4.	Koroner kan akımının endotelial kontrol	7
Şekil 5.	Frank Starling yasası	8
Şekil 6.	Koroner kan akımının sistol ve diastoldeki değişimi	11
Şekil 7.	Koroner akım rezervi	12
Şekil 8.	TIMI kare sayımı ilk kare	16
Şekil 9.	Koroner yavaş akım değerlendirmesinde distal işaret segmentleri	17
Şekil 10.	Koroner yavaş akımın muhtemel nedenleri	19
Şekil 11.	PON1 proteininin üç boyutlu yapısı	23
Şekil 12.	PON 1'in HDL'ye bağlanması	25
Şekil 13.	PON 1 geninin aminoasit dizilimi	27
Şekil 14.	PON1 enzimi gen polimorfizmleri	28
Şekil 15.	PON geninin iki önemli polimorfizmi	30
Şekil 16.	Paraoksonun enzimatik hidrolizi	31
Şekil 17.	Laktonizasyon	32
Şekil 18.	PON 1'in antiaterojenik etkileri	34
Şekil 19.	HDL içindeki enzimatik aktiviteye sahip proteinler	35
Şekil 20.	PON 1'in regülasyonu	36
Şekil 21.	PON 1 geni 55L/M ve 192Q/R polimorfizm bölgeleri	38
Şekil 22.	Cinsiyet dağılımı grafiği	45
Şekil 23.	Hipertansiyonun KYA ve NKA grubundaki dağılımı grafiği	50

KISALTMALAR LİSTESİ

ATP	Adenozin Trifosfat
Ag II	Anjiotensin 2
Apo A-1	Apolipoprotein A 1
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate (siklik adenozin monofosfat)
Cx	Circumflex coronary artery (sirkumfleks koroner arter)
CFR	Coronary Flow Reserve (Koroner akım rezervi)
dTIMI	Düzeltilmiş TIMI kare sayımı
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase (Endotelyal nitrik oksit sentetaz)
E	Epinefrin
FFR	Fractional Flow Reserve (Fraksiyone akım rezervi)
HDL	High density lipoprotein (Yüksek yoğunluklu lipoprotein)
H2O2	Hidrojen peroksit
HcyT	Homosistein tiyolakton
IVUS	Intravascular ultrasound (İntravasküler ultrasonografi)
KAH	Koroner arter hastalığı
KKA	Koroner kan akımı
KYA	Koroner yavaş akım
KYA	Koroner yavaş akım fenomeni
kDA	KiloDalton
LAD	Left anterior descending coronary artery (sol ön inen koroner arter)
LCAT	Lecithin—cholesterol acyltransferase (lesitin kolesterol açıl transferaz)
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük yoğunluklu lipoprotein)
MI	Miyokard infarktüsü
MPV	Mean platelet volume (Ortalama trombosit hacmi)
MPS	Miyokard perfüzyon sintigrafisi
NO	Nitrik oksit
NE	Norepinefrin
NKA	Normal koroner anatomi
Non ST MI	ST elevasyonu olmayan miyokard infarktüsü
oxLDL	Okside düşük yoğunluklu lipoprotein (okside LDL)
OP	Organofosfat
PAF- AH	Platelet activating factor acetlyhidrolase (Trombosit aktive edici faktor asetilhidrolaz)

PON	Paraoxonase (Paraoksonaz)
PON 1	Paraoxonase 1 (Paraoksonaz 1)
PG	Prostoglandin
RT-PCR	Real time PCR (DNA izolasyon yöntemi)
RCA	Right coronary artery (Sağ koroner arter)
SYA	Serbest yağ asitleri
USAP	Unstabil anjina pektoris
TIMI	Trombolysis in Myocardial Infarction
TCF	TIMI frame count (TIMI kare sayımı)

1. GİRİŞ

Tipik göğüs ağrısı tarifleyen, miyokard iskemisi noninvaziv testler ile tespit edilen sonra koroner anjiyografi yapılan ve normal koroner arter saptanan hastalarda klinik olarak iki grup tanımlanmaktadır. Birinci grup ‘kardiyak sendrom X’ olarak adlandırılmaktadır. Bu hastalarda koroner kan akımı rezervinde yetersizlik olduğu, koroner mikrovasküler rezistansın arttığı ve koroner kan akımının yavaşladığı gösterilmiştir (1-3). Diğer grupta ise büyük damarlarda koroner kan akımının yavaş olduğu gösterilmiş bunun altta yatan nedeni küçük damar hastalığı olarak değerlendirilmiş ve buna koroner yavaş akım fenomeni (KYAF) denmiştir (4). Koroner yavaş akım ile ilişkili fizyopatolojik nedenler arasında epikardiyal tıkaçıcı hastalık yokluğunda mikrovasküler disfonksiyon, endotelial disfonksiyon, vazomotor disfonksiyon ve okluzif hastalık gösterilmiştir (4-8).

Yine KYAF’da lümeninde bulgu vermeyen masif kalsifikasyon, intimal kalınlaşma yapmayan minimal aterom plakları gösterilmiş bunun erken yaygın epikardiyal ateroskleroz belirtisi olabileceği düşünülmüştür (9-12).

Koroner Yavaş Akım (KYA) koroner anjiyografide normal veya normale yakın koroner arterlerde iskemik provokatif manevralar olmadan opak maddenin yavaş ilerlemesi, gecikmiş koroner opaklaşma ve Trombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 2 akım saptanması olarak tanımlanmıştır. Koroner anjiyografi uygulanan hastalarda %1-4 sıklıkla koroner yavaş akım saptanmıştır. 1972 yılında tanımlanmış bir vasküler hastalık olmasına rağmen etyopatogenezi konusundaki bilgilerimiz halen kısıtlıdır (10).

Kardiovasküler hastalıklarda etkili olduğu bilinen bazı enzimler literatürlerde yer almaktadır. Bu enzimleri kodlayan genlerin de insandan insana farklılıklar gösterdiği (gen polimorfizmi) bilinmektedir. Paraoksonaz (PON) gen ailesinin PON 1, 2 ve 3 olmak üzere üç üyesi bulunur. Bu genler üzerinde meydana gelen polimorfizmlerin koroner arter hastalığı üzerine etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. PON 1 ve PON 2’nin her ikisi de 9 ekzona sahiptir, ekzon ve intronların birleşme noktası ikisinde de denktir. Paraoksonaz-1 (PON-1) 354 aminoasitten oluşan bir proteindir (12-13). Sentez yeri karaciğer olup serumda yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) üzerinde lokalizedir. OxLDL, LDL’nin bakır gibi metallerle girdiği oksidatif tepkimenin sonucunda oluşmuş aterojenik formudur.

OxLDL aterosklerozla pozitif yönde ilişkiliyken HDL konsantrasyonu aterosklerotik risk ile negatif yönde ilişkilidir (14).

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'in oksidatif değişikliklere uğraması aterosklerozun başlangıç ve ilerleme aşamasında temel rol oynamaktadır. Yoğun lipid düşürücü tedavi rejimleri sadece aterosklerozun ilerlemesini yavaşlatmakla kalmaz aynı zamanda yeni koroner olay riskini de azaltır (15). Lipid peroksidasyonu damar duvarında hasar olması ve LDL'nin oksidasyonu ile başlar. HDL, LDL'yi oksidatif değişikliklere karşı korumaktadır (16). Yüksek yoğunluklu lipoprotein in vitro ortamda lipid peroksidasyonunu geciktirici kapasitesi vardır. Bu antioksidan aktivitesi primer olarak PON 1 ile ilişkili bulunmuştur. Yapılan çalışmalar PON-1'in LDL üzerindeki okside fosfolipidleri LDL üzerinden uzaklaştırarak oksidasyondan koruduğunu göstermiştir (17). PON 1 iki aminoasit polimorfizmine sahiptir. Bunlardan biri 55. pozisyonda metionin ile lösin (M/L) aminoasitlerin yer değiştirmesiyle, diğeri 192. pozisyondaki arginin ve glutamin aminoasitlerinin yer değiştirmesiyle meydana gelir (Q/R).

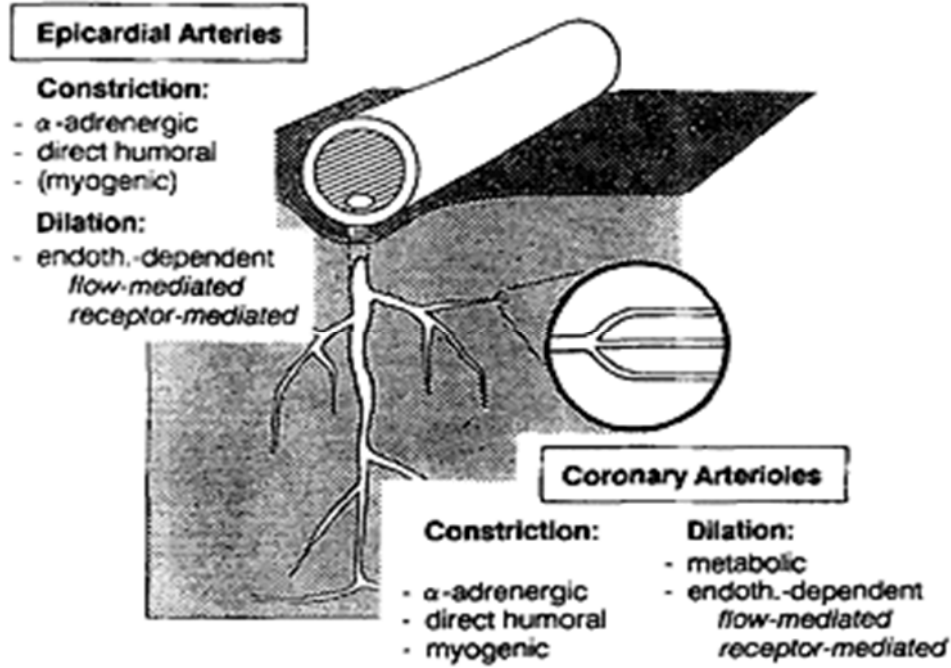
Bu çalışmamızda KYA tanısı konulan hastalar ve sağlıklı popülasyondaki Paraoksonaz 1 (PON 1) geninin gösterdiği bu iki polimorfizm araştırılmıştır.

1.1. Koroner Kan Akımı

Koroner dolaşım kardiyak fonksiyonun sağlanması için kalbe oksijen ve besin sunar, bu sayede vücudun geri kalanının kanla beslenmesi sağlar. Koroner arter hastalığı, normal kan akımında bozulma veya epikardiyal arterlerde tıkanmayla sonuçlanan koroner arterlerin duvarları içinde aterosklerotik değişikliklerin varlığını belirtir. KAH genellikle çocukluk çağında başlayan ve orta-geç yetişkinlikte klinik ortaya çıkaran ilerleyici bir hastalık sürecidir. Sistemik metabolik gereksinimler hızlı ve büyük değişiklikler gösterebilir, bu nedenle kardiyak fonksiyon ve koroner kan akımının hızlı adaptasyonu gerekir (18). Koroner kan akımı ile miyokardın oksijen ihtiyacı arasında dengesizlik olması iskemik kalp hastalığının primer nedenidir.

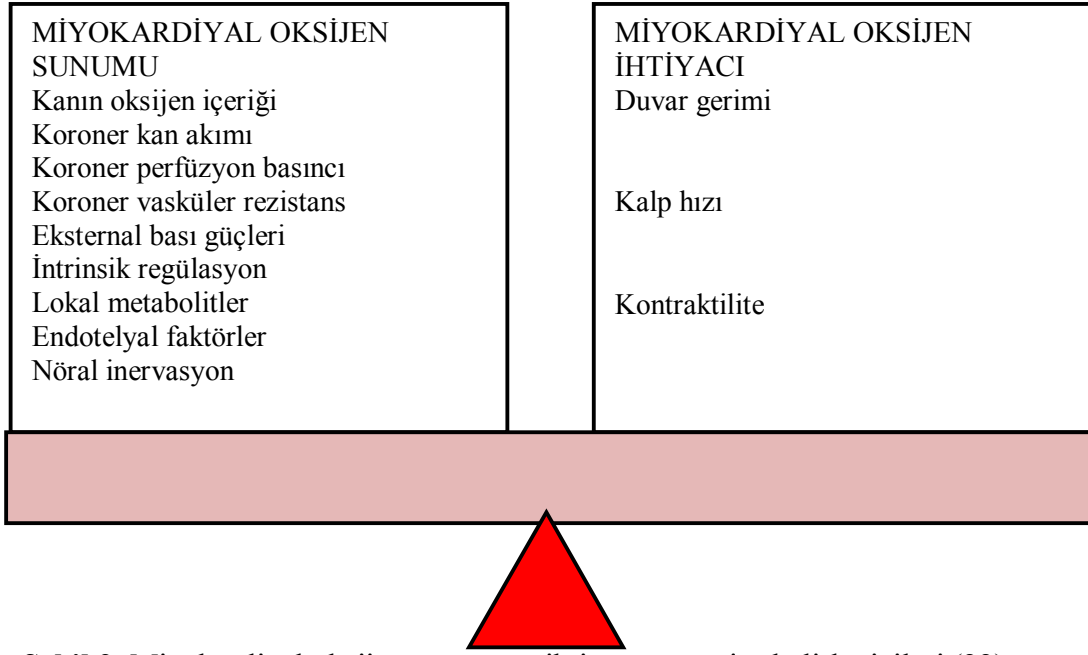
Miyokard özellikle de endokard vücuttaki en fazla oksijen gereksinimi olan dokudur (8-10 ml/O₂/dk/100 gr ama iskelet kası 0,15 ml/O₂/dk/100 gr). Kalp debisinin yaklaşık %5'ine denk gelir (19). Miyokard özellikle de endokard vücuttaki en fazla oksijen gereksinimi olan dokudur ve istirahat halindeki miyokardın oksijen ekstrasyonu (%75) maksimumdur. Miyokardın oksijen tüketimi; koroner kan akımı x

arteriovenöz oksijen farkı (koroner arter O₂ içeriği- koroner sinüs O₂ içeriği) formülü ile hesaplanır. 300 gr miyokard için ortama değer 30-35 ml/dk/g'dır (20).



Şekil 1. Koroner kan akımının nörohormonal dengesi (20).

Koroner kan akımı ihtiyaç halinde 5-6 kat arttırabilir (21). Koroner rezistans damarlar vazodilatasyon kabiliyeti ile koroner kan akımının normal hemodinamik koşullar altında 3-5 katına çıkmasını sağlayabilirler. Bu durum, yani akımın farmakolojik vazodilatatör uyarılar ile normal istirahat değerlerinin üzerine çıkarılması, koroner rezerv kavramının temelini oluşturur. Miyokardiyal oksijen sunumu ve gereksinimi arasındaki dengesizlik kontraktıl disfonksiyon, aritmiler, infarktüs ve olası ölümle ilişkili olan miyokardiyal iskemiye yol açar. Miyokardın oksijen talebinin üç ana belirleyicileri duvar gerilimi, kontraktılite (inotropik durumu) ve kalp hızıdır. Kalp hızı miyokardın oksijen talebinin en önemli belirleyicisidir. Kalp hızı arttıkça oksijen tüketimi artar, diyastol kısalırsa buna paralel olarak subendokardiyal alana kan akımını azaltır (22).



Şekil 2. Miyokardiyal oksijen sunum ve ihtiyacının major belirleyicileri (22).

Koroner kan akımı sistolik ve diyastolik komponentleri olan pulsatil tarzda bifazik akımdır. Kardiak kontraksiyonla beraber koroner kan akımı azalır ve geç sistolde iyice azalmıştır. Koroner kan akımı erken sistol ve geç sistolde de farklıdır. Sistolik akım dalgası hızlı kardiyak döngü boyunca oluşan fazik miyokardiyal kompiansa denk düşen kısa retrograd cevaplara sahiptir. Diyastolik akım miyokardiyal kontraksiyondan sonraki gevşeme fazında olur ve aortik diyastolik basınçla paralel biçimde azalır (17, 18). Koroner venöz akım, koroner arteriyel fazlı akımın dışındadır, baskın biçimde sistolde oluşur ve diyastol sırasında neredeyse hiç yoktur. Koroner kan akımı sadece fazik değildir, damarın tipi, miyokarddaki yerleşimi gibi iç faktörlere ve egzersiz gibi dış faktörlere göre değişir (17).

Miyokardiyal dokuda enerji mitokondride yerleşmiş mekanizmalarla oksidatif fosforilasyon yoluyla sağlanır. Kalpte normalde diğer dokulardan farklı olarak yağ asitlerinin oksidasyonu ana enerji kaynağıdır. Miyokardın enerji ihtiyacının yaklaşık % 70'i serbest yağ asidi oksidasyonu ile sağlanırken % 20'si glukozdan, % 6'sı aminoasitlerden ve % 4'ü de keton cisimlerinden karşılanmaktadır. Yağ asitlerinin çok olduğu ortamda anaerobik glikoliz inhibe olur, aerobik glikoliz artar ve enerji üretilir. Yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan yüksek enerjili fosfatlardan elde edilen enerjinin büyük kısmı kasılma fonksiyonu için harcanır. Bu nedenle enerji sunumunda bir azalma meydana gelir ise ilk kısıtlanan fonksiyon kasılma fonksiyonudur (hibernasyon). Yağ asitlerinin oksidasyonu ile aerobik çalışan ve

serbest yağ asitlerini tüketerek ATP (adenozin trifosfat) elde eden kalp enerji sunumu azaldığında glikoz kullanımını artırır. Glikoliz ve glikojenoliz ile ATP üretmek ister. Fakat piruvat-laktat dengesi laktat lehine kayar ve biriken laktat glikolizi baskılar ve ATP üretimini durdurarak irreversibil hücre hasarı meydana gelir (22).

Miyokardiyal oksijen sunumu; yeterli hemoglobin ve bu oksijen bağlı hemoglobini koroner arterler ve kapiller giriş aracılığı ile miyokarda verebilecek yollar ile sağlanır. Miyokardiyal sunum istem dengesinin temelindeki anafikir, herhangi bir oksijen ihtiyacına karşı kalbe iskemi ya da infarktüse neden olacak az perfüzyondan korunacak kadar yeterli sunum sağlanmasıdır.

1.1.1. Koroner Kan Akımı ve Rezistansın Regülasyonu

Koroner vasküler rezistans metabolizma (metabolik kontrol), endotelial kontrol, otoregulasyon, koroner kan akımı, miyojenik kontrol, lokal faktörler, ekstrasvasküler bası güçleri ve nöral faktörler gibi birçok faktör tarafından düzenlenir. Normal otoregülatuar sınırlar içerisinde koroner akımı perfüzyon basıncından bağımsızdır. Fakat ortalama koroner kan basıncı otoregülasyonun alt sınırının ötesinde düşer ise koroner akım basınç bağımlı hale gelir ve subendokardiyumda iskemi oluşur. Otoregülasyonun alt sınırı ise subendokardiyum için 40 mmHg (ortalama koroner basınç), subepikardiyum için 25 mmhg ve üst sınırı ortalama 130 mmhg'dir. Ortalama koroner içi basıncın bu derecede düşmesine rağmen koroner akımın sabit kalmasını sağlayarak miyokardı iskemiden koruyan temel otoregülatuar mekanizma koroner rezistans arterlerin vazodilatasyon kabiliyetidir (21). KKA'nın major belirleyicileri arteriyel basınç gradiyenti (aortik-sol ventrikül diastolik basınç farkı) ve diastol süresidir. Toplam koroner direncin yaklaşık %75'i arteriyel sistemde birbirine seri bağlı sistemden oluşur. Bu da iletili, prearteriyoller ve arterioller ile intramiyokardiyal kapiller damarlardan oluşur (17, 18).

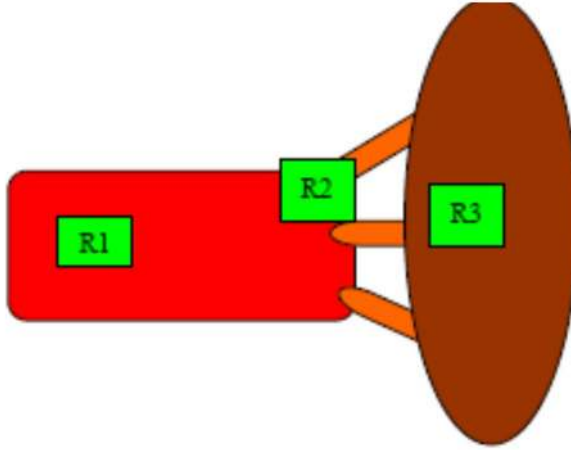
Epikardiyal koroner arterler ortalama olarak 3 ile 5 mm çapındadır ve kan akımına yeterli direnç oluşturmazlar. Toplam koroner direncin yaklaşık %5'ini oluştururlar. Çapları ortalama LAD için proksimalde $3,7 \pm 0,4$; distalde $1,9 \pm 0,4$ dür. RCA için $3,9 \pm 0,6$ ve Cx için $3,4 \pm 0,5$ 'dir (23). Epikardiyal koroner arteri ilgilendiren rezistans pratik olarak yok sayılabilir. Epikardiyal koroner arterler koroner kan akımına karşı bir rezistans yaratmazlar. Ancak, epikardiyal koroner

arterdeki darlık %90 ve üzerine daralma yapması durumunda toplam koroner rezistansın artışına katkıda bulunabilir (22).

Prekapiller arteriyoller epikardiyal arterleri miyokardiyal kapillerlere bağlayan arterlerdir. Prekapiller arteriyoller ($<300\mu\text{m}$) toplam koroner direncin yaklaşık %90'ını oluştururlar. Bu damarlar shear strese yani fizyolojik uyaranlara, dokunun metabolik ihtiyaçlarına ve farmakolojik uyaranlara çok duyarlıdır.(23, 24) .

Distal prekapiller arteriyoller koroner kan akımının metabolik düzenlenmesi için ana noktadır. Bu damarlar ($<100\mu\text{m}$ çapta) koroner akım direncinin % 50'sini oluşturan ana belirleyicileridir. Distal arteriyoller tonus nörojenik uyarı ve lokal vazoaaktif ürünler ile kontrol edilir. Bazı durumlarda, vazokonstriktör uyarı lokal olarak salınan miyokardiyal vazodilatör metabolitlerce karşılanamaz ve miyokardiyal iskemiye tetikleyebilecek kadar güçlü olabilir (17, 23, 24).

Kapillerler her milimetre karede 4000 civarında yoğun ağ olarak bulunurlar. Her miyosit bir kapiller ile komşudur. Bu kapiller yoğunluk ventriküler hipertrofi varlığında azalır. Kapillerlerde akım sürekli. En küçük arteriyollerde ($<30\mu\text{m}$) metabolik vazodilatasyon, orta boy arteriyollerde (30-60 μm) miyojenik kontrol ana noktadır. Geniş arterioller (100-150 μm) akım aracılı genişleme yerleridir (17).



Şekil 3. Koroner akım direnç bölgeleri

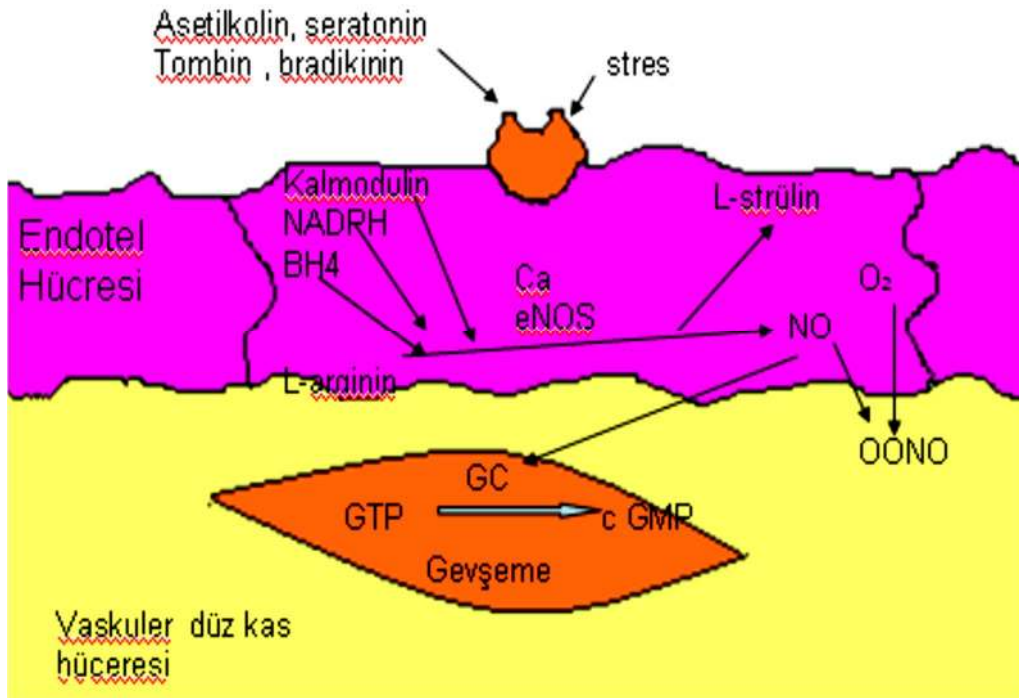
Koroner arteriyel resistans (R); epikardiyal koroner arter resistansı (R1), prekapiller–arterioller damar resistansı (R2) ve intramiyokardiyal kapiller sirkulasyon resistansının (R3) toplamıdır (21). Epikardiyal resistans, aterosklerotik darlık olmadığı müddetçe çok anlamsız düzeydedir ve ihmal edilebilir. Epikardiyal darlık %50'nin altında ise yine direnç artışı olmaz çünkü otoregülatuar mekanizmalar devreye girer ve kompanse eder. Ama epikardiyal darlık %50'yi geçerse direnç artar

ve koroner akım rezervi azalır. Prekapiller-arterioller, epikardiyal arterleri miyokardiyal arterlere bağlayan rezistans (R2) damarlarıdır ve koroner kan akımın esas kontrol noktalarını oluştururlar (25).

1.1.2. Koroner Kan Akımının Endotelyal Kontrolü

Endotel; endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EKGF), nitrik oksit (NO), prostosiklin, adenozin, endotelyal kaynaklı hiperpolarizan faktör (EKHF) gibi vazodilatatörler ve endotelin1 (ET1), anjiotensin 2 (AgII), platelet aktive edici faktör (PAF) gibi vazokonstriktör maddeler salgılayan endokrin bir organdır. Normalde endotelyal yatakta vazodilatatörler baskınken uygunsuz vazokonstriktör yanıt endotel disfonksiyonunu gösterir. Ateroskleroz ise ciddi biçimde endotel kaynaklı vazodilatatör uyarıya damar cevabını bozar (26).

Kardiyovasküler risk faktörleri olan hastalarda endotel disfonksiyonuna yatkınlık olur ve bu da koroner kan akımında bozukluğa yol açarak ateroskleroz ile trombozu hızlandırır. Paradoksal vazokonstriksiyona neden olur yani normalde koroner vazodilatasyonu tetikleyen etmenler, aterosklerotik koroner arter hastalarında tipik olarak stenoz bölgelerinde ve hafifçe düzensiz arter segmentlerinde vazokonstriksiyona neden olur (26, 27).

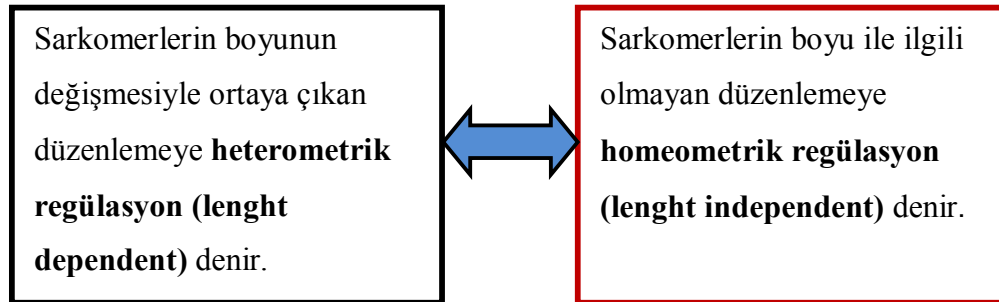


Şekil 4. Koroner kan akımının endotelyal kontrolü

1.1.3. Koroner Kan Akımının Otoregülasyonu

Koroner kan akımı miyokard oksijen ihtiyacına göre belirlenir. Sistemik hemodinamideki değişikliklere rağmen miyokardiyal perfüzyonun sabit seviyelerde tutulabilmesi yetisine otoregülasyon denir. Buna göre ortalama aort basıncı 130-40 mmHg arasında iken koroner perfüzyon göreceli olarak sabit bir seviyede tutulur. Bu seviyelerin dışında koroner akım dik olarak düşer ya da yükselir (17, 24).

Normal fizyolojik mekanizma optimum koroner kan akımı, arz talep dengesini sağlayan koroner perfüzyon basıncı ve vazomotor tonustan oluşur. Kalp yetmezliği ve KAH'da otoregülasyon bozulur. Frank-Starling mekanizması kontraktıl performansın düzenlenmesi için en önemli fizyolojik ilkelerinden biridir. Frank-Starling Yasasına göre, belli sınırlar içinde olmak şartıyla, arter basıncında meydana gelen değişiklikler, kalp debisini hemen hemen hiç etkilememektedir yani belli bir sınıra kadar, arter basınç yükü ne olursa olsun, kalp debisini belirleyen en önemli etken kalbe giren kanın miktarıdır. Venöz dönüş ne kadar çoksa atım hacmi o kadar artar (27).



Şekil 5. Frank Starling yasası (27).

1.1.4. Koroner Kan Akımının Metabolik Regülasyonu

Koroner kan akımı miyokardiyal oksijen ihtiyacıyla direk bağlantılıdır. Çünkü miyokard oldukça fazla aerobik metabolizmaya bağlıdır ve kalbin oksijen depoları yetersizdir. Koroner kan akımının esas uyararı kalbin oksijen talebidir (28).

Koroner kan akımı koroner perfüzyon basıncının koroner vasküler dirence oranına eşittir (29). Koroner perfüzyon basıncı ise koroner arter basıncı ile koroner venöz basınç arasındaki farka eşittir. Koroner arter basıncının esas belirleyicisi aort basıncı ike koroner venöz basıncın esas belirleyicisi sağ atrium basıncıdır (28).

Miyokardın oksijen ihtiyacı arttığında lokal vazodilatör mediyatörler salgılanır ve koroner kan akımı artırılarak oksijen ihtiyacı karşılanır. Bu mekanizmadaki bozulmalar ise iskemi ile sonuçlanır (29).

Adenozin koroner kan akımının (KKA) ve metabolik düzenlemenin ana mediyatörüdür. Adenozin bazal koroner akım veya egzersiz sırasındaki kan akımının artışını arttırmaz ama hipoperfüze miyokardiyumda koroner vazodilatasyona katkıda bulunmak için salınır ve kan akımını artırır (30).

İskemi ile birkaç saniye içinde ATP depolarında azalma olur. ATP kaybı ile Adenozin difosfat (ADP) ve Adenozin monofosfatın (AMP) artışı olur. Sonuçta iskemi sırasında gerçekleşen bir dizi yıkım reaksiyonu Adenin nükleotidlerin (Adenozin ve İnozin) birikimine yol açar. Adenozin, kardiyak miyozitler tarafından sentez edilir, salınır ve arteriolar vasodilatasyona sebep olur. Miyokarda oluşan adenozin interstisyel alana geçer ve koroner venöz akıntıya direne olur. Hipoksi ve doku iskemisi olması durumunda adenozinin dolaşımdaki konsantrasyonu belirgin şekilde artar. Bunun yanında NO, ATP bağımlı potasyum kanalları ve prostoglandinler de metabolik regülasyona katkıda bulunur (31).

1.1.5. Koroner Kan Akımının Nöral ve Humoral Regülasyonu

Koroner kan akımını etkileyen birçok humoral faktör vardır. Katekolaminlerden norepinefrin (NE) ve epinefrin (E) koroner damarlarda direkt etkiyle vazokonstriksiyon, inotropi ve kronotropiyi artırarak indirekt etkiyle de vazodilatasyon yapar. Dopaminin etkileri doza bağlı olarak değişir, genelde hafif vazodilatasyon yapar. Anjiyotensin 2 (AngII) direkt vazokonstriktör etki gösterirken prostaglandin (PG) E2 ve F salınımını arttırarak bu etkisini bir miktar azaltır.

Epikardiyal arter ve arterioller yaygın adrenerjik ve muskarinik reseptörler ile simpatik ve parasimpatik lifler ile innerve edilirler. Sadece asetilkolin ve norepinefrin değil bu reseptörleri birçok endojen madenin etkilediği anlaşılmıştır. Simpatik uyarı ile salgılanan nöropeptid Y mikrodolaşımı bozarak iskemiye neden olur.

Simpatik kontrol: Simpatik sistem alfa ve beta reseptörlerince kontrol edilir ve alfa reseptörleri vazokonstriksiyon beta reseptörleri vazodilatasyon yaparlar. Simpatik sinirlerin aktivasyonu, α 1-adrenoseptörleri aracılığıyla sadece geçici vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Bu kısa (ve küçük) vazokonstriktör tepkiyi

β 1-adrenoreseptörlerin uyarılması ve bunun sonucunda kalbin mekanik ve metabolik aktivitesinin artması (kalp hızı, kontraksiyonu) takip eder. Sonrasında tüm bunlara yanıt olarak vazodilatör lokal metabolitlerin (aktif hiperemi) üretimi artar ve buna bağlı damar genişlemesi olur. Sonuçta kalp koroner damarları genişler ve koroner sempatik aktivasyon doğrudan vazokonstriktör etkilerine rağmen tepki olarak vazodilatasyonla sonuçlanır. Bu "fonksiyonel sempatolizis " olarak bilinir (27).

Aort basınç değişiklikleri nedeniyle koroner perfüzyon basıncı değişse bile 60 ve 200 mmHg arasındaki perfüzyon basıncı normal koroner kan akışını korumak için iyi bir otonöregülasyon değeridir (27).

Parasempatik kontrol: Parasempatik stimülasyon vagal sinirin uyarılması muskarinik reseptörler ve asetilkolin (Ach) salınımı ile olur. Parasempatik sistemin uyarılması epikardiyal arterlerin vazodilatasyonu ve kalp hızında azalma olur (27).

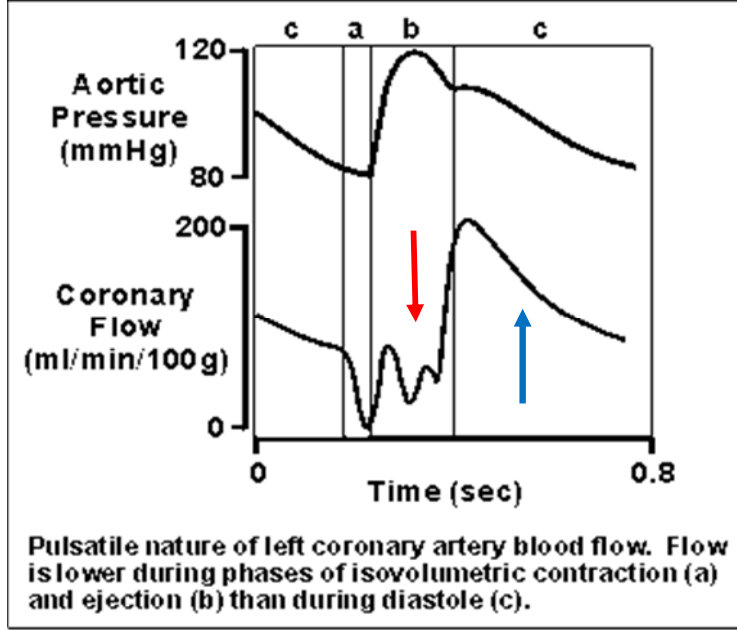
Henüz parasempatik sistemin koroner kan akımı üzerine etkisi tam olarak gösterilememiş daha çok sempatik aktivasyonun neden olduğu artan metabolik ve mekanik aktiviteyi inhibe eden mekanizma olduğu gösterilmiştir (32).

1.1.6. Koroner Kan Akımının Miyojenik Kontrolü

Miyojenik kontrol tüm koroner damarlarda etkili değildir. Miyojenik kontrolün primer düzenlendiği yer 50-80 μ m çapındaki arteriollerdir. Burada koroner mikrovasküler rezistansın %50'den fazlasını oluşturur. Miyojenik kontrol endokardiyal damarlarda epikardiyal damarlara göre daha azdır. Çünkü hem endokardiyal damarlardaki yüksek duvar gerimi hem de endokardın oksijen ihtiyacı fazla olan bir doku olması nedeniyle burada vazodilatasyon vardır. Epikardiyal arterlerde hem düz kas yapısının fazla olması hem de bu nedenlerden dolayı miyojenik kontrol daha fazladır (33).

Ekstravasküler sistolik bası gücü iki komponente sahiptir. İlki tamamen subendokardiyuma iletilen ancak epikardiyal kısımda neredeyse sıfıra düşen sol ventriküler intrakaviter basınçtır. İkincisi ve belki daha önemlisi kalp kasılırken ventriküler duvardan geçen vasküler arteriyollerin bası ve eğilmeye bağlı daralmasıdır (17). Sistol sırasında ekstravasküler sıkıştırma belirgin olarak koroner kan akışını etkiler, bu nedenle koroner akımının en fazla diyastol sırasında oluşur. Endokard özellikle düşük perfüzyon basınçlarında iskemiye daha hassastır. Ayrıca, taşikardi meydana gelirse diyastol kısalır ve koroner kan akımı için nispeten daha az

zaman kalır. Özellikle koroner arter hastalığı olanlarda önemlidir. Koroner vazodilatasyon aynı zamanda sistolik koroner kan akımının depolanması için rezerv süredir (27). Sağ ventrikül tarafından uygulanan bası güçleri sol ventrikülden oldukça az olduğundan sağ ventriküler perfüzyon sistol sırasında azalır ancak kesilmez (17) .



Şekil 6. Koroner kan akımının sistol ve diastoldeki değişimi

1.2. Koroner Hiperemi ve Koroner Akım Rezervi (CFR)

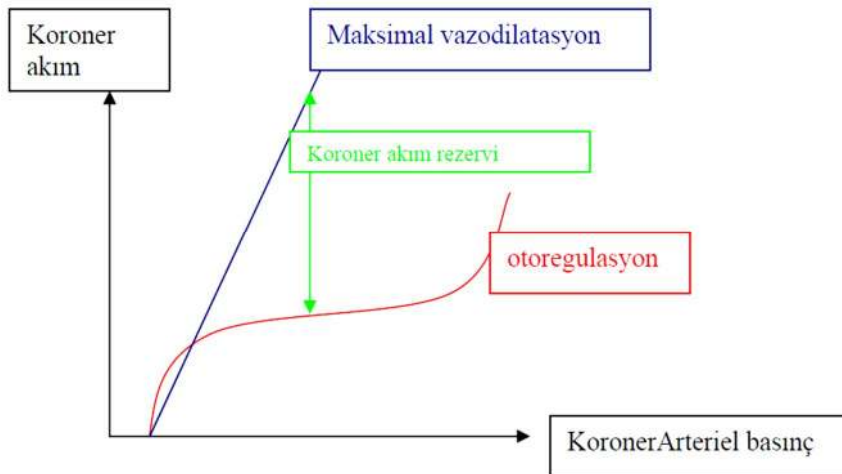
Koroner akım rezervi (*Coronary flow reserve* – CFR) maksimal koroner akımın istirahat koroner akımına oranı olarak tanımlanır. Koroner akım rezervinin en temel formu geçici miyokardiyal iskemi ile oluşturulan ve maksimal koroner dilatasyonu sağlayarak koroner akımda belirgin bir artışa neden olan reaktif hiperemidir (17).

Koroner akım rezervi koroner perfüzyonun değerlendirilmesinde geleneksel yöntemlerden biridir. Fakat koroner arter hastalığı olanlarda geçerli değildir. Stenoz bir koroner arterdeki maksimum akımın stenoz olmayan bir koroner arterdeki maksimum akıma oranı fraksiyonel akım rezervi (FFR) olarak tanımlanmıştır. Bu teknikte çok damar hastalarında kısıtlıdır. FFR distal koroner arter basıncının maksimum vazodilatasyon sırasında aortik basınca oranı olarak tanımlanmıştır. Normal değeri 1,0 olup, <0,75 iskemi olarak kabul edilir. Önemli kısıtlaması mikrosirkülasyon perfüzyonunu hesaplayamamasıdır. Bu nedenle mikrosirkulatuar

rezistans indexini (IMR) tanımlanmıştır. Distal koroner basıncın hiperemik ortalama transit zamanına bölünmesi ile elde edilir. Hemodinamik parametrelerden daha az etkilenir. CFR ye kıyasla hem FFR hem de IMR hemodinamik parametrelerden bağımsızdır (34).

Maksimal koroner kan akımını oluşturmak için üç tip uyarı kullanılmıştır. 1- Anjiyoplasti sırasında geçici koroner oklüzyon (reaktif hiperemi) 2- Farmakolojik vazodilatatörler 3- Metabolik stres. Adenozin, dipridamol ve papaverin koroner hiperemiyi sağlamakta kullanılan birincil vazodilatatörlerdir. Ekokardiyografik olarak koroner akım rezervi ölçümünde dipridamol kullanılmaktadır. Dipridamol kolaylaştırılmış adenozin transportunu ve yıkımını inhibe ederek intertisyal endojen adenozin seviyesini artırmaktadır. Hücre dışı seviyeleri artan adenozin ise hücre içi siklik adenozinmonofosfat (cAMP) seviyesini artırarak koroner vazodilatasyon oluşturmaktadır (17).

Koroner akım rezervi koroner arter lezyonlarının fizyolojik önemini belirlemede sıklıkla kullanılan bir parametredir. Koroner rezerv formülü kısaca hiperemik akım hızı / bazal akım hızı şeklinde basitleştirilir. Normal arterli genç hastalarda intravasküler ultrasonla ölçülen normal CFR 3,0'ı geçer (25).



Şekil 7. Koroner akım rezervi

Normalde CFR değerleri 3-5 arasında olmakla birlikte darlık derecesi %50'yi geçmeye başlamasıyla süratle düşer. Bu fiks epikardiyal lezyonun yarattığı darlık derecesi arttıkça arteriyoller rezistans damarlar ve kapillerler istirahat halinde iken bile koroner kan akımını normal sınırlarda tutmak için dilate haldedirler. Dolayısıyla, intrakoroner doppler teli ile lezyonun fizyolojik önemini belirlemeye yönelik ölçümler esnasında uygulanan eksternal vazodilatatör ajanlar (papaverin, adenozin)

ile yaratılan mikrovasküler dilatasyona yanıt verirlilikleri sınırlıdır ve CFR ciddi darlıklarda normal değerinin alt sınırının altında bulunur (<2). CFR değerinin ikinin altında olması indüklenabilir miyokardiyal iskemiye %90'ın üzerinde özgüllük ve duyarlılık ile tayin eder. Epikardiyal darlığın %90'ı geçmesi ise bazal akım hızının da düşmesine sebep olarak otoregülasyonun sınırları aşılar ve koroner vazodilatör rezerve tamamen tüketilir. CFR değerinin 2'nin altında bulunması indüklenabilir miyokard iskemisinin varlığının ifadesidir (25).

1.3. Koroner Yavaş Akım

Koroner yavaş akım fenomeni koroner anjiyografide epikardiyal koroner arterlerde stenoz olmadan yani koroner arterleri normal ya da normale yakın olup anjiyografi sırasında distal vasküler yapılara opak madde ilerleyişinin yavaş olmasıdır. KYAF tanısı TIMI akım derecesi veya TIMI kare sayısı bazında yapılabilir. Klinik olarak ise akut koroner sendrom ile başvuran genç erkeklerde ve sigara içenlerde çok sık görülür. Tekrarlayan göğüs ağrısı hastaların yaklaşık % 80'sinde görülürken, koroner bakım ünitesine geri kabulünü gerektiren ciddi kardiyak sorunlarla başvuranlar hastaların % 20'sidir. Koroner yavaş akım akut koroner sendromlar ile ilişkili olarak (primer koroner yavaş akım) gelişebildiği gibi anjiyoplasti sonrasında da görülebilmektedir (sekonder koroner yavaş akım) (35).

Tanım: Koroner Yavaş Akım (KYA) anjiyografik olarak normal veya normale yakın koroner arterlerde (<%40 daralma) opak maddenin yavaş ilerlemesi, en az bir major epikardiyal arterde anjioplasti *Trombolysis in Myocardial Infarction* (TIMI) 2 akım saptanması olarak tanımlanmıştır (7) .

İlk kez Tambe ve ark. (4) tarafından göğüs ağrısı ile başvuran 6 hastada anjiyografik bir bulgu olarak tanımlanmıştır. Dipiridamol sonrası KYA'nın düzeldiğini göstermiştir. Aynı hastalarda akım yavaşlamasının nitrogliserin ile düzelmediğini görmüşlerdir. Bunun nedeni de nitrogliserinin <200 µm'dan küçük arteriollerini etkilememesi ama dipridanolun etkilemesidir. Bu nedenle Tambe bu duruma mikrovasküler direncin neden olabileceğini ileri sürmüştür. Daha sonra 1973'de Kemp ve ark. (1) tarafından tanımlanmış olup göğüs ağrısı ile başvuran hastalarda nedenin belirsiz olduğunu düşünüp 'sendrom X' olarak tanımlamıştır. Hastaların çoğunun kadın olduğunu, göğüs ağrısının şiddetinin ara ara günlük aktiviteyi kısıtlayacak düzeyde olduğunu, egzersiz testi sonucu ile miyokardiyal iskemiye

saptayan testler arasında uyumsuzluk olduğu ve antiiskemik tedaviye cevabın yetersiz olduğunu söylemiştir.

Mangieri ve ark. (7) elektrokardiyografileri, ekokardiyografileri, egzersiz testleri, sağ ve sol koroner anjiyografileri normal olan ve KYA tespit ettikleri 20 hastada yaptıkları sol ventrikül endomiyokardiyum biyopsisinin (ışık ve elektron mikroskobu) histopatolojik incelemesi sonucunda lümen boyutunda azalmaya neden olan damar duvarı kalınlaşması, mitokondriyel anormallikler ve glikojen içeriğinde azalma tespit etmişlerdir. Aynı zamanda aynı örnekte hem normal hem hasta damar bulgularına rastlanmış ve yamalı tutulum olduğu gösterilmiştir. Yine, mikrovasküler vazodilatör özelliği olan bir T-tipi kalsiyum kanal blokeri olarak bilinen mibefradil, KYA'lı hastalarda TIMI kare sayılarını azaltmış ve koroner yavaş akımı belirgin ölçüde düzeltmiştir (36). Bu çalışmalar ile mikrosirkülasyondaki bozukluk açık olarak ortaya çıkarılmıştır.

Sonra Goel ve ark. (37) yaptığı başka bir çalışmada göğüs ağrısı tarifleyen 207 hasta alınmış, bunların 158'i NKA ve 49'u KYA olarak saptanmıştır. KYA hastalarının 40'ı ve NKA olanların 51'i tipik anjina tariflemiştir. Bunun sonucunda KYA'nın kardiyak sendrom X'in bir alt grubu olduğu fikri öne sürülmüştür.

Koroner anjiyografide normal olarak saptanan damarlardaki gizli ateroskleroz bulguları intravasküler ultrasonografi (IVUS) ile gösterilmiş ve aterosklerozun eşlik ettiği bu damarlarda damar esnekliğinin bozulduğu görülmüştür. Koroner arterlerin yapısı ve fonksiyonlarını detaylı olarak gösterebilen IVUS tekniği, fraksiyone akım rezervi (FFR) ve intrakoroner basınç (pressure-wire) ölçümleri ile normal koroner arter anatomisi olarak yorumlanan vakaların bazılarının, gerçekte lümende stenoza yol açmayan koroner arter lezyonlarına sahip olduğu gösterilmiştir (38, 39). Bu bağlamda, KYA'lı olan hastalarda yapılan araştırmalarda epikardiyal koroner arterlerde, boylu boyunca, lümeni daraltmayan yaygın kalsifikasyon, diffüz intimal kalınlaşma ve damar duvarında aterom plakları olduğu saptanmıştır (11).

Adenozin ile yapılan başka bir çalışmada, intravenöz adenozinin vazodilatasyon etkisinin venöz papaverine yakın bulunmuş ve QT uzamasına etkisi olmadığından papaverinin önemli bir alternatifi olarak gösterilmiştir (40).

Ayrıca yapılan çalışmalar göstermiş ki FFR stenozun ciddiyetini gösteren lezyon spesifik bir ölçümdür. Mikrosirkülasyondaki direnç artışını gösteren

proksimal-distal koroner arter basıncı arasında ($15,84 \pm 12,11$ normal değer 1-10 mmHg) ve FFR değerleri ($0,83 \pm 0,13$ normal değer 1,0) arasında kontrol grubuna göre anlamlı farklılık saptanmıştır. FFR göstermektedir ki kollateral akımın koroner akıma katkısı tam olarak bilinmemektedir ve bu nedenle koroner akım indeksleri stenozun fizyolojik etkilerini abartmaktadırlar. FFR'ın normal değeri 1,0 olarak kabul edilmiştir ve indüklenabilir iskemi açısından da bu değer 0,74'ün altıdır (41). Sonuçta, bu çalışmalar ile KYA'nın küçük ve büyük damarları tutan ve mikrovasküler

1.3.1. Koroner Yavaş Akım Değerlendirme Yöntemleri

1-TIMI (*Trombolysis in Myocardial Infarction*) akım dereceleme yöntemi:

Koroner kan akımının değerlendirilmesinde *Trombolysis in Myocardial Infarction* (TIMI) akım derecelemedirmesi sık kullanılır. Kontrast maddenin hızı ve pasajı tamamlaması TIMI 0-1-2-3 olarak değerlendirilir (42).

Tablo 1. TIMI akım dereceleme yöntemi

TIMI 0	Antegrad kan akımı yok
TIMI 1	Distale geçiş var ama tam dolmuyor ve kontrast asılı kalıyor
TIMI 2	Distali tam dolduruyor, ancak doluş ve yıkanma hızı düşük
TIMI 3	Distali tam dolduruyor, doluş ve yıkanma hızı normal

TIMI 0: Perfüzyon yok. Tıkanıklığın distalinde hiç antegrad akım yok.

TIMI 1: Perfüzyon yok. Penetrasyon var. Yani kontrast madde tıkanıklığı geçiyor ama tıkanıklığın distalinde opaklaşma olmuyor.

TIMI 2: Kısmi perfüzyon var. Kontrast madde tıkanıklığı geçer ve distal de opaklaşır ama bu opaklaşma yavaş ve geç olur.

TIMI 3: Tam perfüzyon var. Kontrast madde tıkanıklığın distaline geçer ve distal de normal hızda opaklaşır (42).

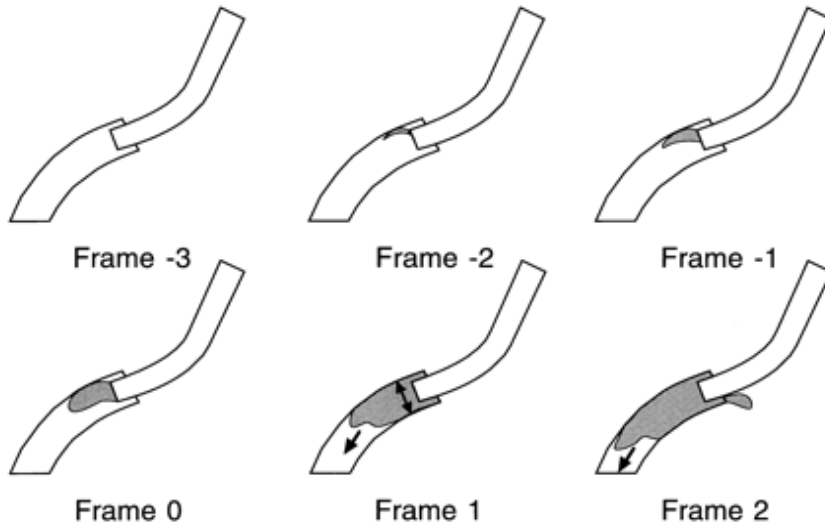
Bu yöntem reperfüzyon stratejilerinin etkinliklerini karşılaştırmakta ve akut koroner sendromlarında prognozun belirlenmesinde yararlı olsa da, gözlemciler arasında belirgin değerlendirme farklılıkları ve kalitatif bir yöntem olduğundan TIMI kare sayımı (TFC) geliştirilmiştir.

2- TIMI Kare Sayımı (TFC) Yöntemi

TIMI kare sayımı yöntemi Gibson ve ark. (43), tarafından düzenlenmiş olup koroner akımının değerlendirilmesinde kantitatif, basit, objektif, tekrarlanabilir bir göstergedir. Koroner akımın anjiyografik olarak uç noktalarının değerlendirilmesine dayanır. Kullanılan yöntem kontrast maddenin koroner artere verilışinden sonra önceden belirlenmiş distal bir işaret noktasına kadar olan sine karelerin sayımıdır.

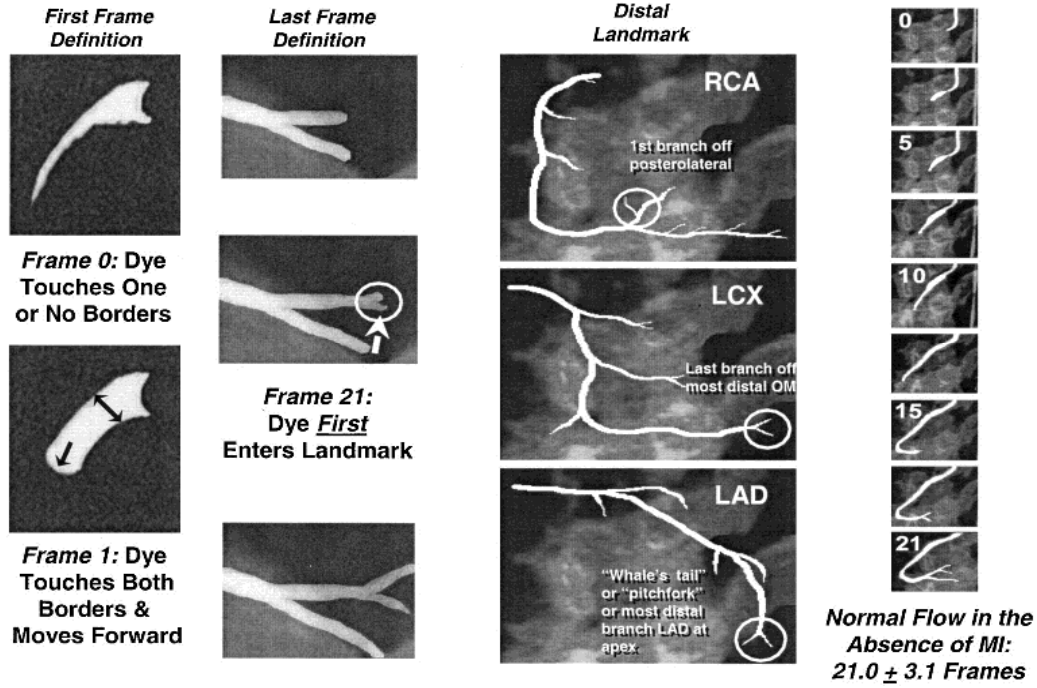
TIMI kare sayımında ilk kare opak madde ile arterin tamamen boyandığı karedir. Bunun değerlendirilmesinde 3 koşul vardır:

- 1- Opak madde koroner arterin ostiumuna girecek tam veya tama yakın dolduracak
- 2- Opak madde koroner arterin her iki duvarına da değecek
- 3- Opak madde koroner arterde antegrad hareket edecek



Şekil 8. TIMI kare sayımı ilk kare

Opak maddenin koroner arterin en distal dalına ulaştığı nokta ise son kare kabul edilir ve bu distal dalın tamamen opaklaşması (ilk karedeki gibi) beklenmez. Sol ön inen arter için (LAD) distal bifurkasyon, sirkumfleks (Cx) için en uzun dalın distal bifurkasyonun sonu ve sağ koroner arter (RCA) için posterolateral arterin ilk yan dalı distal nokta olarak alınır. İlk ve son kare arasındaki fark kare sayısı olarak değerlendirilir.



LAD : En distal bifurkasyon (apeks, whale's tail, moustache, pitchfork)

Cx : En uzun total uzunluğu olan OM segmentlerinin distali

RCA: Posterolateral arterin ilk yan dalı

Şekil 9. Koroner yavaş akım değerlendirmesinde distal işaret segmentleri

TIMI kare sayımı LAD'nin uzunluğunun diğer iki büyük artere göre fazla olması nedeniyle düzeltilebilir. Bu düzeltilmiş TIMI kare sayımı (dTIMI), diğer arterlere kıyasla LAD'de kontrastın katetmek zorunda kaldığı uzunluğu hesaba katar. Koroner arterlerin distal uca kadar ortalama uzunlukları LAD 14,7 cm; Cx 9,8 cm ve RCA 9,3 cm'dir. Normal kare sayıları LAD için $36,2 \pm 2,6$; Cx için $22,2 \pm 4,1$ ve RCA için $20,4 \pm 3,0$ 'tür. dTIMI kare sayısı LAD 1,7 kat daha uzun olduğu için LAD'nin toplam sinekare sayısının 1,7'ye bölünmesi ile elde edilir. Her biri için dTIMI kare sayısı ortalama $21 \pm 3,1$ 'dir. Bu değerlerin 2 kare standart sapma üzerindeki TIMI kare sayıları %95 güvenilirlilikle KYA olarak ifade edilir (43).

1.3.2. Koroner Yavaş Akımın Muhtemel Etyopatogenezi

Nedeni tam olarak açıklanamamakla beraber muhtemel nedenleri olarak endotel disfonksiyonu, mikrovasküler disfonksiyon, preklinal ateroskleroz ve küçük damar hastalığı suçlanmaktadır.

Nedeni tam olarak açıklanamamakla beraber muhtemel nedenleri olarak endotel disfonksiyonu, mikrovasküler disfonksiyon, preklinal ateroskleroz ve küçük damar hastalığı suçlanmaktadır.

1. Mikrovasküler hastalık:

Koroner dolaşım geleneksel olarak iki bölümden oluşan bir model olarak kabul edilir. Birinci bölüm, kan akışına karşı herhangi bir direnç teşkil etmeyen ve aynı zamanda "iletkenlik damarları" olarak adlandırılan epikardiyal damarlardan oluşur. İkinci bölüm, öncelikle önemli bir tıkanma (epikardiyal stenoz) yokluğunda miyokardiyal kan akışını düzenleyen küçük arteriollerden ($<400\text{ }\mu\text{m}$ dirençli damarlar) oluşur (22). KYAF'da mikrovasküler disfonksiyon olduğu düşünülmektedir. Bu verilere paralel olarak, Mangieri ve ark. (7), yaptıkları sol ventrikül endomiyokardiyal biyopsisi sonucunda lümen boyutu daralma, damar duvarlarında kalınlaşma, mitokondriyal anormallikler ve glikojen içeriğinde azalma bulmuştur.

2. Endotelial disfonksiyonu:

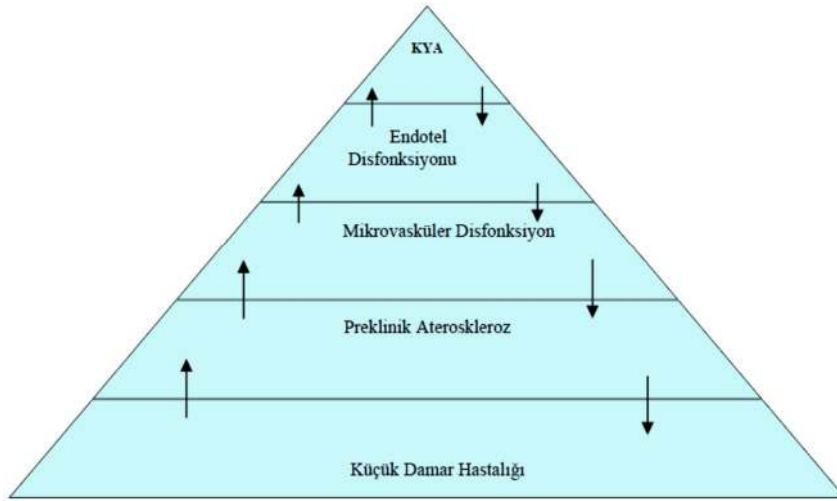
Artan miktarda çalışmalar endotelin, vasküler tonusu, platelet aktivitesini, lökosit yapışmasını ve vasküler düz kas çoğalmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını ve ayrıca ateroskleroz gelişimine etkisi olduğunu göstermiştir. Bu nedenle endotel disfonksiyonunun KYAF etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmüştür.

3. Preklinik ateroskleroz:

İntravasküler ultrason tekniğini kullanan Cin ve ark. (12), KYAF olan hastalarda yaptıkları çalışmada yaygın intimal kalınlaşma, koroner damar duvarı boyunca yaygın kalsifikasyon ve non-obstrüktif aterom plakları olduğunu gösterdi. Bu sonuçlar doğrultusunda, Pekdemir ve ark. (11) yine IVUS ve FFR tekniği ile KYAF olan hastaların çoğunda uzunlamasına (longitudunal) epikardiyal koroner arterler boyunca uzanan masif kalsifikasyon olduğunu gösterdi. Bu veriler KYAF ile birlikte olan non-obstrüktif aterosklerotik hastalığın kanıtıdır.

4. İnflamasyon:

İnflamasyon ile çeşitli kardiyovasküler hastalıkların beraberliği vardır. Bunlardan birisi de KYA'dır. İnflamasyonun endotel disfonksiyonunda etken olduğu düşünülmektedir. İnflamatuar parametrelerin anormallikleri hem koroner yavaş akımın hem de endotel disfonksiyonunun bir göstergesi olabilir.



Şekil 10. Koroner yavaş akımın muhtemel nedenleri

1.3.3. Koroner Yavaş Akımın Klinik Prezantasyonu

Koroner yavaş akım hastaları da tıkalıcı koroner arter hastalarında olduğu gibi efor anjinası, stabil olmayan anjina pectoris (USAP), Non-ST miyokard infarktüsü ve ST elevasyonlu miyokard infarktüsü gibi farklı kliniklerle karşımıza çıkabilir. Çeşitli çalışmalar koroner yavaş akımı olan hastalarda miyokardiyal iskemiyi göstermiştir. Ventriküler aritmi ve ani kardiyak ölüm riskinin olası bir göstergesi olan QT süresi ve QT dispersiyonu ile KYA arasındaki ilişki anlamlı olarak yüksek bulunmasına rağmen kardiyak mortalitenin bu hastalarda düşük olduğu görülmüştür. Yavaş akım, bazen kateterizasyon işlemi esnasında refleks yollarla oluşabilir. Bu hastalar, genelde, verilen anti iskemik tedaviye iyi yanıt verirler (43-48).

1.3.4. Koroner Yavaş Akım ve Sendrom X

Koroner yavaş akım fenomeni olarak bilinen bu durum ayrı bir klinik olarak kabul edilmektedir. Koroner sendrom X'ten üç önemli nedenle ayrılır (49):

- 1) KYAF ve Koroner sendrom X arasındaki yapısal farklılık
- 2) KYA'nın klinik özellikleri ile Koroner sendrom X'inki farklıdır
- 3) KYAF'in prognozu koroner sendrom X gibi iyi değildir.

Tipik anjina ile başvuran ve koroner anjiyografisi normal olarak saptanan hastaların bir kısmında efor testi pozitif olarak saptanır ki bu hastalar kardiyak sendrom X olarak tanımlanır, bir kısmında da efor testi pozitif veya negatif olabilir

ve koroner anjiyografisinde TIMI akım derecelendirme veya TIMI kare sayımına göre yavaş akım saptanır bunlar da KYA olarak tanımlanır.

Leone ve ark. (50), koroner yavaş akımın kardiyak sendrom X' ten tamamen farklı olan özellikleri ve etyolojisinin tam bilinmemesi nedeniyle ayrı bir sendrom (sendrom Y) olarak algılanması gerektiğini, ana farklılıkları ise şöyle tarif etmişlerdir (Tablo 2).

Tablo 2. Koroner yavaş akım ve kardiyak sendrom X farklılıkları

KORONER YAVAŞ AKIM	KARDİYAK X SENDROMU
Damar duvarında lümen daralması ile birlikte daralma	Etyopatogenezi bilinmiyor (kapillerlerde seyreklik?)
Trombosit agregasyonunda şüpheli artış	Trombosit ve eritrosit agregasyonunda ve viskozitede artma
Artmış istirahat damar direnci	Normal istirahat damar direnci
Vazodilatörlere cevap korunmuş	Vazodilatörlere yanıt azalmış
Genç erkek sigara içen hastalar sıklıkla daha fazla	Postmenopozal kadınlarda daha fazla
Klinik başvuru: unstabil anjina	Klinik başvuru: stabil anjina, major kardiyak olaylar az ama hayat kalitesi azalmış
Prognoz: tekrarlayan göğüs ağrısı ve bazen ciddi sonlanım	Spontan veya provake anjinada iskemiye yansıtan ST depresyonları

1.3.5. Sekonder Koroner Yavaş Akım

Primer (idiopatik) olarak tanımlanan durumdan farklı olarak sekonder koroner yavaş akım akut koroner sendromlarda saptanan veya uygulanan trombolitik tedaviye bağlı embolizasyon sonrası, girişim sonrası, ani intrakaviter basınç artması sonrası, spazm sonrası, hava embolisi veya bağ dokusu hastalıklarında saptanabilen yavaş akımlar vardır (50).

Tablo 3. Sekonder koroner yavaş akım mekanizmaları

Koroner ektazi:	Azalmış koroner akım hızı
Koroner spazm:	Artmış epikardiyal direnç
Koroner stenoz:	Artmış epikardiyal direnç
Emboli:	Mikrovasküler tıkanma
Akut miyokard infarktüsü:	Reperfüzyon hasarı
Konnektif doku hastalığı:	Azalmış reoloji
Miyokardiyal disfonksiyon:	Azalmış basınç kuvveti
Kardiyak kapak hastalığı:	Artmış LVED basıncı

1.3.6. Koroner Yavaş Akımda Tedavi

Koroner yavaş akım fenomeninin tedavisinde, üstünde uzlaşıya varılan ve klasikleşmiş bir tedavi modalitesi yoktur. Fakat tedavisinde antiiskemik ve endotel disfonksiyonuna yönelik tedavi yapılır. Platelet sayısında değişiklik olmadan plateletlerde şekil bozukluğu olması ve MPV’de (mean platelet volum) artma olması platelet reaktivasyonuna ve agregasyona neden olduğundan antiagregan ilaç verilebilir (51). Kurtoğlu ve ark. (8), koroner yavaş akımda mikrovasküler direncin arttığından yola çıkarak vazodilatasyon yapan oral dipridamol tedavisinin etkili bir şekilde hastaların yakınmalarını azalttığı ve anjiyografik düzelme sağladığını göstermişlerdir. Demirkol ve ark. (52) ise dipridamolün bu etkisinden yola çıkarak koroner anjiyografisinde yavaş akım saptanan 60 hasta ile çalışma yapmışlar, bunların 17’sinde egzersiz miyokard perfüzyon sintigrafisinde (MPS) reperfüzyon defekti saptamışlardır. İskemik olarak değerlendirilen KYA’lı hastalara dipridamol ile MPS yapmışlar ve 17 kişinin hepsinde de perfüzyonun düzeldiğini göstermişlerdir.

Bu hastalarda rutin onaylanmış bir tedavi olmamasına rağmen, antiiskemik tedaviye ilaveten statinler, antiinflamatuvar ve antitrombotik pleotropik etkileri nedeni ile endotel fonksiyonlarını düzeltmek amacıyla verilebilir. Giderek artan çalışmalar statinler ile kardiyovasküler olaylarda azalma sağlandığını göstermektedir. Buna göre, statinlerin farmakolojik temeli nedeniyle yavaş koroner akım sendromlu hastalar için faydalı olabileceği düşünülmüştür (53).

1.4. İnsan Serum Paraoksonazları (PON)

Paraoksonaz, ilk olarak 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından *p*-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat’ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir. A grubu arildialkilfosfataz sınıfı ester hidrolaz enzimidir. Serum aktivitesinin ve substrat afinitesinin değişken olduğu gösterilmiştir (54). 1965 yılında, Ooms A.J. ve Boter H.L. tarafından, paratyon ve paraokson hidrolizindeki stereospesifikliği ile tanımlanmıştır (55). 1973’te bir grup Alman araştırmacı, ilk insan serum paraoksonazını genetik olarak saptamışlar ve jel filtrasyon kromatografi yöntemi ile iki fraksiyona ayırmışlardır. Birinci fraksiyonun yüksek molekül ağırlıklı olup EDTA ile inhibe olduğunu (arilesteraz aktivitesi olanlar) ve ikinci fraksiyonun ise albumine bağlı olup EDTA ile kısmen inhibe olduğunu göstermişlerdir (56).

Paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksone yüksek derecede seçicilik gösterdiği için, paraoksonaz olarak adlandırılmıştır. 1985'lere kadar paraoksonazın nörotoksik olan organofosfatlar üzerine etkisi incelenmiş, saflaştırılması yapılmış ve detoksifikasyondaki rolü araştırılmıştır (57). 1985 yılında Mackness M.I. ve ark. (58), ilk olarak koyun ve insan serumlarında HDL-ayırımı için santrifüj rotorunu geliştirirken, HDL-kolesterol ayırımı esnasında lipoprotein fraksiyonunda arilesteraz aktivitesine rastlamışlardır. Bu arilesteraz aktivitesinin daha önce saptanamaması daha önce kullanılan yöntemlerin verimliliğinin az olmasına bağlanmıştır. Arilesteraz aktivitesinin iki tür arasında farklı olduğu görülmüş HDL'nin farklı türler arasında arilesteraz aktivitesinin farklı olduğu sonucuna varılmıştır. 1988 yılında yine Mackness M.I. ve ark. (59), serumda arilesteraz aktivitesi gösteren ve organofosfatları detoksifiye eden bir lipoprotein olduğunu ve bunun Apolipoprotein A-I olduğunu bulmuşlardır. Apo A-I'in HDL üzerinde aktivite gösterdiğini, farklı izoformlarının olduğunu ve bunların sonucunda farklı arilesteraz aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir.

1.4.1. PON (paraoksonaz) Genleri

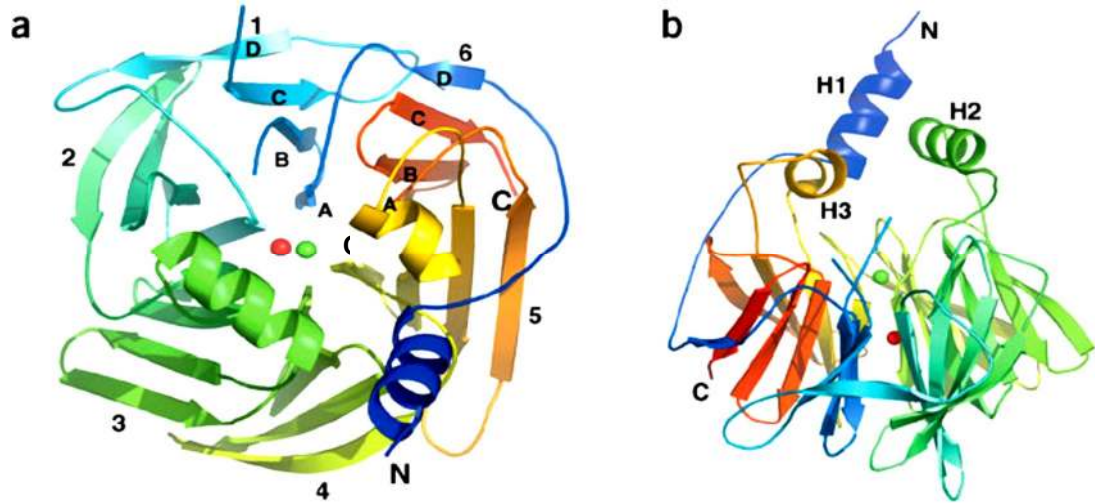
Paraoksonaz gen ailesi insanda HUMPONA olarak da isimlendirilir ve 7. kromozomun uzun kolunda q21.3 ve q22.1 arasında lokalize PON 1, PON 2, PON 3'ten oluşmaktadır (13). PON 1 ve PON 3 karaciğerde üretilirken PON 2'nin arter duvarı da dahil birçok hücre ve doku tipinde üretildiği gösterilmiştir. PON 1 ve PON 3 serumda HDL ile beraber bulunurken PON 2 intraselülerdir. PON 2'nin de antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olduğu ve LDL oksidasyonunu engelleyerek ateroskleroza önlediği gösterilmiştir (60). Genelde PON 1 üzerinde durulmuştur fakat son yıllarda PON 2 ve PON 3'ün de organofosfatları hidrolize etmek, LDL'yi oksidasyondan korumak, bakteriyel endotoksinleri nötralize etmek gibi önemli fizyolojik faydalarının olduğu görülmüştür (61).

Ortak gelişimsel prokürsörün gen duplikasyonundan oluştuğundan benzer yapısal özellikleri paylaşırlar. Aynı memeli türü verilerine göre PON 1, PON 2, PON 3 aminoasit düzeyinde % 60, nükleotid düzeyinde % 70 benzerlik gösterirler. Memeli türleri arasında bu üç genden her biri aminoasit düzeyinde %70-90, nükleotid düzeyinde %81-91 benzerlik göstermektedir. PON 1'de 106. kodonda lizin bulunurken, PON 2 ve PON 3'te lizin bulunmamaktadır (13, 17).

1.4.2. Paraoksonaz 1 (PON 1) Yapısı ve Genel Özellikleri

Saflaştırılmış insan serum PON1'i, 43 kDa moleköl ağırlığında, 354 aminoasitten oluşan karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Üç kardonhidrat zinciri içerir bu total ağırlığının %15,8'idir. İzoelektrik noktası 5,1'dir (62). PON1, pervane şeklinde yerleşmiş ve herbiri 4 sıradan oluşan 6 adet β tabakadan meydana gelmiştir. PON1'in yapısında 3 tane hidrofobik heliks yapısı (H1, H2 ve H3) vardır. Yüksek miktarda lösin içerir. Yapısındaki üç sistein aminoasidinden 284. pozisyondaki serbesttir ama diğer ikisi (Cys 42-352) arasında disülfid bağı bulunur. Yapısındaki serbest sistein substratın tanınması ve bağlanması için gereklidir (63, 64).

Josse ve ark. yaptıkları çalışmada PON 1'deki kalsiyumun yerine terbiyum bağlamıştır ve bu PON 1'in aktivitesini tamamen kaybetmesine neden olmuştur. Sonuç olarak PON 1 aktivitesi için kalsiyum gereklidir. Üç boyutlu yapıda β -tabakaların merkezinde aralıklı iki adet kalsiyum iyonu bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup yapıdan uzaklaştırılması, tersinmez denatürasyona neden olmaktadır. Diğerisi ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur (64, 65).



(a) 6'lı β pervane yapısının üstten görünümü. N, C terminali ve merkezde 2 kalsiyum iyonu (b) 6'lı β pervane yapısının yandan görünümü. H1, H2, H3 helixlerinin görünümü

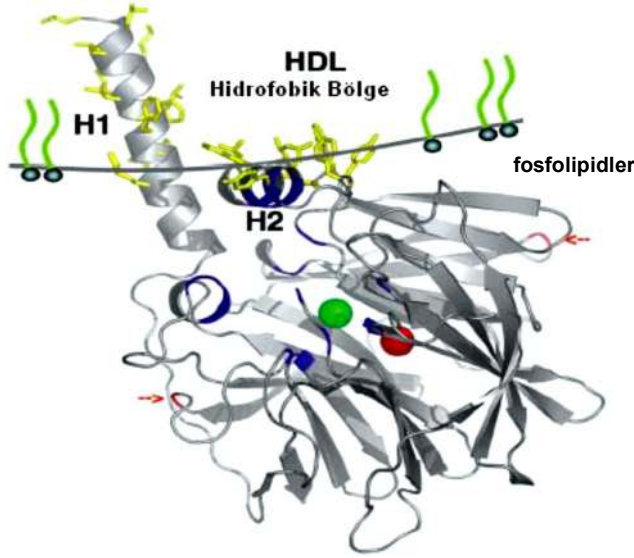
Şekil 11. PON1 proteininin üç boyutlu yapısı

Paraoksonaz 1 serumda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) üzerinde yer alır. PON 1 üzerinde çeşitli polimorfizmler görülebilir. Fakat bu polimorfizmler PON 1'in organofosfatlı pestisitlerin toksik okson metabolitlerini, bazı karbamatları, aromatik ve alifatik laktonları, aromatik esterleri ve okside lipidleri hidrolizlemesini engellemez. PON 1 geniş bir substrat spektrumuna sahiptir (66). PON 1, Apo A-I ile

stabilize olup HDL'ye N-terminal bölgesi ile bağlanır. Karaciğerden kana salgılanması sırasında amino ucundan sadece metiyonin aminoasiti uzaklaştırılır; amino ucunun geri kalanı (hidrofobik N-terminal bölgesi) PON 1'in HDL'ye bağlanması için gereklidir. PON 1'in fizyolojik fonksiyonları için N-terminal bölgesi ve Apo A-I şarttır (67). Kanda tamamen HDL'ye bağlı olarak bulunan PON 1, insan kanında litrede 50 mg kadar bulunur (68). En yüksek aktivitenin belirlendiği kan dışında karaciğer, böbrek, bağırsak, beyin gibi dokularda da PON 1'e rastlanmıştır. PON 1'de meydana gelen değişiklikler onun organofosfatlara etkisini veya antiaterojenik özelliğini etkiler (69).

Serum PON 1 aktivitesi, yeni doğan ve prematüre infantlarda erişkin düzeyin yarısı kadardır. Her ne kadar erişkin düzeylerine doğumdan bir yıl sonra ulaşsa da yapılan çalışmaların çoğunda ileri yaşta yaşla beraber PON 1 aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Serumdaki PON 1 düzeyi ve aktivitesi bireyler arasında çok değişkendir. Bunun bir nedeni PON 1 geninin polimorfizm göstermesidir. Bir diğer faktör ise beslenme şeklidir. Proaterojenik diyet PON 1 aktivitesini azaltırken flavonoid antioksidanların enzim aktivitesini %20 arttırdığı gösterilmiştir. Sigara içiminin PON 1 derişimi ve aktivitesini azalttığı ve bu etkisinin geri dönüşümsüz olduğu saptanmıştır (70, 71).

Toksik organik molekülleri hidroliz etmesi, PON 1'in tanımlanan ilk fizyolojik fonksiyonudur. Önceleri organofosfat bileşiklerini hidroliz etme (detoksifikasyon) özelliği nedeniyle toksikoloji alanında üzerinde çalışılan PON 1, son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır. PON 1'in belirlenen ikinci önemli fonksiyonu antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır. Serum PON 1 plazmada HDL ile birlikte bulunur. HDL'den saflaştırılan PON 1, olgun HDL ile aynı antiaterojenik etkiye sahip olduğundan HDL'nin lipit peroksidasyonunu önlemedeki etkisinden PON 1 sorumludur (72, 73).



Şekil 12. PON 1'in HDL'ye bağlanması. H1 ve H2 helikslerinin HDL ile etkileşimi

Olgun PON 1, N-terminal hidrofobik sinyal dizisine sahiptir. PON 1 salınımindan önce N-terminal bölge çıkarılmış ve mutant-PON 1'in HDL'ye bağlanamadığı gösterilmiştir. PON 1'in HDL'deki fosfolipitlere hidrofobik N-terminal sinyal dizisi ile bağlanır ve PON 1 aktivitesinin stabilizasyonundan Apo A-I sorumludur (67).

1.4.3. PON 1 Fonksiyonları, Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları

Paraoksonaz 1'in en iyi bilinen ve ilk bulunan koruyucu fonksiyonu, organofosfat sinir ajanlarını, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisidleri hidroliz etme yeteneğidir. Adını da zaten en çok kullanılan substratı olan paraoxon'dan almıştır. Organofosfatlı bileşikler terörizm tehdidi kadar bir çevresel risk de oluştururlar. PON 1 enziminin çok yönlü bir araştırma konusu olmasının en önemli nedenlerinden biri budur (69). Paraoksonaz enziminin substratları çok fazladır, fizyolojik substratı tam olarak belirlenmemiştir.

Paraoksonaz 1'in bilinen fosfotriesteraz aktivitesi yanında yapılan çalışmalarda, PON 1'in doğal aktivitesinin laktonaz olduğunu bildirilmiştir. Lipofilik laktonları hidrolize ettiği için Ca-bağımlı lipofilik laktonaz olarak tanımlanmaktadır. PON 1 özellikle LDL ve HDL lipidlerinin okside olmasını önleyerek, HDL ve LDL'de 5'hidroksi eikozotetraenoikasit lakton gibi yağ asidi oksidasyon ürünlerini metabolize ederek ateroskleroza karşı koruyuculuğunu sahip olduğu laktonaz aktivitesi ile göstermektedir (74). PON 1 enziminin laktonaz aktivitesi için 284. rezidüde bulunan serbest sistein amino asiti oldukça önemlidir. Bu serbest sistein

rezidüsü alanin ile yer değiştirilmiş oluşan mutant PON 1'in (C284A) laktonaz aktivitesi ciddi düzeyde azalmıştır. PON 1'in laktonaz aktivitesinden bu serbest sistein sorumludur PON1'in sahip olduğu laktonaz aktivitesi aracılığıyla LDL ve HDL fosfolipitlerinin oksidasyona karşı koruduğu dūřünölmektedir (75).

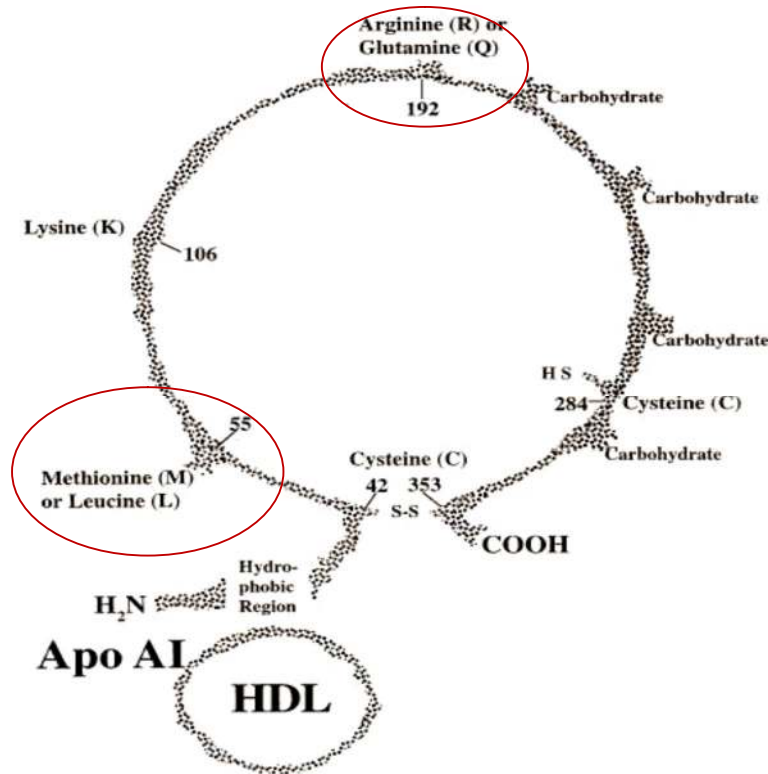
Paraoksonaz 1'in doğal substratlarından biri de homosistein tiyolaktondur (HcyT). Homosistein proaterojenik bir aminoasittir, kardiyovasköler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür. Ancak bu aminoasidin ateroskleroz gelişimini nasıl artırdığının mekanizması henüz bilinmemektedir. Homosisteinin serbest lizin aa gruplarının N-homosisteinizasyonu ile HcyT oluşur. PON 1 ise HcyT'nin homosisteine hidrolizini sağlar. Özellikle LDL'nin apo B 100 proteininin homosisteinlenmesinin, LDL'yi oksitlenmeye daha duyarlı hale getirdiği ve makrofajlar tarafından alımını artırdığı gösterilmiştir (76). Buradan PON1'in bağımsız iki antiaterosklerotik etkisinin olduğunu söyleyebiliriz: birincisi LDL'de okside olmuş lipidleri ortadan kaldırmak ve LDL oksidasyonunu önlemek, ikincisi HcyT'nin detoksifikasyonu gerçekleştirmektir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	Ala	Lys	Leu	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Val	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	Leu	15
16	Tyr	Lys	Asn	His	Arg	Ser	Ser	Tyr	Gln	Thr	Arg	Leu	Asn	Ala	Phe	30
31	Arg	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Asp	Leu	Pro	Asn	Cys	Thr	Leu	Val	Lys	45
46	Gly	Ile	Glu	Ala	Gly	Ala	Glu	Asp	Leu	Glu	Ile	Leu	Pro	Asn	Gly	60
61	Leu	Thr	Phe	Phe	Ser	Thr	Phe	Leu	Lys	Tyr	Pro	Gly	Ile	Lys	Ser	75
76	Phe	Asp	Pro	Ser	Lys	Pro	Gly	Lys	Ile	Leu	Leu	Met	Asp	Leu	Asn	90
91	Glu	Lys	Glu	Pro	Ala	Val	Ser	Glu	Leu	Ala	Ile	Met	Gly	Asn	Thr	105
106	Leu	Asp	Met	Ser	Ser	Phe	Asn	Pro	His	Gly	Ile	Ser	Thr	Phe	Ile	120
121	Asp	Glu	Asp	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Leu	Val	Val	Ser	His	Pro	Asp	135
136	Ser	Ser	Ser	Thr	Val	Glu	Val	Phe	Lys	Phe	Gln	Glu	Glu	Glu	Arg	150
151	Ser	Leu	Leu	His	Leu	Lys	Thr	Ile	Thr	His	Glu	Leu	Leu	Pro	Ser	165
166	Ile	Asn	Asp	Ile	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Glu	Ser	Phe	Tyr	Ala	Thr	180
181	Asn	Asp	His	Tyr	Phe	Ala	Asp	Pro	Tyr	Leu	Arg	Ser	Trp	Glu	Met	195
196	Tyr	Leu	Gly	Leu	Ser	Trp	Ser	Asn	Val	Val	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Asp	210
211	Lys	Val	Arg	Val	Val	Ala	Asp	Gly	Phe	Asp	Phe	Ala	Asn	Gly	Ile	225
226	Gly	Ile	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys	Tyr	Val	Tyr	Ile	Ala	Glu	Leu	Leu	240
241	Ala	His	Lys	Ile	His	Val	Tyr	Glu	Lys	His	Ala	Asn	Trp	Thr	Leu	255
256	Thr	Pro	Leu	Lys	Val	Leu	Ser	Phe	Asp	Thr	Leu	Val	Asp	Asn	Ile	270
271	Ser	Val	Asp	Pro	Val	Thr	Gly	Asp	Leu	Trp	Val	Gly	Cys	His	Pro	285
286	Asn	Gly	Met	Arg	Ile	Phe	Phe	Tyr	Asp	Ser	Glu	Asn	Pro	Pro	Gly	300
301	Ser	Glu	Val	Leu	Arg	Ile	Gln	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Asp	Pro	Lys	315
316	Val	Thr	Val	Val	Tyr	Ala	Glu	Asn	Gly	Thr	Val	Leu	Gln	Gly	Thr	330
331	Thr	Val	Ala	Ala	Val	Tyr	Lys	Gly	Lys	Leu	Leu	Ile	Gly	Thr	Val	345
346	Phe	His	Arg	Ala	Leu	Cys	Cys	Tyr	Leu							

Şekil 13. PON 1 geninin aminoasit dizilimi. 55 ve 192 pozisyonlarında polimorfizimden sorumlu aminoasitler.

1.4.4. PON 1 Geninin Polimorfizmi

Epidemiyolojik ve moleküler çalışmalarda PON 1 geninin kodlanma bölgesinde, intronlarda ve genin düzenleyici yani promoter bölgesinde toplamda 160'dan fazla polimorfizm tespit edilmiştir. PON 1 geninin kodlanma bölgesindeki 55. ve 192. pozisyonlarda kendiliğinden olan iki önemli genetik polimorfizm gösterilmiştir. 55. pozisyonundaki polimorfizm lösin(L) yerine metionin(M) geçmesi ile oluşmaktadır (PON 1-L55M). 192. pozisyonundaki polimorfizm ise glutamin(Q/A genotipi) yerine arginin(R/B genotipi) geçmesi ile oluşmaktadır (PON 1-Q192R). 192. pozisyonunda glutamin bulunan (Q/A genotipi) homozigot bireylerde paraoksonaz aktivitesi düşük, arginin bulunan (R/B genotipi) homozigot bireylerde aktivite yüksek ve heterozigot bireylerde ise orta düzeyde aktivite görülmüştür. En yaygın olanı homozigot (QQ), ikincisi heterozigot (QR) ve en az olanı homozigot (RR)'dir. Bu polimorfizmin de PON 1 konsantrasyonunu etkilediği tespit edilmiş, homozigot RR genotipine sahip kişilerde, homozigot QQ genotipine sahip kişilere göre PON 1 konsantrasyonunun daha yüksek, heterozigot QR genotipine sahip kişilerde orta düzeyde PON 1 konsantrasyonu olduğu bulunmuştur (66, 77).

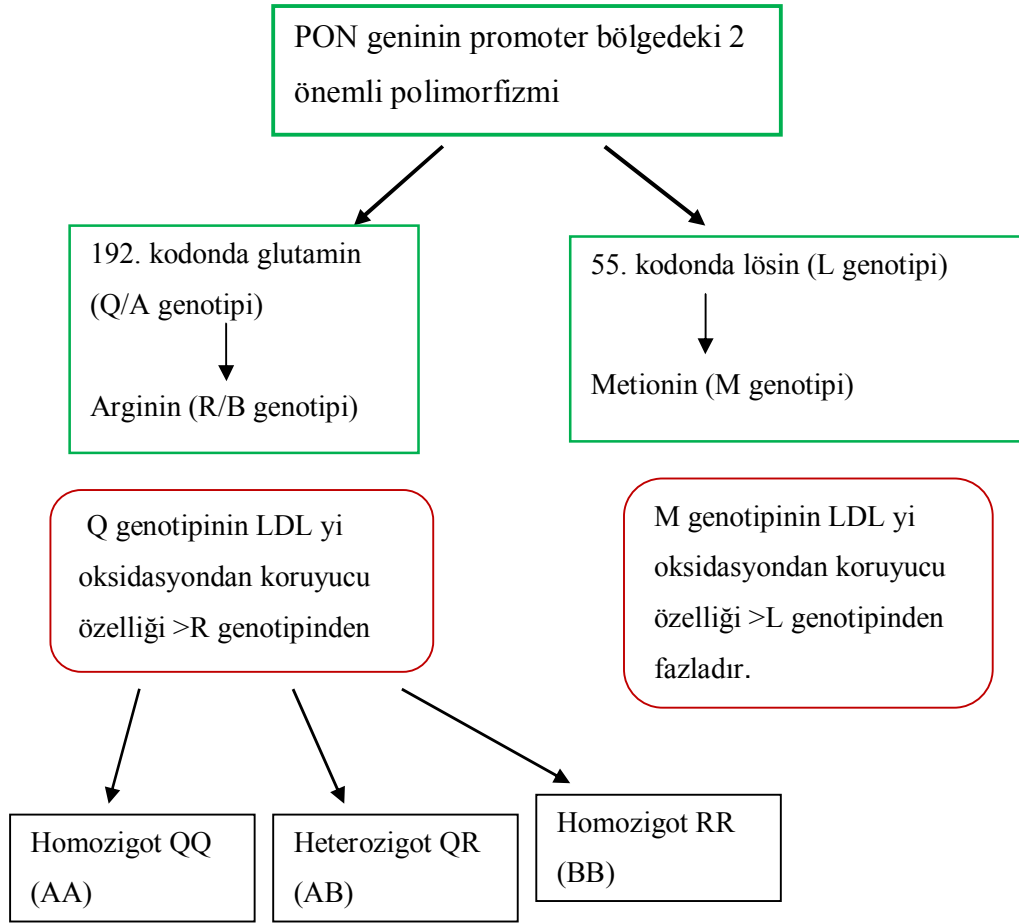


Şekil 14. PON1 enzimi gen polimorfizmleri

Paraoksonaz polimorfik dağılımı büyük interetnik değişim göstermektedir. Türk popülasyonunda RR allel oldukça düşük bir oranda bulunmuştur (78). PON 1'in kodlanma bölgesindeki diğer bir polimorfizm 102. kodonda izolösinden valine olan değişimdir. PON 1'in promoter bölgesinde 5 tane polimorfizm tespit edilmiştir. Bunlardan plazma PON 1 seviyesini etkileyen en önemli olanı C108T polimorfizmidir (79).

Yüksek seviyedeki PON 1'den saflaştırılmış PON 1-192RR ve PON 1-55LL'nin paraokson hidrolitik aktivitesi en yüksekken, PON 1-192QQ ve PON 1-55MM'de bu aktivite en düşüktür. R allelin kodladığı proteinin paraokson hidroliz aktivitesi Q allele göre sekiz kat yüksektir. Aktivitenin ara basamağı homozigotlardır (80). Substrat spesifitesinin benzer basamakları metil paraokson, klortion-okson gibi diğer oksonlarda ve arminde gözlenebilir. Diğer yandan paraoksonaz alloenzimlerin oksidasyondan LDL'yi koruma kapasitesi paraokson hidrolitik aktivitesi ile tamamen terstir. Böylece, PON 1-55MM / PON 1-192QQ alloenzim bulunan bireylerin HDL ve PON 1 ile ilişkili olarak oksidatif strese karşı en büyük koruma kapasitesine sahip olmalarının yanında, bu alloenzimler diazoxon ve somon ve sarin gibi sinir gazlarını hidroliz etmede de aktif rol üstlenirler (81, 82).

PON 1-Q192R polimorfizmiyle koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda PON 1-192 RR genotipinin koroner kalp hastalığında daha yüksek bir sıklıkla mevcut olduğu gösterilmiştir. Bu da PON 1-Q192R gen polimorfizminin aterosklerozda bir risk faktörü olabileceği varsayımına yol açmıştır (83, 84). PON 1-L55M polimorfizmi ile koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki daha az çalışılmış ve yine çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (85).



Şekil 15. PON geninin iki önemli polimorfizmi

1.4.5. PON 1'in Önemi

Toksik organik molekülleri hidroliz etmesi, PON 1'in tanımlanan ilk fizyolojik fonksiyonudur. Önceleri orgonafosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliği nedeniyle toksikoloji alanında üzerinde çalışılan PON 1, son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır (69). PON 1'in belirlenen ikinci biyolojik fonksiyonu antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır.

Serum PON 1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede rolü vardır. Peroksidasyona uğramış olan lipitler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden, lipit peroksitlerin hem HDL'de hem de LDL'de birikimi önlenir. Bu özelliği nedeniyle, HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisinden PON 1 sorumludur.

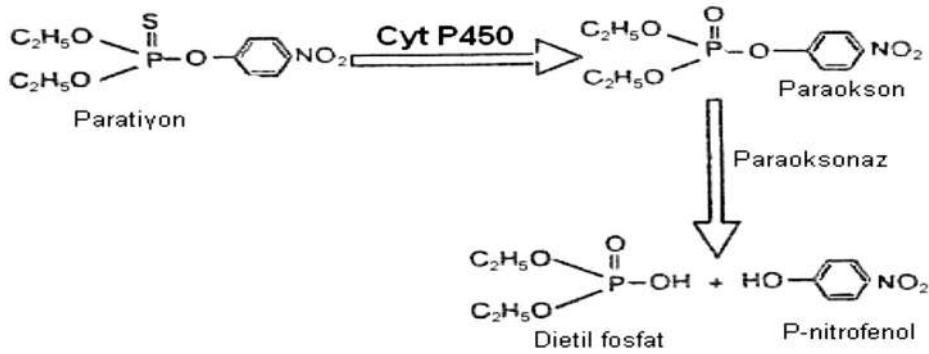
Bu enzimin plazmada her zaman HDL ile birlikte bulunmasının HDL'nin antiaterojenik etkilerine önemli katkısı vardır. PON 1'in antioksidan enzim olması

nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, sepsis, Alzheimer ve Parkinson gibi pek çok hastalığın gelişmesine karşı koruyucu rol oynayabileceği düşünülmektedir.

1. Hidrolitik aktivite; Organofosfatlara karşı koruma:

Paraoksonazın arterosklerozisin önlenmesindeki önemli fonksiyonlarından biri organofosfatlara (OP) karşı koruma sağlamasıdır. Organofosfat (OP) bileşikleri, tarımda pestisit olarak ürün verimini arttırma ve veteriner ilaçları yapımında kullanılan fosforik asitlerin triesterleridir. OP'lerin etki mekanizması sinir sistemi içerisindeki asetilkolinesteraz inhibisyonu ile ilişkilidir. Asetilkolinesteraz merkezi, somatik ve parasempatik sinir sistemindeki asetilkolinleri ve önemli nörotransmitterleri hidroliz eden bir enzimdir. Paraoksonda asetilkolinleri yıkan kolinesterazların potent inhibitörüdür, ardışık nöron uyarılması ile sinaptik bileşkelerde asetilkolin birikimine yol açar. Memelilerde karaciğerdeki detoksifikasyondan kaçan herhangi bir okson organofosfat etki alanına ulaşmadan önce kanda serum PON1 enzimiyle hidroliz edilebilir. Bu enzimin inhibisyonu ile OP zehirlenmeleri ve sinir sisteminde bozukluklar meydana gelir (86).

İnsan serum paraoksonaz enzimi ayrıca paration, diazinon ve klorpirifos gibi çok sayıda insektisit toksik okson metabolitlerini hidrolizleyebilmektedir (87).



Şekil 16. Paraoksonun enzimatik hidrolizi

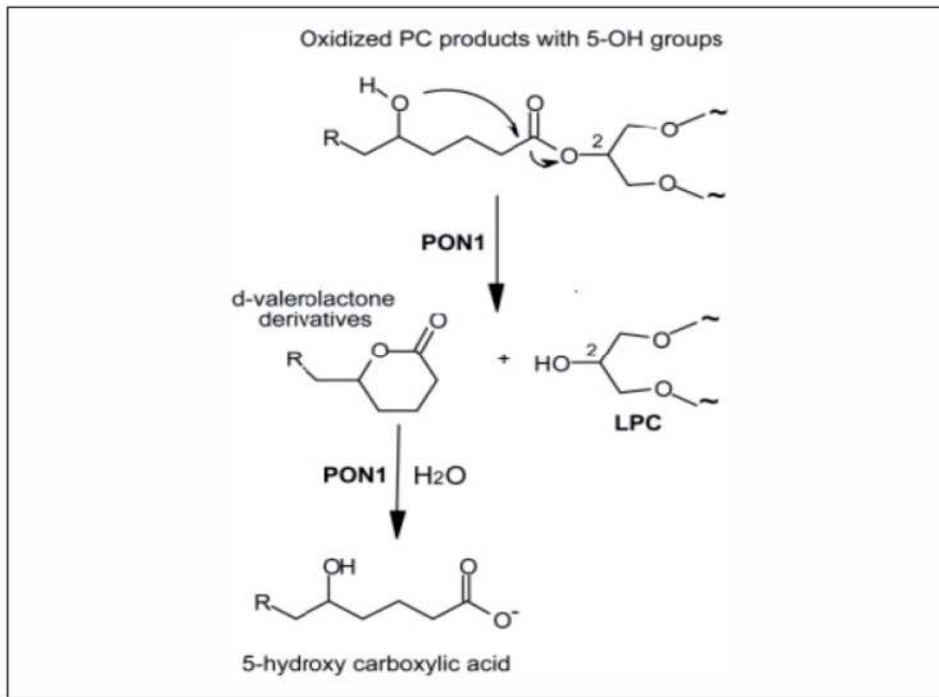
2. Lipopolisakkarid inaktivasyonu; Bakteriyel endotoksinlere karşı koruma:

İnsan serumunda HDL de bulunan bir proteinin bakteriyel lipopolisakkaritleri inaktive ederek toksik semptomları önlediği saptanmıştır. Lipopolisakkarit inaktivasyonu immunolojik olmaktan çok enzimatik bir reaksiyondur. Bu reaksiyondan sorumlu enzimin PON 1 olduğu saptanmıştır. HDL kompleksinin endotoksin toksisitesine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Gram

negatif bakteriyel enfeksiyon sırasında endotoksemi gelişimine karşı korumayı bir ölçüde sağlar.

3. Oksidatif veya peroksidatif aktivite; LDL oksidasyonunun önlenmesi:

Paraoksonaz 1, LDL oksidasyonu üzerinde HDL'nin koruyucu etkisinden sorumlu HDL ana bileşenidir. HDL, antioksidan ve antiinflamatur özelliklere sahiptir ve LDL oksidasyonunu buna bağlı olarak da arterosklerozisi geciktirir. Paraoksonaz arterosklerozise karşı koruyuculuğunu sahip olduğu laktonaz aktivitesi ile göstermektedir. Enzim 4 atomdan 7 atoma kadar değişen lakton halkası ihtiva eden en az 30 çeşit laktonu hidrolizleyebilmektedir (75).



Şekil 17. Laktonizasyon. Okside fosfolipitler PON1 tarafından laktonize edilerek LPC ve valerolakton ürünleri oluşur (laktonizasyon). Valerolakton ise PON1 tarafından 5- hidrokarboksilik asite indirgenir (laktonaz aktivitesi).

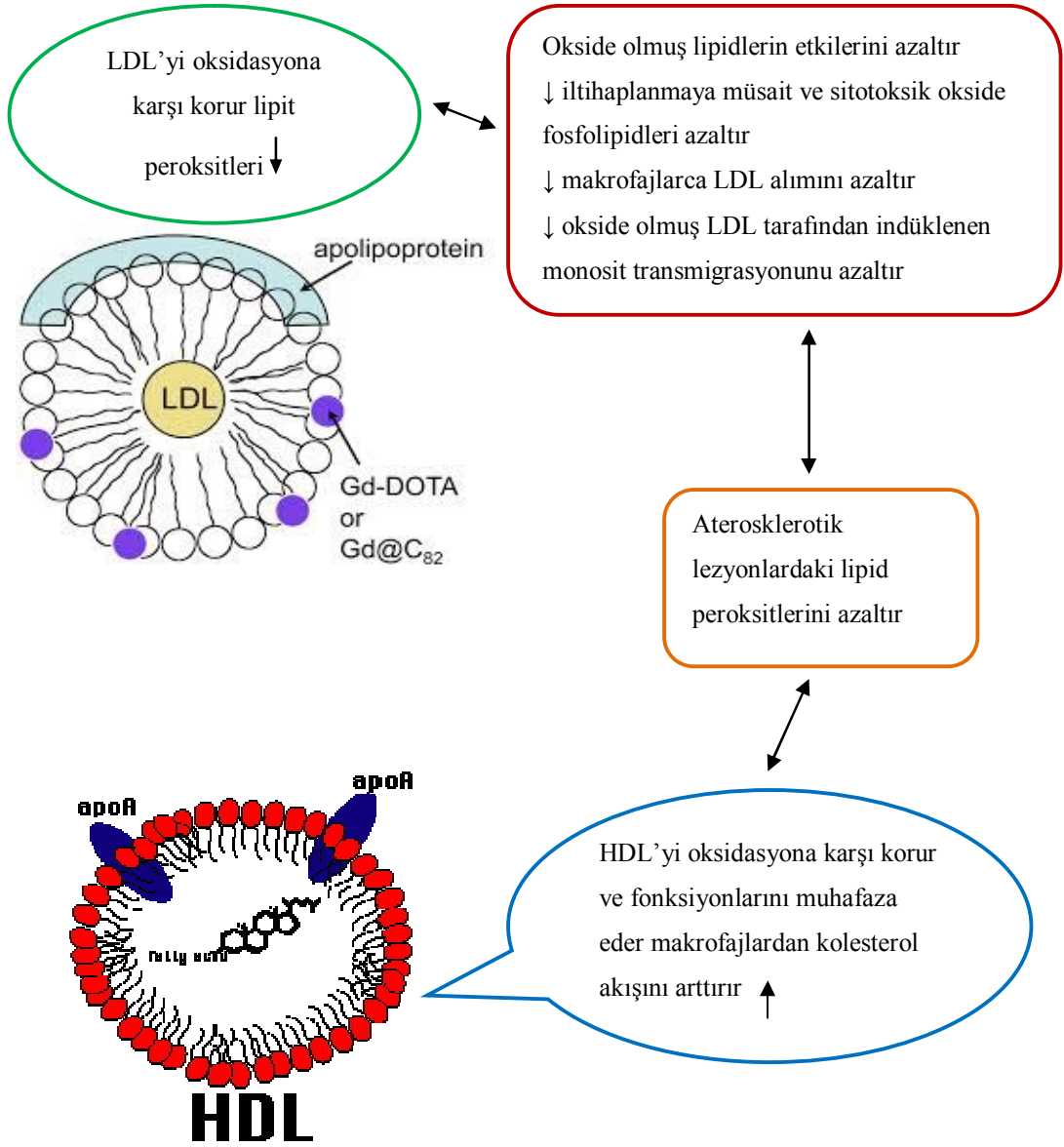
1.4.6. Koroner Arter Hastalığı ve PON 1

Serum PON 1'inin ateroskleroz sürecinin başlangıç evresinde LDL fosfolipidlerini oksidasyona karşı korumada önemli olduğu ilk olarak 1991 yılında Mackness M.I ve ark. (72), tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir. PON 1'in LDL'nin yanı sıra HDL'yi de oksidasyondan koruduğu ve böylece makrofajlardan kolesterol çıkışını artırdığı gösterilmiştir. Bu durum makrofajlarda kolesterol

birikimin engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve aterosklerozun gelişimini yavaşlatmaktadır (88).

PON 1-Q192R ve PON 1-L55M polimorfizimleri ile koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli çalışmalar yapılmış fakat çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmaların bazılarında PON 1-Q192R gen polimorfizminin aterosklerozda bir risk faktörü olabileceği varsayımına ulaşılmıştır (83, 89-91).

Ayub A ve ark. (92) ise, serum PON 1 aktivitesinin ve konsantrasyonunun miyokard enfarktüsü belirtilerinin başlamasından sonraki 2 saat içinde azaldığını, PON 1 düzeyinin miyokard enfarktüsü sonrasındaki 42 gün boyunca akut faz reaksiyonu geçmiş olduğu halde değişmediğini göstermiş ve PON 1 aktivitesindeki bu azalmanın akut olgunun öncesinde mevcut olabileceğini bildirmişlerdir. Tüm bu verilere ek olarak, ateroskleroza yatkınlık oluşturan beslenmenin tavşanlarda, farelerde ve insanlarda PON 1 düzeyini azalttığı gösterilmiştir. Koroner kalp hastalığı olan kişilerde arttığı gösterilen ve PON 1'in substratı olan lipit peroksitler aynı zamanda PON 1'in inhibitörüdür. Sonuç olarak PON 1 aktivitesinin düşük oluşundan, koroner kalp hastalığında yaygın olan çevresel faktörler, PON 1-M55L ve PON 1-Q192R polimorfizimleri gibi genetik faktörlere göre daha fazla sorumlu olabilir denmektedir (93, 94).



Şekil 18. PON 1'in antiaterojenik etkileri

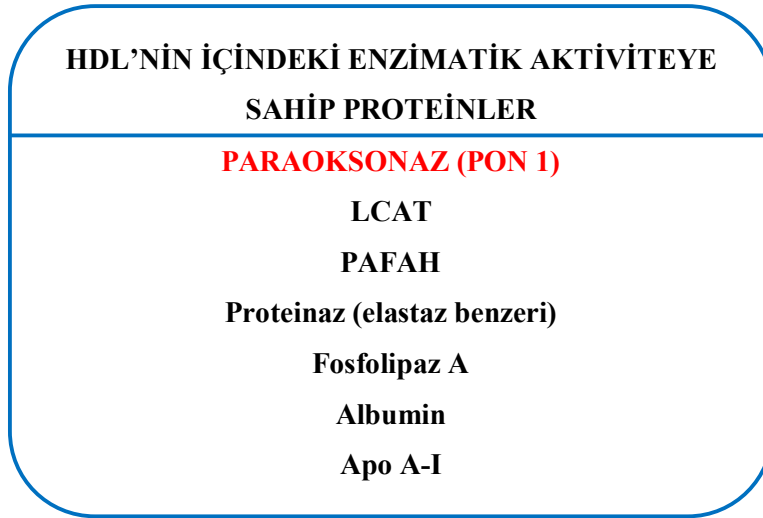
1.4.7. HDL (Yüksek Dansiteli Lipoprotein) ve PON 1

Son yıllarda yapılan çalışmalar, HDL'nin üzerinde bulunan Ca^{+2} 'a bağlı enzim olan paraoksonazın, okside olmuş lipidlerin metabolizmasında ve arterosklerozdan korumada önemli fizyolojik rolü olduğu yönündedir. Mackess, serum PON'un arteroskleroz sürecinin başlangıç evresi olan LDL fosfolipitlerinin oksidasyonuna karşı korunmasında önemli olduğunu ilk gösteren araştırmacıdır (95).

İn vivo serum PON 1 HDL'ye bağlı olduğu için başlıca görevi HDL'yi oksidatif stresin zararlı etkilerinden korumaktır. Bu nedenle, birçok çalışma HDL

bağımlı PON 1'in yalnız LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL oksidasyonunu da (geçiş metal iyonları ve serbest radikalleri aracılığıyla oksidasyon indüklendiğinde) engellemektedir. Bu etki PON 1'in lipoprotein-kaynaklı peroksitlerini hidroliz edebilme özelliğine bağlıdır (96).

Paraoksonaz yalnızca lipoprotein kaynaklı peroksitleri (kolesteril linoleat hidroperoksitleri) hidroliz etmekle kalmaz, bunun yanısıra hidrojen peroksiti (H₂O₂) de hidroliz eder. PON 1 spesifik lipid peroksitleri hidroliz eder veya peroksitler için hedef görevi görür. H₂O₂, arteriyel duvar hücreleri tarafından aterogenez esnasında üretilen başlıca reaktif oksijen türüdür (ROS) ve oksidatif stres altında LDL oksidasyonuna neden olan daha potent ROS'a dönüşür (97). HDL kaynaklı PON1'in H₂O₂ (peroksitlerle beraber) hidroliz etmesi, aterosklerozda rol alan potent oksidanların eliminasyonunda önemlidir. Bu etki PON1'in peroksidaz benzeri aktivitesiyle ve HDL'nin antiaterojenik özelliklerine eşlik etmesiyle açıklanabilir (61).



Şekil 19. HDL içindeki enzimatik aktiviteye sahip proteinler

HDL'deki PAF-AH, LCAT gibi diğer enzimlere göre PON'un lipid peroksitleri hidroliz etmede daha güçlü olduğu bilinmektedir.

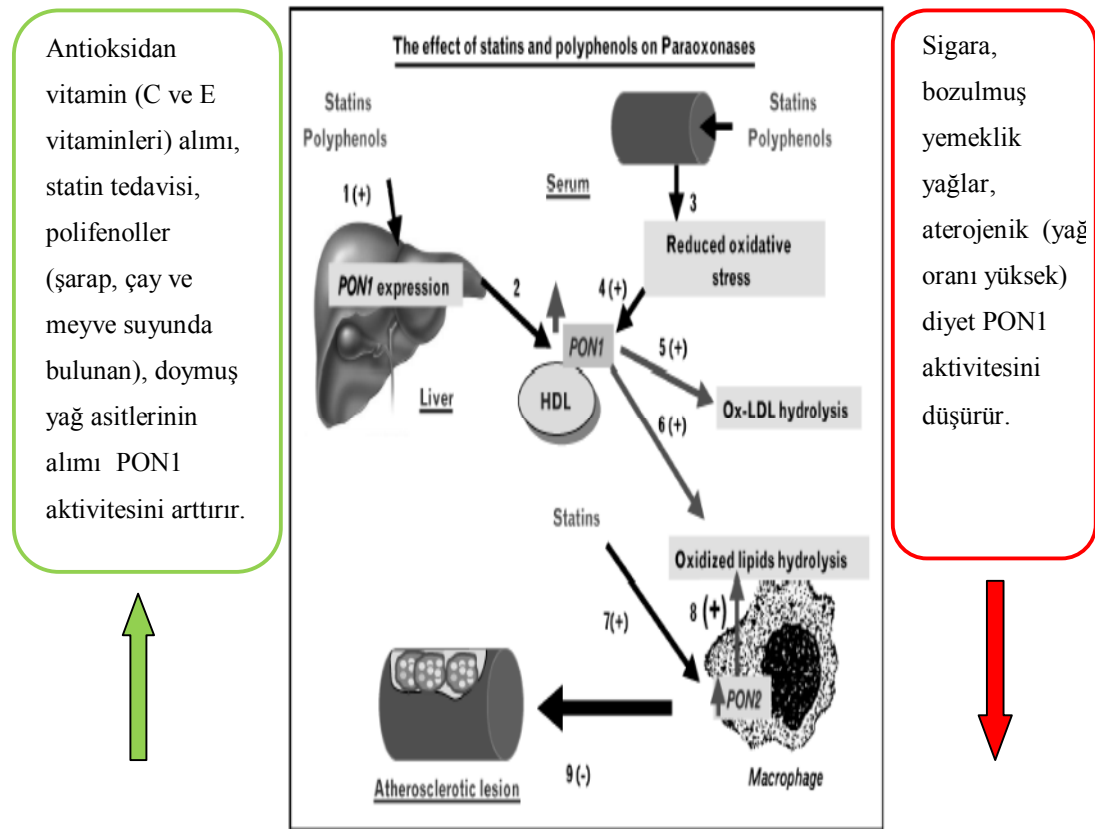
1.4.8. PON 1 Enziminin Regülasyonu

Serumdaki PON aktivitesi sadece polimorfizmlere bağlı değildir. PON'un KAH'dan koruması için genotip özelliğinin yanı sıra enzimatik aktivitesi de önemlidir. Diyet, yaşam tarzı, yaş, sigara gibi bir çok faktörden etkilenir. Sigara içiminin PON 1 derişimi ve aktivitesini azalttığı saptanmış fakat sigara içtiği halde

egzersiz yapanlarda PON 1 aktivitesinde değişiklik saptanmamıştır. PON 1 aktivitesi ile yaş arasındaki korelasyon sonucu yaşlı kişilerin gençlere göre HDL oksidasyonundan daha çok etkilendiği gösterilmiştir. PON 1 aktivitesi yaşla azalığı bilinmektedir (70).

Diyet de PON 1 aktivitesi etkileyen nedenler arasında gösterilmiştir. Doymamış-trans yağ asitleri PON 1 aktivitesini azaltırken, zeytinyağındaki oleik asit PON 1 aktivitesini arttırmıştır. Yani aterojenik diyet PON 1 aktivitesini azaltır (98).

Bazı çalışmalar göstermiştir ki polifenoller ve diğer antioksidanlar açısından zengin olan nar suyu PON1 aktivitesini insanlarda %20 arttırmıştır (99).



Şekil 20. PON 1'in regülasyonu

1.4.9. Koroner Yavaş Akım ve PON 1 Gen Polimorfizmleri

Koroner yavaş akım koroner anjiyografide koroner arterleri normal ya da normale yakın olanlarda anjiyografi sırasında distal vasküler yapılara opak madde ilerleyişinin yavaş olmasıdır. Bazı hastalarda saptanan KYA, opak maddenin yeterince kuvvetli verilememesine bağlı olabilir. Ancak, gerçek olgularda opak madde çok kuvvetli verilse bile normal anjiyografik görüntü elde edilemez. Kantitatif

sınıflaması için TIMI sınıflaması kullanılır. Anjiyoplasti sonrasında da sekonder koroner yavaş akım görülebilmektedir. Etyopatogenezinden endotel disfonksiyonu, vazokonstriksiyon, nörohumoral mediyatörler sorumlu tutulmuştur.

Koroner yavaş akım tanısı almış hastalarda sol ve sağ ventrikülden alınan biyopsilerde kapiller endotelinde kalınlaşma, lümen daralması, nükleusun normal morfolojisini kaybetmesi ve piknoz gibi küçük damar hastalığının histopatolojik bulguları gösterilmiştir (7, 100).

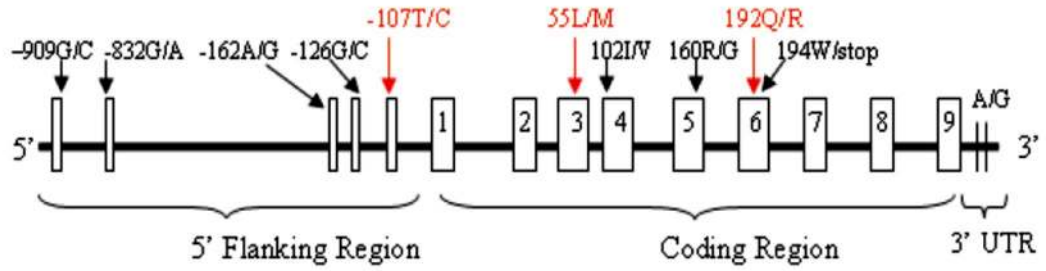
Yılmaz ve ark. (101), KYAF'ın aterosklerozun erken fazı olabileceğini düşünerek klinik özellikleri açısından KYAF olan hastaları incelediklerinde kontrol grubuna göre metabolik sendrom ve kriterlerinin KYA grubunda daha yüksek olduğunu bulmuşlar ve bu metabolik bozuklukların mikrovasküler düzeni bozduğunu öne sürmüşlerdir.

Çağlayan ve ark. (102), NO sentezinden sorumlu bir gen olan Glu298Asp polimorfizminde KYAF ve NKA'ı olan bireyler arasında istatistiksel önemli fark ve ilgi bulamayıp bu gen polimorfizminin KYAF için risk faktörü olmadığını söylerken, Nurkalem ve ark. (51), ise yine eNOS (endotelial nitrik oksit sentetaz) enzimini kodlayan genlerden olan (T-786C) polimorfizminin KYAF için risk faktörü olabileceğini öngörmüşlerdir.

Tüm bu çalışmalar koroner akımın fizyolojisinde geçerli olan ve akımın eksiksiz ve tam olarak sağlanmasında birbirleri ile korole olarak çalışan mekanizmaların KYAF'da nasıl bozukluklar ile kendilerini gösterdiğini ve oluşan bozukluğun KYAF ile ilgisini açıklamaya yönelik çalışmalardır. Ve tüm bu bulgular bize KYAF de endotel fonksiyonlarının gerçekten bozulduğunu gösterir.

Paraoksonaz 1 karaciğerden sentezlendikten sonra, serumda HDL'ye bağlı olarak bulunmaktadır. PON 1, ateroskleroz sürecinin başlangıç evresi olan LDL fosfolipidlerinin oksidasyonuna karşı korunmasında önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle antioksidan bir enzimdir. Arterioskleroz sürecinde arter duvar hücrelerince üretilen başlıca toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksitleride indirgeyebilmektedir. Daha önce de söz ettiğimiz bazı çalışmalarda KYA'nın aterosklerotik kalp hastalığının başlangıç aşaması olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle koroner yavaş akımda PON 1 geni ve gösterdiği polimorfizmlerin hastalığın etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Serum PON aktivitesi, çeşitli popülasyon gruplarının arasında ve aynı popülasyon içinde geniş varyasyonlar gösterir. Serum PON aktivitesindeki bu varyasyonları belirleyen en önemli etkenin 192. kodonda kodlanan aminoasit değişimine (Glu-Arg) ve 55. kodonda kodlanan aminoasit değişimine bağlı polimorfizmden kaynaklandığı düşünülmektedir. Paraoksonaz 1 gen polimorfizmi ile koroner arter hastalık riski arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır.



Şekil 21. PON 1 geni 55L/M ve 192Q/R polimorfizm bölgeleri

Birbiri ile çelişen çalışma sonuçlarının olduğu bu konuda, bizim çalışmamızda da PON gen polimorfizminin etkisini saptamak amacıyla, koroner yavaş akımlı ve sağlıklı bireylerde paraoksonaz 1 geninin gösterdiği 55. ve 192. kodonlardaki polimorfizm incelenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hastalar ve Kontrol Grubu

2.1.1. Hastalar

Bu çalışma Haziran 2013 ve Şubat 2014 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji kliniği ve polikliniğine göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran ve koroner anjiyografiye alınıp KYA tanısı alan 50 hasta üzerinde yapılmıştır. Çalışma grubuna alınan kişilerden bilgilendirilmiş onam formu ve ayrıca üniversitemizden etik kurul kararı alınarak bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, koroner anjiyografi öyküsü, aile öyküsü eşlik eden hastalıklar, kullanılan ilaçlar, sigara kullanımı, menapoz durumu değerlendirildi. Koroner anjiyografi öncesi tüm olgularda 8-10 cc heparinli tüpe kan alındı. Koroner anjiyografi standart judkins tekniği ile femoral arter yolu ile yapıldı. Gibson ve ark.'nın belirlediği kriterlere göre en az bir koroner arterinde KYA saptanan hastalar çalışmaya alındı (43).

Bu kişiler arasında,

1-Sinüs ritminde olmayan

2-Ciddi kalp kapak hastalığı olanlar

3-Vücut kitle indeksi >30 olanlar

4-Ek sistemik bir hastalığı (malignite, anemi vs) olanlar

5-En az bir koroner arterinde tıkalı koroner arter hastalığı olanlar (>%50 den fazla darlık), çalışma dışı bırakıldı.

2.1.2. Kontrol Grubu

Çalışmamızda, Haziran 2013 ve Şubat 2014 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji polikliniğine göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran ve yapılan koroner anjiyografi sonucu normal koroner arterlere ve normal koroner akıma sahip olan 50 kişi de kontrol grubu olarak seçilmiştir. Çalışmaya alınan bireyler yaş ve cinsiyet yönünden birbiriyle uyumlu bireylerden oluşturulmuştur. Kontrol grubuna alınan kişilerden de bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

2.2. Anjiyografi

Koroner anjiyografiler Philips cihazında standart judkins tekniği kullanılarak femoral arter yoluyla yapıldı. Kontrast madde olarak kullanıldı. Her poz için 6-8 ml kontrast madde manuel olarak enjekte edildi. Koroner arterler sağ ve sol oblik

planda, kraniyal ve kaudal açılardan saniyede 12 kare hızda (12 fps) görüntülendi ve DICOM programıyla CD'ye aktarıldı. Koroner kan akımının kantitatif ölçümü için TIMI kare sayısı metodu kullanıldı (43). Her bir koroner arter için distal belirleyici noktalara kontrastın ulaşması için geçen zaman kare sayısı olarak ifade edildi. Başlangıç noktası olarak, kontrast maddenin arterin her iki kenarına değip ilerlemeye başladığı an; son nokta olarak, kontrast maddenin LAD için moustache (bıyık) denilen distal ve Cx için en uzun dalın distal bifurkasyonu görüntülediği an alındı.

Gibson ve ark. (43), akut MI (Miyokard İnfarktüsü) olmayan 78 hastada TIMI kare sayılarını hesaplamışlar ve RCA ($20,4 \pm 3,0$ kare) ile Cx ($22,2 \pm 4,1$ kare) arasında TIMI kare sayılarını birbirine benzer bulmuşlardır. LAD'de proksimalden distal çatala kadar olan mesafe diğer koroner arterlerden daha uzun olduğundan LAD TIMI kare sayısı RCA ve Cx'in TIMI kare sayısından anlamlı şekilde yüksek çıkmıştır. Bu nedenle diğer koroner arterlerle birlikte standardize edilebilmesi amacıyla bir sabit katsayı ile düzeltilmesi gereği olmuştur. Tüm koroner arterlerin standardize edilmesi için Gibson, LAD kare sayısını Cx ve RCA'dan elde edilen kare sayılarının ortalamasına bölmüş sonuç olarak 1,7 sabit sayısını elde etmiştir.

LAD kare sayısını 1,7 ile böldüğümüzde elde edilen sayı düzeltilmiş TIMI kare sayısıdır (43). Biz de LAD için bulunan değeri 1,7'ye bölünerek standardize ettik. LAD için $36,2 \pm 2,6$; Cx için $22,2 \pm 4,1$; RCA için $20,4 \pm 3,0$ değerlerinin verilen standart sapmaları üzerinde kare sayısına sahip en az bir koroner arteri olan hastalar, dışlama kriterleri göz önüne alınarak, KYA olarak belirlendi (41). Pratik olması açısından LAD için 40'ın üzeri, Cx için 25'in üzeri, RCA için 24'ün üzeri kare sayısı yavaş akım olarak alındı.

2.3. DNA İzolasyon İşlemi

2.3.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler

DNA purifikasyon kiti (Promega Cat.#1125), 1.5 ml'lik tüpler (Axygen scientific MCT-150-A), 100 ve 1000 µl'lik pipet (Eppendorf research series 2100 pipettes, Germany), pipet uçları (Deltalab 327-17), mikrosantrifüj, vorteks, izopropil alkol, % 70'lik etil alkol

2.3.2. İzolasyon Aşamaları

1. 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 900 µl cell lizis solüsyonu eklendi.

2. Kan tüpü kanın tamamen karışması sağlanana kadar hafifçe sallandı, sonra 300 µl kan cell lysis solusyonu içeren mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Karışması için tüp 5-6 kez alt-üst edildi.
3. Kırmızı kan hücrelerinin lizisi için 10 dakika oda ısısında bekletildi, bu esnada tüp 2-3 defa alt-üst edildi. 13 000-16 000 rpm'de de 20 saniye santrifüj edildi.
4. Görünen beyaz pellete dokunmaksızın süpernatant yaklaşık 10-20 µl residüel sıvı bırakacak şekilde atıldı.
5. Beyaz kan hücreleri resüspanse olana dek tüp 10-15 saniye kadar hafifçe vortekslendi.
6. 300 µl Nuclei lysis solüsyonu resüspanse hücrelerin bulunduğu tüpe eklendi. Beyaz kan hücrelerinin lizisi için solüsyon 5-6 kere pipetlendi. Solüsyonun visköz bir hale geldiği gözlemlendi. Karıştırma sonunda hücre çökeltileri görünürse bunlar çözülene kadar solüsyon 37°C de inkübe edildi. Eğer 1 saat sonra hala çökeltiler görülüyorsa ek olarak 100 µl nuclei lysis solüsyonu ilave edilip inkübasyon tekrarlandı.
7. 1.5 µl RNase solüsyonu eklendi ve tüp 25 defa alt-üst edilerek karıştırıldı. Karışım 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Devam etmeden önce karışımın oda sıcaklığına gelmesi beklendi.
8. Nükleer pellete 100 µl protein presipitasyon solüsyonu eklendi. 10-20 saniye vortekslendi. Vortekslemeden sonra küçük protein çökeltileri görüldü.
9. 13 000-16 000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Koyu kahverengi protein pelleti görüldü.
10. İçinde DNA bulunan süpernatant, içine 300 µl isopropanol konulmuş temiz bir 1,5ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılarak karıştırıldı.
11. Solüsyon alt-üst edilerek ağ şeklinde DNA kütlesi görülene kadar karıştırıldı.
12. 13 000-16 000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. DNA küçük beyaz bir pellet şeklinde görüldü.
13. Süpernatant atılarak 300 µl %70 lik etanol eklendi ve -20°C'de saklandı.

2.3.3. DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi

DNA konsantrasyonu ve saflık derecesinin belirlenmesi UV spektrofotometresi ile yapılabilmektedir. DNA örneğinin içerisinde bulunduğu solüsyon tarafından

absorbe edilen UV miktarı örnekteki DNA miktarı ile doğru orantılıdır. Absorbans genellikle 260 nm dalga boyunda ölçülür. Bu dalga boyundaki ölçümlerde çift iplikli DNA için absorbans değeri 50 µg/ml'lik konsantrasyon değerlerine karşılık gelir. UV absorbansı DNA'nın saflığının belirlenmesinde de kullanılabilir (260 nm'de nükleik asitler, 280 nm'de de proteinler pik verir). Saf bir DNA örneğinin 260 ve 280 nm'deki absorbans oranı (A_{260nm}/ A_{280nm}) 1,8'dir. Bu değer elimizdeki DNA örneğinin verimini gösterir. Dolayısıyla bulduğumuz değer 1,8'e ne kadar yakınsa verim o kadar yüksektir. 1,8'den düşük değerler örnekte fenol ya da protein kontaminasyonu, 1,8'den büyük değerler ise RNA kontaminasyonu varlığını gösterir. Hasta ve kontrol grubuna ait DNA örnekleri ölçülerek konsantrasyonları ve saflıkları belirlendi. 1,8'e yakın olmayan değerlere sahip örneklerin DNA'ları tekrar izole edildi.

2.3.4. TaqMan Problemleri ile Genotiplendirme

Hasta DNA'larından PON1 genine ait rs854560 ve rs662 polimorfizmleri, TaqMan problemleri kullanılarak ABI 7500 Fast Real Time System (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazında çalışıldı.

M55L; rs854560 polimorfizmine ait genomik dizi GCCAGTCCATTAGGCAGTATCTCCA(A/T)GTCTTCAGAGCCAGTTTCTGCC AGA şeklindedir. Bu değişim sonucunda ATG kodonu TTG kodonuna dönüşmekte ve proteindeki 55. aminoasit olan metionin lösinle yer değiştirmektedir. Genotipleme için kullanılan kit A alleli için FAM, T alleli için ise VIC floresan boyaları ile işaretlenmiş forward ve reverse primerleri içermektedir.

Q672R; Rs662 polimorfizmine ait genomik dizi TAAACCCAAATACATCTCCCAGGAT(C/T)GTAAGTAGGGGTCAAGAAAAT AGTG şeklindedir. Bu değişim sonucunda CAA kodonu CGA kodonuna dönüşmekte ve proteindeki 672. aminoasit olan glutamin arjininle yer değiştirmektedir. Genotipleme için kullanılan kit C alleli için FAM, T alleli için ise VIC floresan boyaları ile işaretlenmiş forward ve reverse primerleri içermektedir.

Tablo 4. RT-PCR’ da kullanılan genotipleme testleri

TaqMan Gene Expression Assay Gex: AB Applied Biosystems, ABD, 250µl	
Test adı	Katalog Numarası
PON1 (SNP1)	C__2259750_20
PON1(SNP2)	C__2548962_20

Çalışmanın ilk aşamasında her bir hastanın DNA’sı nanodrop cihazında (Maestrogen, MaestroNanodrop, USA) ölçüldü. DNA konsantrasyonlarının 1-10 ng şekilde sulandırıldı. PCR reaksiyon karışımı buz üzerinde hazırlandı. Tablo 4’de RT-PCR reaksiyonu için kullanılan malzeme miktarları detaylı olarak verilmiştir.

Tablo 5. RT-PCR reaksiyon karışım

Bileşik	Hacim (µl)	Katalog No
TaqMan Genotyping Master Miks	5 µl	4401890
TaqMan genotyping assay (20×)	0,25 µl	C2259750 (SNP1) C2548962 (SNP2)
Nükleaz içermeyen H ₂ O	1.0	4387936
Örnek	2.5	
Reaksiyon toplamı	10.0	

Doksanaltı kuyucuklu plate’in her bir kuyucuğuna sırasıyla her örnekten 2,5 µl DNA konuldu. DNA’ların üzerine, hazırlanmış olan PCR reaksiyon miksinden 7,5 µl ilave edilerek toplamda 10 µl’lik reaksiyon hacmi oluşturuldu. Plate’in üzeri optical film ile kapatıldı ve santrifüj yapıldı. Plate, 7500 Fast Real Time PCR cihazına yerleştirildi. Aşağıda Tablo 6’da verilen programa göre 40 döngü olacak şekilde PCR programı çalıştırıldı.

Tablo 6. Genotipleme için uygulanan RT-PCR programı

RT-PCR X 40 döngü					
	1. Adım	2.Adım	3.Adım	4.Adım	5.Adım
Sıcaklık	60°C	95°C	95°C	60°C	60°C
Zaman	30sn	10dk	15sn	1dk	30sn

PCR sonrası cihazın software sistemi kullanılarak allel 1 ve allel 2 ayırımına göre homozigot mutant, heterozigot ve homozigot normal genotipler belirlendi.

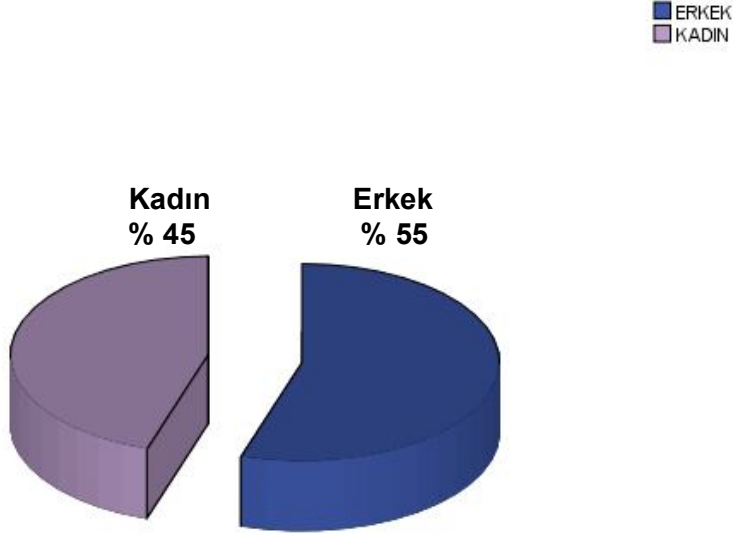
2.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 21 paket bilgisayar programı ile yapıldı. Parametreler arası ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak değerlendirildi. Hasta ve kontroller genotip ve allel sıklıklarının dağılımı Ki-kare analizi ile yapıldı. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde non-parametrik bir test olan Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmaya alınan olguların % 45'i kadın; % 55'i erkektir. Çalışmamıza alınan olguların % 50'sinde normal koroner arterler; %50'sinde koroner yavaş akım görülmektedir. Normal koroner arter grubunun 25'i erkek (%50), 25'i kadındır (%50). Koroner yavaş akım grubunun 29'u erkek (%58), 21'i kadındır (%42).

CİNSİYET DAĞILIMI



Şekil 22. Cinsiyet dağılımı grafiği

Normal koroner arter grubunun ortalama yaşı $45,4 \pm 17$ yıl, koroner yavaş akım grubunun ortalama yaşı $50,5 \pm 11$ yıldır. Koroner yavaş akım grubunda TIMI kare sayısı ortalama değerleri, LAD için $46,3 \pm 11,3$; Cx için $35,2 \pm 15,03$; RCA için $24,6 \pm 9,55$ olarak bulundu.

Tablo 7. Hastaların ve Kontrol Olgularının Demografik Özellikleri

	Hasta grubu (n=50)	Kontrol grubu (n=50)	P
Cinsiyet (K/E)	29/21	25/25	0,55
Yaş (yıl)	50,5±11	45,4±17	0,91
DM (%)	22	8	0,51
HT (%)	62	28	0,001 *
LDL (mg/dl)	110±36	100±22	0,09

K: Kadın E:erkek DM: diyabetes mellitus HT: hipertansiyon

Hipertansiyon KYA'ya sahip hastaların % 62'sinde saptanmış olup, kontrol grubuna göre p değeri 0,001 ile istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmiştir.

3.1. Hasta ve Kontrollerde PON 1 rs854560 (55 L/M) Polimorfizm

Dağılımları

Hasta ve kontrol grupları arasında PON 1 genotipleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (p=0,7). PON 1 allel sıklıkları kontrol ve hasta grubu arasında karşılaştırıldığında allel sıklıkları açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,8).

Tablo 8. PON1 L55M genotip ve allel dağılımı ile sıklıkları

Genotip Dağılımı ve Sıklıkları	LL	LM	MM	Odds	Odds Ratio	CI %95	P
Hasta (n=50)	18 (%36)	27 (%54)	5 (%10)	1,4	1,04	0,22- 2,95	-
Kontrol (n=50)	18 (%36)	26 (%52)	6 (%12)	1,3			-
Allel Dağılımı ve Sıklıkları	L	M					
Hasta (n=50)	41 (0,82)	59 (1,18)	-				
Kontrol (n=50)	42 (0,84)	58 (1,16)	-				

-. $p>0,05$

Hasta grubunda PON 1-55 MM homozigot oranı %10, PON 1-55LL homozigotların oranı %36, PON 1-55LM heterozigotların oranı ise %54'dü. Kontrol grubunda ise PON 1-55MM homozigot oranı %12, PON 1-55LL homozigotların oranı %36, PON 1-55LM heterozigotların oranı ise %52 idi. PON 1 L allelinin sıklığı hasta grubunda 0,82; kontrol grubunda 0,84; M alleli ise sırasıyla 1,18 ve 1,16 olarak bulunmuştur.

3.2. Hasta ve Kontrollerde PON 1 rs662 (192 Q/R) Polimorfizm Dağılımları

Hasta ve kontrol grupları arasında PON 1 genotipleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0,53$). PON 1 allel sıklıkları kontrol ve hasta grubu arasında karşılaştırıldığında allel sıklıkları açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptandı ($p=0,012$).

Tablo 9. PON1 Q192R genotip ve allel dağılımı ile sıklıkları

Genotip Dağılımı ve Sıklıkları	QQ	QR	RR	Odds Ratio	CI %95	P
Hasta (n=50)	31 (%62)	17 (%34)	2 (%4)	3,7		
Kontrol (n=50)	21 (%42)	20 (%40)	9 (%18)	0,5	6,8 0,25-1,35	0,5
Allel Dağılımı ve Sıklıkları	Q	R				
Hasta (n=50)	79 (1,58)	21 (0,42)				
Kontrol (n=50)	62 (1,24)	38 (1,9)				
						0,012 ^{**}

^{**} = p<0,05 (anlamlı)

3.3. İkili Genotip Sıklıkları

Koroner yavaş akım için yatkınlık ya da koruma sağlayabilecek ikili genotiplerin değerlendirilmesi sonunda hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır. PON 1 geni L55M ve Q192R lokusları için QQLM genotipinin hasta grubunda, buna karşılık QRLM genotipinin sağlıklı kontrol grubunda daha sık olduğu görülmüştür. QQLM (p=0,06), RRLL (p=0,001), RRLM (p=0,041) ve QRLM (p=0,001) genotipine sahip hasta ve sağlıklı bireyler arasında anlamlı farklılık saptanmıştır.

QQLM genotipinin hasta grubunda en sık rastlanan (%40) genotip olduğu; QQLM genotipi açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olduğu ve QRLM genotipinin ise kontrol grubunda en sık rastlanan (%30) genotip olduğu; QRLM genotipi açısından da hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir (Tablo 9).

Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda PON1 Q192R ve PON1 L55M genotip frekansları

		Hasta (%)	Kontrol (%)	P
QQ	LL	14	12	0,06
	LM	40	18	0,001**
	MM	8	12	0,3
RR	LL	4	17	0,001**
	LM	-	4	0,041**
	MM	-	-	-
QR	LL	18	10	0,7
	LM	14	30	0,001**
	MM	2	-	0,1

** = p<0,05 (anlamlı)

3.4. En Az Bir Adet Q, R, L ve M Alleli Taşıma Sıklıkları

En az bir adet Q,R, L ve M alleli taşıma sıklıkları karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grubu arasında L ve M alleli taşıma sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.05$ aralığında) saptanmamış fakat Q ve R alleli taşıma sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,001$) (Tablo 10).

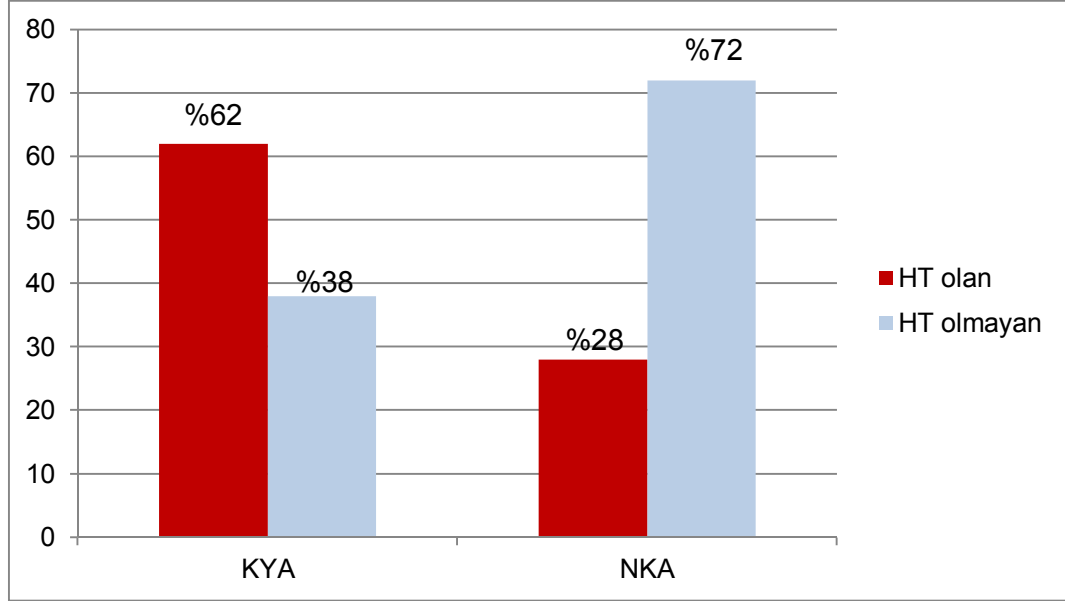
Tablo 11. Hasta ve kontrol en az bir adet Q,R, L ve M alleli taşıma sıklıkları

En az bir	Hasta (%)	Sağlıklı (%)	P
L	90	88	0,7
M	64	64	0,1
Q	96	52	0,001**
R	38	58	0,001**

** = p<0,05 (anlamlı)

3.5. Hipertansiyon ile PON 1 Geni Q192R ve L55M Polimorfizmleri Arasındaki İlişki

Çalışmaya alınan olguların % 44'ü hipertansif olgular; % 56'sı hipertansiyonu olmayan bireylerdir. Normal koroner arter grubunun %28'i ve koroner yavaş akım grubunun %62'si hipertansif olgulardır.



KYA: Koroner Yavaş Akım NKA: Normal Koroner Anatomi HT: Hipertansiyon

Şekil 23. Hipertansiyonun KYA ve NKA grubundaki dağılımı grafiği

Koroner yavaş akımı olan hasta grubunun % 62'sinde hipertansiyon saptanmış olup, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmiştir ($p=0,001$).

Hipertansiyon ile PON 1 geninin LM ($p=0,97$), LL ($p=0,94$), MM ($p=0,91$) ve QQ ($p=0,3$), QR ($P=0,7$), RR ($P=0,6$) genotipleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır.

3.6. Olguların Demografik Özellikleri ile PON 1 Geni L55M ve Q192R Genotipleri ile İlişkisi

Olguların % 15'i diyabetik, % 85'i diyabeti olmayan olgulardır. Normal koroner arter grubunun %8'i ve koroner yavaş akım grubunun %22'si diyabetik olgulardır. Koroner yavaş akımı olan hasta grubuyla kontrol grubu arasında diyabet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,51$).

Çalışmamıza alınan olguların ortalama LDL değeri 105 ± 30 olarak bulunmuştur. Ortalama LDL değerleri NKA grubunda 100 ± 22 mg/dl ve KYA

grubunda 110 ± 36 mg/dl olarak bulunmuş olup istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,09$).

Tablo 12. Olguların demografik özellikleri ile PON 1 geni L55M ve Q192R genotipleri p değerleri

	p değeri					
	QQ	QR	RR	LL	LM	MM
Yaş	0,2	0,5	0,1	0,5	0,8	0,8
Cinsiyet	0,8	0,3	0,2	0,9	0,9	0,9
HT	0,3	0,7	0,6	0,9	0,8	0,9
DM	0,5	0,7	0,1	0,4	0,9	0,2
LDL	0,3	0,6	0,5	0,7	0,6	0,7

Olguların yaş, cinsiyet, hipertansiyon, diyabet ve LDL değerleri açısından PON 1 geni L55M ve Q192R genotipleri için KYA ve NKA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 11).

4. TARTIŞMA

Tüm dünyada ve ülkemizde kalp hastalıkları ile ilişkilendirilmiş olan ölümler, tüm sebeplere bağlı ölümler arasında ilk sırada yer almaktadır. Bu konuda yapılan çok yönlü çalışmalar ile yeni erken tanı ve etkin tedavi yöntemleri araştırılmış ve kardiyovasküler sistem kaynaklı mortalite ve morbidite de azalma sağlanması amaçlanmıştır. Halen bu amaçlı çalışmalar oldukça fazla sayıda devam etmektedir.

Miyokard iskemisini düşündüren anjinal yakınmaları olan ve anjiyografide koroner arteri normal saptanan hastalarda göğüs ağrısının nedenini açıklamak klinikte sık karşılaşılan bir sorundur. İlk kez 1972’de tanımlanan KYA fenomeni, önceleri göğüs ağrısı, pozitif efor testi ve normal koroner anjiyografi üçlemesi ile tanı alan Kardiyak sendrom X tanımı içerisinde değerlendirilmekteydi. Bu hastalarda anjina nedeni olarak koroner yatağın vazodilatör rezervinin azalması vasküler tonusun artması sonucu gelişen miyokard iskemisi gösterilmiştir. Bunun yanında yapılan anjiyografik incelemelerde normal koroner anatomik yapı tespit edilmesine rağmen verilen opak maddenin daha yavaş ilerlediği gözlemlenmiş ve bu durum farklı kategoride değerlendirilerek ‘Koroner yavaş Akım’ (KYA) ya da ‘Koroner yavaş Akım Fenomeni’ (KYAF) olarak isimlendirilmiştir (1, 4). Ancak, IVUS tekniğinin geliştirilmesi ile bu hastaların koroner arterlerinin normal olmadığı, aksine, damar duvarında yaygın ateromatöz değişiklikler ve kalsifikasyonların olduğu gözlenmiştir. Bu bulguların neticesinde, KYAF’ı KAH alt tipi olarak görmek daha doğru olacaktır.

Koroner yavaş akım farklı etyopatolojik nedenlere bağlı gelişen, koroner mikrovasküler disfonksiyon ve anormal koroner vazodilatör rezerv ile karakterizedir (103). KYA olgularında yapılan histopatolojik çalışmalarda kapiller endotelinde şişme ve küçük arter ve arteriyollerde perivasküler fibrozis, intramiyokardiyal arteriyollerde inflamasyonu düşündüren yama tarzında fibrozis, interstisyumda fibrin depolanması ve endotelial kalınlaşma saptanmıştır (7, 104, 105).

Endotel disfonksiyonunun gösterildiği KYAF’ı, KAH’ın erken evresi gibi düşünülebiliriz. Bu durumun endotel düzeyinde tesbiti bize hastalığın progresyon ve tedavisi hakkında önemli ipuçları verebilir.

Oksidatif stresin en önemli göstergesi lipid peroksidasyonudur ve oxLDL’nin endotel üzerindeki sitotoksitesinden lipid peroksidasyon ürünleri sorumludur.

HDL'nin ters kolesterol taşınmasındaki fonksiyonu ve yapısındaki PON 1 enzimi ile LDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisi aterosklerozdan korunmada rol oynar. HDL'nin antienflamatuvar ve antiaterojenik etkisinde PON1 en önemli belirleyicidir (106-109).

Paraoksonaz polimorfik dağılımı büyük interetnik değişim göstermektedir. Türk popülasyonunda RR allel oldukça düşük bir oranda bulunmuştur. Bu bizim çalışmamızla da örtüşmektedir (KYA grubunda 2 kişi, NKA grubunda 9 kişi).

PON 1 enziminin aktivitesi polimorfizme bağlı olarak oldukça değişim göstermektedir. Klinik yayınlarda PON enzim aktivitesi ile çeşitli hastalıklar arasında ilişkinin belirlenmesine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Paraoksonaz gen polimorfizmi ile aterosklerotik hastalık riski arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların çoğunda birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir.

Ko ve ark. (110), Tayvan'da Çinliler arasında yaptıkları çalışmada insan paraoksonaz geninin Gln-Arg 192 polimorfizmiyle KAH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiye rastlanmamıştır. Japon popülasyonunda yapılan çalışmalarda; Suehiro ve ark. (111), 134 MI veya anjina pectoris hastalarında PON 1- Q192R genotipi, Sanghera ve ark. (112), Asyalı Hintliler ve Çinliler arasında PON 1- L55M polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarda anlamlı ilişkiye rastlanmamıştır.

Karakaya ve ark. (82), KAH sahip örneklerde serum paraoksonaz aktivite, fenotip dağılımı ile serum lipit seviyeleri ve lipoproteinlerin arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında, KAH ile kontrol grubu arasında paraoksonaz genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark olmadığını, paraoksonaz aktivitesinin düşüklüğünün KAH için risk faktörü olabileceği belirtmişlerdir. Aynacıoğlu ve ark. (113), Türk popülasyonunda 96 KAH ve 105 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada PON 1-Q192R polimorfizmi ile KAH arasında anlamlı ilişkiye rastlamamışlardır. Aynacıoğlu ve ark. (78), Güneydoğu Anadolu'da, KAH için klasik bir risk faktörü taşımadığı ve herhangi bir hastalığı olmadığı bilinen 381 sağlıklı bireyle yaptığı bir başka çalışmada, genotip dağılımları L55M için LL % 52,5; LM % 38,6 ve MM % 8,9; Q192R için sırasıyla QQ % 49,1; QR % 40,2 ve RR % 10,8 olarak bulunmuştur.

Kaman ve ark. (114) yaptıkları çalışmada 277 KAH ve 92 sağlıklı popülasyon ile yaptıkları çalışmada genotip dağılımları L55M için LL %32,6; LM %46,7; MM

%20,7 olarak bulunmuştur. Q192R genotipi için QQ %46,7; QR %44,6; RR %8,7 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada Q192R polimorfizmi ile KAH arasında anlamlı ilişkiye rastlamamışken; L55M polimorfizmi KAH açısından anlamlı bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda da NKA grubunda L55M için genotip dağılımında LM %42, LL %36, MM %12 olarak bulunmuştur. Benzer olarak en az görülen genotip MM genotipidir. Ancak en çok görülen genotip bizim çalışmamızda LM genotipidir. Çalışmamız L55M genotipi açısından Kaman ve ark.'nın yapmış olduğu çalışma ile uyumludur. Q192R için genotip dağılımı QQ %42, QR %40, RR %18 olarak bulunmuştur. Q192R genotipi açısından sonuçlarımız daha önce Türkiye'de yapılan çalışmalarla benzer çıkmıştır.

178 KAH tanısı almış hasta ve 180 sağlıklı bireyle yapılan çalışmada, hastalarda Q allel frekansının % 78 bulunması ve hasta grupla kontrol grup arasındaki Q allel taşıyıcılığındaki belirgin fark, bu allelin erken yaş KAH için bir risk oluşturduğunu düşündürmüştür (115).

Bizim çalışmamızda da, hasta grubunda Q allel frekansı %96 olup istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0,012$). Kontrol grubunda ise L allel frekansı % 88 olup istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p=0,8$).

Serrato ve Marian (91), Q192R polimorfizmini KAH ile ilişkilendirmiş, QQ genotipine sahip bireylerde RR genotipine sahip bireylere göre daha düşük enzimatik aktivite saptamıştır. 223 koroner arter hastası ve 247 kontrol ile yaptığı çalışmada, kontrol grubunda QQ ve RR genotipleri % 49 ve % 11 iken, KAH hasta grubunda sırasıyla % 30 ve % 18 bulunmuştur ($p=0.0003$). Aynı çalışmada Q allel frekansı kontrollerde % 69, hastalarda % 56 olarak bildirilmiştir ($p=0.0001$).

Aynacıoğlu ve Kepekçi'nin (113) 96 koroner arter hastası (yaş ortalaması 49,3) ve 105 kontrolle yaptığı çalışmada, QQ, QR ve RR genotip frekanslarını koroner arter hasta grubunda sırasıyla % 36,5; % 52,0 ve % 11,5; kontrol grubunda ise sırasıyla % 48,6; % 41,0 ve % 10,4 bulmuştur. Hasta grubunda QR genotipinin, kontrol grubunda QQ genotipinin yaygın olduğu gözlenmiştir. Kontrole göre hasta grubunda R allel frekansının daha yüksek olduğu sonucuna varılmış, ancak Q192R polimorfizminin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olmadığı belirtilmiştir.

Bizim çalışmamızda, QQ, QR ve RR genotip frekansları KYA grubunda sırasıyla % 62, 34 ve 4; NKA grubunda ise sırasıyla % 42, 40 ve 18 olarak bulunmuştur. Hem KYA hem de NKA grubunda QQ genotipi yaygın olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,05$).

Hintliler ve Çinliler üzerine Sanghera ve ark. (89), yaptığı çalışmada L55M ve Q192R'nin ikili genotip frekansları incelenmiştir. Çalışmada RRMM, QRMM ve RRLM genotiplerinin saptanmamış olması, bu populasyonlarda RM genotipinin nadir bulunduğunu düşündürmüştür. Bizim çalışmamızda da RRMM genotiplerinde bireye rastlanmamış olup en çok görülen genotip QQLM (29 kişi) olarak saptanmıştır.

Özök ve ark. (116), yaptığı bir çalışmada ise ortalama yaşları 55-56 olan 139 KAH ve 119 kontrol grubu oluşturulmuş, hastalarda sağlıklı bireylere göre RR genotipi daha sık, QQ ile MM genotipleri belirgin ölçüde düşük bulunmuştur. Yapılan genotip analizi sonucunda, bir başka risk faktörü adayı olan matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) ile PON1 L55M ve Q192R genotipleri birlikte incelenmiş, RRLM kombine genotiplerinin KAH riskini arttırdığı öngörülmüştür.

Bizim çalışmamızda ise kontrol grubunda RR genotipi hasta gruba göre daha fazla saptanmıştır. İkili genotiplerden en sık görüleni QQLM'dir. KYA grubunda %40, NKA grubunda %18 saptanmış olup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$). QQLM genotipinin hastalarda kontrol grubuna oranla daha yüksek olması ve aradaki farkın anlamlı olması QQLM genotipinin KYA için risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

QRLM ($p=0,001$), RRLM ($p=0,041$) ve RRLM ($p=0,001$) genotipleri ise NKA grubunda daha fazla saptanmıştır ve aradaki fark her üçü için de istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu da QRLM, RRLM ve RRLM genotiplerinin KYA için koruyucu faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca çalışmamızda KYA ve NKA grupları açısından PON 1 L55M ve Q192R genotipleri ile yaş, cinsiyet, diyabet, LDL düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Hipertansiyon için ise KYA ve NKA grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,001$). Bu açıdan hipertansiyon KYA için risk faktörü veya öngördürücü olarak düşünülebilir. Fakat yine her iki grup açısından

PON 1 L55M-Q192R genotipleri ile hipertansiyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tüm epidemiyolojik çalışmalar ve deneysel çalışmalar göstermiş ki PON 1 geni koroner arter arter hastalığı ve doğal olarak KYA açısından önemli bir koruyucu role sahiptir. Çalışmalar PON 1 aktivitesinde önemli yere sahip olan L55M ve Q192R polimorfizmleri üzerinde yoğunlaşmıştır. PON 1 aktivitesi üzerine etkili bu polimorfizmlerin açıklanması üzerine umut verici çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalar ve ortaya çıkan olumlu sonuçlar PON 1 enzimini farmakolojik hedef haline getirmiştir. PON 1 aktivitesini düzenleyen veya gen ekspresyonunu düzenleyen farmakolojik müdahaleler koroner arter hastalığı ve önlenmesi açısından önemli yere sahiptir.

5. KAYNAKLAR

1. Kemp HG Jr, Vokonas PS, Cohn PF, Gorlin R. The anginal syndrome associated with normal coronary arteriograms. Report of a six year experience. *Am J Med* 1973; 54: 735-742.
2. Cannon RO 3rd, Watson RM, Rosing DR, Epstein SE. Angina caused by reduced vasodilator reserve of the small coronary arteries. *JACC* 1983; 1: 1359-1373.
3. Holdright DR, Lindsay DC, Clarke D, Fox K, Poole-Wilson RA, Collins P. Coronary flow reserve in patients with chest pain and normal coronary arteries. *Br Heart J* 1993; 70: 513-519.
4. Tambe AA, Demany MA, Zimmerman HA, Mascarenhas E. Angina pectoris and slow flow velocity of dye in coronary arteries- A new angiographic finding. *AHJ* 1972; 84: 66-71.
5. Sezgin AT, Sigirci M, Barutcu I. Vascular endothelial function in patients with slow coronary flow. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 155-161.
6. Masseri M, Yorom R, Gotsman MS, Hasin Y. Histologic evidence for small vessel coronary artery disease in patients with angina pectoris and patent large coronary arteries. *Circulation* 1986; 7: 964-72.
7. Mangieri M, Machiarelli G, Ciavolella M, Barilla F, Avella A, Martinotti A, et al. Slow coronary flow: Clinical and histopathological features in patients with otherwise normal epicardial coronary arteries. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1996; 37: 375-381.
8. Kurtoğlu N, Akcay A, Dindar I. Usefulness of oral dipyridamole therapy for angiographic slow coronary artery flow. *Am J Cardiol* 2001; 87: 777-79.
9. Pekdemir H, Polat G, Cin VG, Camsari A, Cicek D, Akkuş MN, et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in coronary sinus during rapid rate atrial pacing in patients with coronary slow flow. *Int J Cardiol* 2004; 97: 35-41.

10. Hawkins BM, Stavrakis S, Rousan TA, Abu-Fadel M, Schechter E. Coronary slow flow-prevalence and clinical correlations. *Circulation J* 2012; 76: 936-942.
11. Pekdemir H, Cin VG, Camsari A, Akkus MN, Doven O, Parmaksiz HT. Slow coronary flow may be a sign of diffuse atherosclerosis. Contribution of FFR and IVUS. *Acta Cardiol* 2004; 59: 127-133.
12. Cin VG, Pekdemir H, Camsari A, Cicek D, Akkus MN, Parmaksiz HT, et al. Diffuse İntimal Thickening of Coronary Arteries in Slow Coronary Flow. *Jpn Heart J* 2003; 44: 907-919.
13. Primo-Parma SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The Human serum Paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomic* 1996; 33: 498-509.
14. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *BBA* 1990; 1044: 275-283.
15. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond Cholesterol modifications of low-density lipoprotein that increases its atherogenicity. *NEJM* 1989; 320: 915-924.
16. Klimov AN, Kozhemyakin LA, Pleskov VM, Andreeva LI. Antioxidative effect of high-density lipoproteins in the oxidation of low-density lipoproteins. *Bull Exp Biol Med* 1987; 103: 550-552.
17. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetic and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
18. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Textbook of Cardiovascular Medicine Heart Disease 6.th Edition Harcourt İnternational Edition 2001; 63: 2163.

19. Camici P, Ferrani E, Opie LH. Miyokardiyal metabolism in ischemic heart disease: Basic principles and application to imaging by positron emission tomography. *Prog Cardiovasc Dis* 1989; 32: 217-238.
20. Delaye J, Mpetshi I, Durand JP. Oxygen requirements of the myocardium. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1983; 76: 7-12.
21. Bassenge E, Heusch G. Endothelial and neurohumoral control of coronary blood flow in health and disease. *Reviews of Physiology, Biochem Pharm* 1990; 116: 77-165-940.
22. Leonard S. Lilly Pathophysiology of Heart Disease, first edition, 2011: Basic Cardiac Structure and Function.
23. JT Dodge Jr, BG Brown, EL Bolson, HT Dodge. Lumen diameter of normal human coronary arteries. Influence of age, sex, anatomic variation, and left ventricular hypertrophy or dilation. *Circulation* 1992; 86: 232-246.
24. Fozzard HA, Haber E, Jennings RB. The Heart and Cardiovascular System. Scientific Foundations second edition. 1992; 53: 1393-1426- 64: 1641-1655 75: 1875-1974.
25. Murat Sezer. Koroner akım rezervi kavramı ve koroner içi doppler. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşiv*; Ocak 2011 Ayın Konusu.
26. Persson PB. Modulation of cardiovascular control mechanism and their interaction. *Physiol Rev* 1996; 76: 193-244.
27. Lippincott Williams & Wilkins A Textbook Cardiovascular Physiology Concepts, second edition, 2011.
28. Ramanathan T, Skinner H. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain* 2005; 5: 61-64.
29. Richard Gorlin. Regulation of coronary blood flow *Br Heart J* 1971; 33: 9-14.

30. DJ Duncker , NS van Zon , TJ Pavcek , SK Herrlinger, RJ Bache. JCI 1995; 95: 285-295.
31. Semih B, Emin T , Enver D, Cemil B. Miyokard Korunması- 2. Miyokard Metabolizması ve Harabiyeti Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi Arşiv. Ekim 1994; 4; 313-317.
32. E. O. Feigl. Coronary Physiology. APS Physiological Reviews. 1 January 1983: 63; 1-205.
33. Feliciano L, Henning RJ. Coronary Artery Blood Flow: Physiologic and Pathophysiologic Regulation. Clin Cardiol 1999; 22: 12; 775-786.
34. Fatih Yalçın, Derleme yazısı: Akut kalp yetmezliği sendromunun etkin tedavisi için koroner perfüzyonu değerlendirmek (Acute Heart Failure Syndromes and Coronary perfusion) J Am Coll Cardiol 2008; 52: 13-16.
35. Beltrame JF, Limaye SB, Horowitz JD. The coronary slow flow phenomenon-a new coronary microvascular disorder. Cardiology 2002; 97: 197-202.
36. Beltrame JF, Turner SP, Leslie SL, Solomon P, Freedman SB, Horowitz JD. The angiographic benefits of mibefradil in the coronary slow flow phenomenon. JACC 2004; 44: 57-62.
37. Goel PK, Gupta SK, Agarwal A, Kapoor A. Slow coronary flow: A distinct angiographic subgroup in Syndrome X. Angiology 2001; 52: 507-514.
38. Nakatani S, Yamagishi M, Tamai J, Yoichi G, Tetsuhiro U, Kawaguchi, et al. Assessment of coronary artery distensibility by intravascular ultrasound application of simultaneous measurement of luminal area and pressure. Circulation 1995; 91: 2904-2910.
39. Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar E, Ziada KM, Hobbs RE, McCarthy PM, et al. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenager and young adults: evidence from intravascular ultrasound study. Circulation 2001;

103: 2705-2710.

40. Kern MJ, Deligonul U, Tatineni S, Hilton TC, Serota H, Aguirre F. Intravenous adenosine continuous infusion and low dose bolus administration for determination of coronary vasodilator reserve in patients with and without coronary artery disease. *JACC* 1991;18: 718-729.
41. Pijls NH, Gelder VB, Van Der Voort P, Peels KM, Bracke FALE, Bonnier HJRM, El Gammal MIH. Fractional flow reserve. A useful index to evaluate the influence of an epicardial stenosis on myocardial blood flow. *Circulation* 1995; 92: 3183-3193.
42. The TIMI Study Group. The Thrombolysis in Myocardial Infarction Trial. *NEJM* 1985; 312: 932-936.
43. Gibson CM, Cannon CP, Daley WL. TIMI frame count: a quantitative method of assessing coronary artery flow. *Circulation* 1996; 93: 879-888.
44. Cesar LA, Ramires JA, Serrano Jr CV, Meneghetti JC, Antonelli RH, Luz PL, et al. Slow coronary run-off in patients with angina pectoris: clinical significance and thallium- 201 scintigraphic study. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29: 605-613.
45. Burckhardt BA, Mukerji V, Alpert MA. Coronary artery slow flow associated with angina pectoris and hypertension- a case report. *Angiology* 1998; 49: 483-487.
46. Kapoor A, Goel PK, Gupta S. Slow coronary flow- a cause for angina with ST elevation and normal coronary arteries. A case report. *Int J Cardiology* 1998; 67: 257-261.
47. Tebbe U, Neuhaus KL, Kreuzer H. Slow flow in the coronary system and STelevation in the ECG in left atrium catheterization. *Z Kardiol* 1984; 73: 789-91.
48. Atak R, Turhan H, Sezgin AT. Effects of slow coronary artery flow on QT interval duration and dispersion. *ANE* 2003; 8: 107-111.

49. Cannon RO III. Microvascular angina and the continuing dilemma of chest pain with normal coronary angiograms. *J Am Coll Cardiol* 2009;54: 877– 885.
50. Leone MC, Gori T, Fineschi M. The coronary slow flow phenomenon: a new cardiac “Y” syndrome? *Clin Hemorheol Microcirc* 2008; 39: 185–190.
51. Nurkalem Z, Alper AT, Orhan AL, Zencirci AE, Sarı I, Erer B, et al. Mean platelet volume in patients with slow coronary flow and its relationship with clinical presentation. *Türk Kardiyol Dern Arşiv* 2008; 36: 363-367.
52. Demirkol MO, Yaymaci B, Mutlu B. Dipyridamole myocardial perfusion single photon emission computed tomography in patient with slow coronary flow. *Coron Artery Dis* 2002; 13(4): 223-229.
53. Li JJ, Zheng X, Li J. Statins may be beneficial for patients with slow coronary flow syndrome due to its anti-inflammatory property. *Med Hypotheses* 2007; 69: 333-337.
54. Aldridge WN. An enzyme hydrolyzing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953; 53: 117-124.
55. Ooms AJ, Boter HL. The reaction of cholinesterases and paraoxonase with S-alkyl p-nitrophenyl methyl phosphono thiolates. *Biochem Pharm* 1965; 12: 1839-1845.
56. Geld Macher-von Mallinckrodt M, Petenyi M, Flugel M, Burgis H, Dietzel B, Metzner H, et al. Genetically determined polymorphism of human serum paraoxonase (EC 3.1.1.2). *Humangenetik* 1973; 17: 331-35.
57. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PON1) expression. *AJHG* 2001; 68: 1428-1436.

58. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiology* 1985; 82: 675-677.
59. Mackness MI, Walker CH. Multiple forms of sheep serum A-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. *Biochem J* 1988; 250:539-545.
60. Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Bourquard N, Grijalva V, Hama S, et al. Paraoxonase-2 Deficiency Aggravates Atherosclerosis in Mice Despite Lower Apolipoprotein-B-containing Lipoproteins. *J Biol Chem* 2001; 281: 29491-29500.
61. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem-Biol Interac* 1999; 119: 379-388.
62. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. *DMD* 1991; 19: 100-106.
63. Lourdes R, Bharti M, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001; 354: 1-7.
64. Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enzymes. *NSMB* 2004; 11: 412-419.
65. Josse D, Xie W, Renault F, Rochu D, Schopfer LM, Masson P, et al. Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase /organophosphatase activities. *Biochemistry* 1999; 38: 2816-2825.
66. Costa LG, Cole TB, Jarvik GP, Furlong CE. Functional genomics of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: Effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu Rev Med* 2003; 54: 371–392.

67. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2214-2225.
68. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-85: identity of K-85 with paraoxonase. *EJB* 1993; 211: 871-879.
69. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369: 78-88.
70. Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Science* 2004; 107: 435-447.
71. Costa LG, Vitalone A, Cole T B, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) Activity. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 541-550.
72. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low density lipoprotein. *FEBS Letters* 1991; 286: 152-154.
73. Rousselot DB, Therond P, Beaudeau JL, Peynet J, Legrand A, Delatre J. High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 939-949.
74. Khersonsky O, Tawfik DS. The Histidine 115-Histidine 134 dyad mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonase. *J Bio Chem* 2006; 281: 7649-7656.
75. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du BN. Human serum paraoxonases isoenzymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic

carbonate esters. DMD 2000; 28: 1335-1342.

76. Beltowski J. Protein homocysteinylation: A New Mechanism of Atherogenesis. Postepy Hig Med Dosw 2005; 59: 392-404.
77. Pınar T, Sırrı F. Ç, Cevat Ş, Nurullah T, Emin A, Nuray A, Afig B. Paraoksonaz geninde Leu-Met (55) ve Gln-Arg (192) polimorfizmleri ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki Türk Kardiyol Dern Arşivi 2009; 37: 473-478.
78. Aynacıoğlu A, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyığıt EE, Roots I. Paraoxonase 1 Mutations in A Turkish Population TAAP 1999; 157: 174-177.
79. Brophy VH Jr, Clendenning JB, McKinsty LA, Jarvik GP, Furlong CE. "Effects of 5' Regulatory-Region Polymorphisms on Paraoxonase-Gene (PON1) Expression". Am J Hum Genet 2001; 68: 1428-1436.
80. Ombres D, Pannitteri G, Montali A, Candeloro A, Seccareccia F, Campagna F, et al. The Gln-Arg192 polymorphism of human Paraoxonase gene is not associated with coronary artery disease in Italian patients. Atheroscler Throm Vasc Biol 1998; 18: 1611-1616.
81. Agachan B, Ergen HA, Karaali ZE, Isbir T. PON1 55 and 192 Polymorphism and Its Effects to Oxidant-Antioksidant System in Turkish Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Physiol Res 2005; 54: 287-293.
82. Karakaya A, Ibis S, Kural T, Kose SK, Karakaya AE. Serum paraoxonase activity and phenotype distribution in Turkish subjects with coronary heart disease and its relationship to serum lipids and lipoproteins. Chem Biol Interact 1999; 118: 193-200.
83. Imai Y, Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Norihiro K, Ebihara A, et al. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases. Atherosclerosis 2000; 14: 435-442.
84. James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in coronary heart disease. Circulation

2000; 101: 2252-2257.

- 85.** Takeshi K, Tomoichiro O, Mitsuaki I, Tohru E, Takayuki F, Saito E, et al. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human serum paraoxonase concentration. *J Lipid Res* 2000; 41: 1358-1363.
- 86.** Costa LG, Vitalone A, Furlong CE. Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity. *Clin Chim Acta* 2005; 352: 37–47.
- 87.** La Du BN. "Human Serum Paraoxonase/Arylesterase. Genetic Factors Influencing The Metabolism of Foreign Compounds. (International encyclopedia of pharmacology and therapeutics) 2002; 51-91.
- 88.** Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. *JCI* 1998; 101: 1581-1590.
- 89.** Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI. Genetic polymorphism of paraoxonase and risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1067-1073.
- 90.** Odawara M, Tachi Y, Yamashita K. Paraoxonase polymorphism (Gln192-Arg) is associated with coronary heart disease in Japanese non–insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2257–2260.
- 91.** Serrato M. ve Marian AJ. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; 96: 3005-3008.
- 92.** Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington, PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 330-335.
- 93.** Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, et al. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more

important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 141-147.

94. Sanghera DK, Aston CE, Saha N, Kamboh MI. DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 36-44.
95. Azarsız E, Sözmen EY. Paraoksonaz ve Klinik Önemi. *Türk Biyo Derg* 2000; 25: 109-119.
96. Watson AD, Berliner JA, Rama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96: 2882-2889.
97. Parthasarathy S, Morales AJ, Murphy AA. Antioxidant: a new role for RU-486 and related compounds. *J Clin Invest* 1994; 94: 1990-1995.
98. Wallace, AJ, Sutherland WH, Mann JI, Williams SM. The effect of meals rich in thermally stressed olive and safflower oils on postprandial serum paraoxonase activity in patients with diabetes, *Eur J Clin Nutr* 2001; 55: 951-958.
99. Kaplan M, Hayek T, Raz A, Coleman R, Dornfeld L, Vaya J and Aviram M. Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis, *J Nutr* 2001; 131: 2082-2089.
100. Mosseri M, Yarom R, Gotsman MS, Hasin Y. Histologic evidence for small vessel coronary artery disease in patients with anjina and patent large coronary arteries. *Circulation* 1986; 74: 964-972.
101. Yılmaz H, Demir I, Uyar Z. Clinical and coronary angiographic characteristics of patients with coronary slow flow. *Acta Cardiol* 2008; 63: 579-584.
102. Caglayan AO, Kalay N, Saatci C, Yalcin A, Akalin H, Dundar M. Lack of association between the Glu298Asp polymorphism of endothelial nitric oxide

synthase and slow coronary flow in the Turkish population. *Can J Cardiol* 2009; 25: 69-72.

103. Chauhan A, Mullins PA, Taylor G, Petch MC, Schofield PM. Both endothelium dependent and endothelium independent function is impaired in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *Eur Heart J* 1997; 18: 60-64.
104. Suzuki H, Takeyama Y, Koba S, Suwa Y, Katagiri T. Small vessel pathology and coronary hemodynamics in patients with microvascular angina. *Int J Cardiol* 1994; 43: 139-150.
105. Opherk D, Zebe H, Weihe E, Mall G, Dürr C, Gravert B, et al. Reduced coronary dilatory capacity and ultrastructural changes of the myocardium in patients with angina pectoris but normal coronary arteriograms. *Circulation* 1981; 63: 817-825.
106. Catapano A, Maggi F, Tragni E. Low density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol* 2000; 15: 355-363.
107. Jialal I, Vega G, Grundy S. Physiological levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of LDL. *Atherosclerosis* 1990; 82: 185–191.
108. Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K, Chou MY, et al. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine* 2002; 8: 1218-1226.
109. Steinberg D. Atherogenesis in perspective: Hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nature Medicine* 2002; 8: 1211-1217.
110. Ko YL, Ko YS, Wang SM, Hsu LA, Chang CJ, Chu PH, et al. The Gln-Arg 191 polymorphism of the human paraoxonase gene is not associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan. *Atherosclerosis* 1998; 141: 259-264.
111. Suehiro T, Ikeda Y, Ohsaki F, Arai K, Kumon Y, Hashimoto K. Relationships between polymorphisms of the human serum paraoxonase gene and insulin

sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 60: 79-85.

112. Sanghera DK, Saha N, Aston C, Kamboh MI. The codon 55 polymorphism in the Paraoxonase 1 gene is not associated with the risk of coronary heart disease in Asian Indians and Chinese. *Atherosclerosis* 1998; 136: 217-223.
113. Aynacioglu AS, Kepekci Y. The human paraoxonase Gln-Arg192 (Q/R) polymorphism in turkish patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2000; 74: 33-37.
114. Kaman D, Ilhan N, Metin K, Akbulut M, Ustundag B. A preliminary study of human paraoxonase and PON1 L/M55-PON1 Q/R 192 polymorphisms in Turkish patients with coronary artery disease. *Cell Biochem Funct* 2009; 27: 88-92.
115. Balcerzyk A, Zak I, Krauze J. Synergistic effects between Q192R polymorphism of paraoxonase 1 gene and some conventional risk factors in premature coronary artery disease. *Arch Med Res* 2007; 38: 545-550.
116. Ozkok E, Aydin M, Babalik E, Ozbek Z, Ince N, Kara I. Combined impact of matrix metalloproteinase-3 and paraoxonase 1 55/192 gene variants on coronary artery disease in Turkish patients. *Med Sci Monit* 2008; 14: 536-542.

7. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2003 yılında girdiğim Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinden 2009 yılında mezun oldum. Aralık 2009'dan itibaren Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi kardiyoloji kliniğinde ihtisasıma devam etmekteyim.