

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KORONER ARTER HASTALARINDA ALPHA ADDUCİN
GLY460TRP GEN POLİMORFİZMİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet KÜÇÜKSU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Nevin İLHAN

ELAZIĞ
2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

Dekan

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Danışman

Uzmanlık Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

Sevgili Eşime, Kızım İsrhanur ve Elif İrem'e

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalıŐmalarım sırasında gerekli her tŒrlŒ desteği ve yardımı benden esirgemeyen değerli hocam, tez danıŐmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nevin İLHAN'a teŐekkŒrŒ bir borç bilirim. ÇalıŐmalarım sırasında ve eğitimim sŒresince yardım ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim Anabilim Dalımızın değerli Œđretim Œyeleri Prof. Dr. Necip İLHAN'a, Prof. Dr. M. Ferit GŒRSU'ya, Prof. Dr. Bilal ŒSTŒNDAĐ'a, Prof. Dr. İhsan HALİFEOĞLU'na, Doç. Dr. SŒleyman AYDIN'a ve Yrd. Doç. Dr. Dilara KAMAN'a teŐekkŒr ederim.

ÇalıŐmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Enver SANCAKDAR ve değerli asistan arkadaşlarıma ayrıca Biyokimya Anabilim Dalında gŒrevli bŒtŒn personele teŐekkŒr ederim. Varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim, bugŒne kadar her konuda beni destekleyen başta annem, babam ve eŐim olmak Œzere tŒm aileme teŐekkŒrŒ bir borç bilirim.

Bu tez, Fırat Œniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FŒBAP) YŒnetim Birimi BaŐkanlıđı tarafından 1859 numaralı proje ile desteklenmiŐtir.

ÖZET

Koroner arter hastalığı (KAH), özellikle sanayileşmiş ülkelerde ölümlerin başta gelen nedenidir ve etyolojisinde çok sayıda genetik ve çevresel faktör rol oynamaktadır. Koroner arter hastalığının klinik fenotipik özellikleri bilinmesine rağmen genetik varyantlar ile artmış risk arasındaki ilişki bilinmemektedir.

Alfa adducin geni, hem hipertansiyon için potansiyel bir risk faktörü olarak hem de antihipertansif tedavinin etkisinin değiştirilmesi için aday gen olarak ortaya çıkmıştır. Adducin her yerde bulunan bir hücre iskelet proteinidir ve iyon transportu gibi çeşitli diğer hücre fonksiyonlarını aktin ile spektrinin bağlanmasını teşvik ederek modüle edebilir. α -Adducin polimorfizminin tuz tutulumu ve HT eğilimi ile ilişkili olarak 460Trp allel varlığının, kardiyovasküler olay riskini artırdığı beklentisi beklenen sonuçtur.

Bu çalışmada; KAH için risk faktörü olarak belirlenen parametrelerin α -adducin Gly460Trp gen polimorfizmi ile olan ilişkisi ve KAH'da α -adducin Gly460Trp gen polimorfizminin rolü araştırılmıştır.

Çalışmada, Fırat Üniversitesi Hastanesi Kardiyoloji Kliniğine başvuran, anjiyografik olarak KAH tanısı alan yaşları 58.32 ± 11.01 arasında değişen toplam 270 hasta çalışma grubu ve anjiyografik olarak normal koroner arter saptanan yaşları 49.27 ± 10.51 arasında değişen 79 birey çalışmanın kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Koroner arter hastalığına sahip bireylerde GG, GT ve TT genotiplerinin frekansı sırasıyla % 83.7 (n=226), % 13.0 (n=35) ve % 3.3 (n=9) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise GG ve GT genotiplerinin frekansları sırasıyla % 84.8 (n=67) ve % 15.2 (n=12) oranında görülürken, TT genotip varlığı saptanmamıştır (n=0). Her üç genotipte de görülme sıklığı, gruplar arasında anlamlı görülmemiştir (p>0.05). Aynı zamanda α -adducin Gly460Trp genotipi ile yaş, cinsiyet, sigara, heredite ve HT gibi KAH risk faktörleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken sadece total kolesterol düzeyleri varyant allel taşıyan bireylerde anlamlı yüksek saptanmıştır (p<0.05).

Sonuç olarak bilinen risk faktörlerinin, KAH etyopatogenezinde, α -adducin Gly460Trp gen polimorfizminden bağımsız rol oynadığı, α -adducin Gly460Trp polimorfizminin, KAH için risk oluşturmadığı görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koroner arter hastalığı, hipertansiyon, α -adducin,

ABSTRACT

Alpha Adducin Gly460Trp Gene Polymorphism in Coronary Artery Disease

Coronary artery disease (CAD) is the most common cause of death especially in industrialised countries. Etiologically, genetic and environmental factors play an important role in the CAD. Although clinic and phenotypic features of CAD is known relationship between increased risk and genetic variants is unknown.

Alpha adducin gene is a candidate gene that potential risk factor for hypertension and changing efficacy of antihypertensive therapy. Adducin is a cell skeleton protein and plays an important role for ion transport. Adducin modulates connection between actin and spectrin. Polymorphism of α -adducin can cause salt retention and tendency for hypertension. On the other hand presence of 460Trp alleles can increase cardiovascular disease risk.

In this study we investigated relationship between α -adducin Gly460Trp polymorphism and CAD risk factors. 270 patients mean age 58.32 ± 11.01 included study whom CAD diagnosed with coronary angiography. In the control group there was mean age 49.27 ± 10.51 included 79 person whom normal coronary arteries diagnosed with coronary angiography.

In patients with CAD, GG, GT and TT genotypes frequency were respectively 83% (n=226), 13% (n=35) and 3.3% (n=9). In control group GG and GT genotypes frequency were respectively 84.8% (n=67) and 15.2% (n=12), there was no TT genotype in control group (n=0). Statistically difference has not been detected ($p > 0.05$). Also there were not relationship between α -adducin Gly460Trp genotype and age, smoking, sex, heredity and hypertension. There were statistically meaning difference between total cholesterol levels and in person carrying variant alleles.

As a result of, our study we conclude that α -adducin Gly460Trp polymorphism is not a risk factor for development of CAD.

Key Words: Coronary artery disease, hypertension, α -adducin

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri ve Vasküler Endotelium	1
1.2. Çeşitli Patolojik Durumlarda Endotel Fonksiyonu	2
1.2.1 Ateroskleroz	2
1.2.2. Diyabet	3
1.2.3. Hipertansiyon	4
1.2.4. Hiperkolesterolemi	4
1.2.5. Sigara	5
1.2.6. İnflamasyon	5
1.3. Alfa Adducin	7
1.3.1 α -Adducin'in Biyokimyasal Fonksiyonları	7
1.3.2 α -Adducin Polimorfizmi ve İlişkili Durumlar	9
1.3.2.1. α -Adducin Polimorfizmi ve Esansiyel Hipertansiyon	9
1.3.2.2. α -Adducin Polimorfizmi ve Kardiyovasküler Hastalıklar	9
1.3.2.3. α -Adducin Polimorfizmi ve Renal Hastalıklar	11

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	12
2.1. Hasta ve Kontrol Grupları İçin Bireylerin Seçimi	12
2.2. Örneklerin hazırlanması	12
2.3. DNA İzolasyonu	12
2.3.1. Alfa Adducin Gly460Trp Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Çoğaltılması	13
2.3.2. Alfa Adducin Gly460Trp Gen Polimorfizminin Tespiti	14
2.4. Biyokimyasal Ölçümler	14
2.5. Biyoistatistiksel Değerlendirme	14
3. BULGULAR	16
3.1. Çalışma Gruplarının Karakteristik Özellikleri	16
3.2. α -Adducin Gly460Trp Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımı	17
3.3. α -Adducin Gly460Trp Gen Polimorfizmi Genotipinin Çalışma Grupları Özellikleri ile İlişkisi	17
4. TARTIŞMA	19
5. KAYNAKLAR	25
6. ÖZGEÇMİŞ	36

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Koroner aterosklerozun gelişim evreleri	2
Tablo 2. Koroner Arter Hastaları ile Kontrol Grubuna Ait Özellikler	16
Tablo 3. Koroner Arter Hastaları ve Kontrol Grubunda Adducin Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımları	17
Tablo 4. Demografik Özellikler ve Lipid Düzeylerinin Adducin Gly460Trp Genotipi ile İlişkisi	18

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Koroner arter hastalığı oluşumu	3
Şekil 2. Hipertansif rat ve insanlarda tespit edilmiş ADD1, ADD2 ve ADD3 tek nükleotid polimorfizm (TNP) gen yapısı	8
Şekil 3. Renal tübüler hücre içinde hücre iskeleti ve membran proteini ile adducin etkileşiminin şematik modeli	10
Şekil 4. α -Addusin Gly460Trp gen polimorfizmi RFLP öncesi görüntüsü	15
Şekil 5. α -Addusin Gly460Trp gen polimorfizmi RFLP sonrası genotiplerinin görünümü	15

KISALTMALAR LİSTESİ

KAH	: Koroner arter hastalığı
HT	: Hipertansiyon
Total-K	: Total kolesterol
HDL-K	: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol
LDL-K	: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol
TG	: Trigliserit
NO	: Nitrik oksit
ADD1	: α -Adducin Gly460Trp Polimorfizmi
Gly	: Glisin
Trp	: Triptofan
TNP	: Tek nükleotid polimorfizm
Na	: Sodyum
K	: Potasyum
Cl	: Klor
Ca	: Kalsiyum
RPLF	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
MI	: Miyokard infarktüsü

1. GİRİŞ

Günümüzde koroner arter hastalığı (KAH), tüm dünyada toplum sağlığını tehdit eden en büyük etkenlerden biri olarak yerini korumaktadır. Amerika'da erkek ve kadınlar arasında mortalite nedenleri arasında en önde gelmektedir (1). Avrupa toplumlarında ise toplumun % 60'ından fazlası için mortalitenin direk sebebi olarak gösterilmiştir (2). Toplumumuzda her altı kişiden birisi 60 yaşından önce KAH nedeni ile ölmektedir (3).

Koroner arter hastalığı etyolojisinde birçok etken rol oynamakta ve en çok ateroskleroz suçlanmaktadır. Koroner arter hastalığı gelişimi uzun bir asemptomatik faz ile karakterizedir. Bu süreç yaklaşık on yıl kadar sürer ve sonuçta aterosklerotik plak oluşumuna ilerler (Tablo 1). Bu plaklar kararsız veya obstrüktif hale geldiği zaman iskemik sendromlara yol açar, ateroskleroz ve KAH'ın klinik belirtileri görülür (Şekil 1) (4).

Koroner arter hastalığına neden olan aterosklerozun, damar duvarına karşı gelişmiş çeşitli etkenler sonucu ortaya çıkan spesifik koruyucu, yangısal fibroproliferatif bir yanıt olduğu ileri sürülmektedir (5,6). Son birkaç on yıl boyunca vasküler biyoloji ve klinik anlayıştaki gelişmeler, inflamatuvar sürecin, aterosklerozun sadece başlatılmasında ve ilerlemesinde değil, aterosklerotik plağın stabilitesinde dahi önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (7-9). Yine araştırmalar, vasküler endoteliumun önemli bir odak noktası oluşturduğunu göstermiştir. Kardiyovasküler hastalıklar için geleneksel ve yeni risk faktörleri, kronik inflamatuvar süreci tetikleyebilir ve bu durum vasküler endoteliumun vazodilatatör ve antitrombotik özelliklerinin kaybına eşlik eder (10-12).

1.1. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri ve Vasküler Endotelium

Çeşitli nedenler, endotel fonksiyon ve yapısına zarar verebilir. Bu durumlar içerisinde fiziksel, biyokimyasal yaralanmalar ve immün kaynaklı hasar sayılabilir. Bu etkenler endotel fizyolojisinde değişime, normal işlevinde bozulma veya kaybı ile sonuçlanır. Endoteliumdan salınan vazokonstriktör veya vazodilatatör ajanların salınımında dengesizliğin gelişmesi, endotelial disfonksiyona ve endotelium bağımlı vazodilatasyonun bozulması ile sonuçlanır (13).

Çeşitli invaziv ve invaziv olmayan teknikler göstermiştir ki KAH ve bu artmış kardiyovasküler risk faktör profili endotel disfonksiyon ile birliktelik göstermektedir (4). Bazı kardiyovasküler risk faktörleri, sürekli olarak normal endotel fizyolojisinde bozukluklar ile ilişkilendirilmiştir. İleri yaş ve erkek cinsiyet, değiştirilemez risk faktörleri olarak sayılmaktadır. Değiştirilebilir risk faktörleri içerisinde en önemlisi aterosklerotik hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan hiperkolesterolemidir. Diğerleri sigara, hipertansiyon ve diyabettir. Bu risk faktörleri hangi yaş ve cinsiyet olduğuna bakılmaksızın koroner ve serebral olaylar için önemli risk faktörleri olarak gösterilmiştir (10,14,15). Batılılaşma ile ilişkili olarak da yeni risk faktörleri tanımlanmıştır. Bunlar arasında obezite, aterojenik diyetin hayata girişi, fiziksel hareketsizlik bu süreçte önemli rol oynamaktadır (16-18).

Buna ilave olarak epidemiyolojik veriler infeksiyon ve kronik inflamasyonun endotel disfonksiyonu tetikleyebileceği ileri sürülmüştür (19). Son zamanlarda hafif nonspesifik viral infeksiyonların, vasküler endotel üzerinde belirgin zararlı etkileri olduğu bulunmuştur (20,21).

Endotel disfonksiyon ve KAH etyolojisini belirlemede serum homosistein düzeylerinin yükselmesi, doğum ağırlığı ve endotel biyolojiyi düzenleyen genlerin ekspresyonunu etkileyen polimorfizmleri kapsayacak şekilde liste artmaktadır.

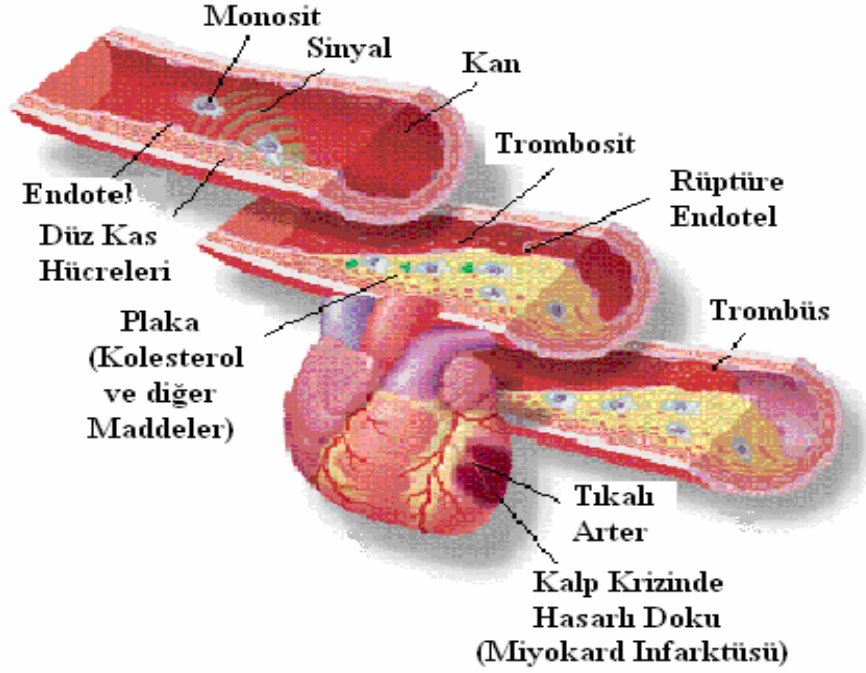
1.2. Çeşitli Patolojik Durumlarda Endotel Fonksiyonu

1.2.1 Ateroskleroz

Ateroskleroz, endotel disfonksiyonu ve inflamasyonun kombinasyonundan doğan dinamik ve ilerleyici bir hastalık olarak kabul edilir (Tablo 1).

Tablo 1. Koroner aterosklerozun gelişim evreleri (22).

Kronik endotel zedelenmesi, artmış geçirgenlik ve adezyon
Monosit ve trombosit adezyonu, lipidlerin endotele göçü
İntima tabakasında, monosit ve makrofajlarda lipidlerle birlikte birikim
Kemotaksis ve sonrasında büyüme faktörlerinin uyarımı ile intimal düz kaslarda artış
Makrofaj ve düz kas hücrelerinin lipidleri fagosite etmesi
Yağlı çizgilenme
Düz kas hücrelerinin proliferasyonu
Fibröz plak oluşumu



Şekil 1. Koroner arter hastalığı oluşumu. Endotelde zedelenme, monosit adezyonu, kemotaksis, lipidlerin endotele göçü, düz kas hücre proliferasyonu ve lipid fagositozu, fibröz plak oluşumu, fibröz plakta yırtılma, trombüs oluşumu, koroner arterde tıkanma ve myokard infarktüsü.

1.2.2. Diyabet

Endotel hücreleri diyabetik ortamın bir hedefidir ve endotel disfonksiyonunun, bu hastalık durumlarının vaskülopatisinde en önemli rolü oynadığı düşünülmektedir. İnsanlarda kanıtlar endotelial disfonksiyonun tip 1 ve tip 2 diyabetin her iki tipinde de mikroanjyopati ve ateroskleroz ile ilişkili olduğunu göstermiştir (23). Bir kez gerçekleşen endotelial disfonksiyon, vaskülopati ve hastalığın ilerlemesi ile daha da kötü değişikliklere neden olabilir. Hiperglisemi hücresel NADPH havuzunun tükenmesine neden olarak redoks durumlarda hücresel değişikliklere neden olabilir. Diyabetiklerde oksidatif stres ve okside lipoproteinler yüksek düzeydedir. Özellikle çok küçük yoğun LDL-K'da bir artış eğilimi vardır. Yağ asidi ve hipergliseminin yüksek düzeyleri proteinlerde olduğu gibi fosfolipidlerin oksidasyonunun artan düzeylerine neden olduğu görülmüştür. Bu durum insanlarda protrombotik durum ile ilişkilidir. Genel konsensus, diyabette

endotel hücre disfonksiyonu oluşumu, mikro ve makroanjyopatinin gelişmesinde yüksek risk oluştursa da, bu hastalıkta endotel hücre disfonksiyonunun diyabetik durumun predispoze olmasına rağmen nedeni açıklamak için yeterli olmadığı yönündedir. Daha büyük olasılıkla genetik ve çevresel etkenler, endotel hücre disfonksiyonu ve agresif anjyopati gelişimini belirlemede önemli bir role sahiptir (24).

1.2.3. Hipertansiyon

Fizyolojik koşullar altında damar endoteli mekanik ve biyokimyasal agonistler için antiplatelet, anticlotting, fibrinolitik, vazodilatasyon oluşturarak vazokonstrüktör faktörlere yanıt verir (25). Bilinen en iyi endotel kaynaklı gevşeme faktörleri, NO, endotelyum kaynaklı hiperpolarize faktör ve prostasiklin I₂'dir (26,27). Prospektif çalışmalarda sistemik hipertansiyonu olan hastalarda endotel disfonksiyonunun farklı yönleri değerlendirilmiş ve tuz duyarlı HT'de endotel disfonksiyonu, kusurlu endotel bağımlı vazodilatasyon ile ilişkilendirilmiştir (28).

1.2.4. Hiperkolesterolemi

Kolesterol, prematür KAH için en iyi bilinen risk faktörlerinden biridir. Kolesterol düzeyleri ile KAH riski, güçlü ve doğrusal bir ilişki gösterir. Hiperkolesterolemide, artmış total kolesterol ve LDL-K, hem periferel hemde koroner dolaşımda endotel fonksiyonlarda bozulmayı gösteren sonuçlar, bu ilişkiyi göstermektedir (24).

Çalışma sonuçları, kolesterol düzeylerinin normal bile olsa endotel bağımlı vazodilatasyon ile ters ilişkili olabileceğini, sonuçta önemli klinik sonuçlar doğurabileceğini göstermiştir. Kolesterol düzeyleri normal aralıkta olduğunda bile bu kolesterol düzeylerini düşürmek, endotel bağımlı NO salınımı ve üretimi iyileştirebilir ve dolayısıyla endotel fonksiyonu düzeltilebilir (29). Bundan yola çıkarak son kayıtlarda sadece çok yüksek kolesterol düzeyleri değil aynı zamanda normal kolesterol düzeylerinde de düşürülmüş kolesterol düzeylerinin endotel bağımlı vazodilatasyonu artırdığını desteklemektedir.

1.2.5. Sigara

Akım aracılı dilatasyon aktif ve pasif sigara içenlerde, içmeyenlerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak bozulmuştur. Pasif sigara içenlerde tütün dumanına maruz kalmanın yoğunluğu ile akım aracılı dilatasyon arasında ters ilişki vardır. Sigara içmek, ateroskleroz gelişimi için major kardiyovasküler risk faktörlerinden biridir. Çeşitli araştırmacılar sigaranın endotelial disfonksiyon ile ilişkisini bildirmişlerdir. İnsan önkol çalışmalarında, kronik sigara içenlerde akım bağımlı dilatasyonun azaldığı gösterilmiştir ayrıca asetilkoline vazodilatatör yanıt azalmıştır ki bu durum artmış oksidatif stres ile ilişkilidir. Kanıtlar sigaranın lipoproteinlerin değişikliğe uğraması ile oksidatif hasara yol açtığı ve böylece büyük olasılıkla NO inaktivasyonunu gerçekleştirdiği yönündedir (30-35).

1.2.6. İnflamasyon

Birçok araştırmacı, inflamatuvar yanıtın, endotel fonksiyonu bozduğu hipotezini açıklamak, sistemik inflamasyon ve iskemik sendromlar arasında bir bağlantı olabileceğini keşfetmek için çalışmalar yapmışlardır (24). Bu çalışmalar ışığında, KAH olan hastalarda artmış CRP düzeyleri, önkol endotelial vasküler reaktivitenin bozulması ile ilişkili bulunmuştur. Daha önemlisi CRP düzeylerinin normalleştirilmesi ile endotelial yanıtta iyileşme arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir. Son çalışmalar, CRP düzeylerinin, bazal endotelial NO sentezi ile de ters ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu veriler endotelial disfonksiyonun düşük dereceli kronik inflamasyon ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkide önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir (25,36-39).

Çoğu zaman bir risk faktörü klinik olarak önemli bir hastalığın gelişme riskini önceden haber verdiği gibi oluşumunda da sorumludur.

Hipertansiyon, kalp ilişkili strok ve toplum sağlığını ağır biçimde etkileyen durumlar için önemli risk faktörüdür. Çünkü yüksek prevalansa sahiptir. Örneğin Avrupa ve Amerika popülasyonunda %15-20 düzeyinde görülmektedir. Kan basıncının güçlü genetik faktörlere sahip olduğu bilinmesine rağmen esansiyel HT'ye duyarlılığı artıran sorumlu genler çoğunlukla bilinmemektedir. İnsan ve hayvan modellerindeki çalışmalarda genetik faktörlerin kan basıncı regülasyonunda etkin olduğu görülmüştür (40).

Koroner arter hastalığı riskini artıran risk faktörlerini saptamaya yönelik çok sayıda epidemiyolojik çalışma vardır. Hipertansiyonun, özellikle hiperkolesterolemi, sigara ve diyabet gibi diğer risk faktörlerinin varlığında KAH için en önemli risk faktörü olduğu düşünülmektedir (41). Avrupa toplumlarında yapılmış çalışmalarda hipertansiyonun, kronik, yaş ilişkili bir durum olup bütün yetişkinlerin hemen hemen % 20'sini etkilediği, kardiyovasküler komplikasyon gelişiminden ve hemen hemen bütün strokların % 70'inden sorumlu olduğu bulunmuştur (2). Sağlık ve ekonomik açıdan bakıldığında hem Avrupa hem de Amerika'da 50 yılı aşkın bir süredir hastalara hipertansiyon ilaç reçeteleri yazılmaktadır (42).

Hipertansiyon, genetik, çevre ve yaşam biçimi faktörleri arasındaki karışık ilişki boyunca oluşur (43). Otuz yıl kadar önce esansiyel HT'nin etiolojisindeki genetik yapının önemi hakkında ilk çalışmalar başlamıştır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda pozitif aile öyküsünün etiyopatogeneizde etkin olduğu, anne ya da babadan biri hipertansif ise çocuklarında HT gelişme riskinin iki kat arttığı saptanmıştır (44).

Riskli hastaların belirlenmesi, hastaların tedavisinde olduğu gibi yetersiz kalmaktadır (45). Hipertansiyon ve antihipertansif ilaçlara yanıt ile ilişkili olarak olumsuz sonuçlar, genetik varyasyonların bu her iki durumu etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (46). Bu genetik varyasyonun dikkate alınması, farmakokinetiğe dayalı tedavi yaklaşımı ile antihipertansif ilaçların bireysel seçimi, gelişmiş kan basıncı kontrolü ve belirli bir süre tedavi ile zararlı etki olasılığını en aza indirmek, yarar olasılığını en üst düzeye çıkarmak suretiyle olumsuz sekelleri azaltmayı mümkün kılabilir (47).

Gelecek kardiyovasküler olayları belirlemek amacıyla invaziv olmayan ölçüm yöntemlerini irdeleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır. Örneğin topuk-kol indeksi periferik arter hastalığının non invaziv bir ölçütü olup gelişebilecek kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin hipertansiyonlu hastalarda yüksek belirleyicisi olarak kullanılmıştır (48,49). Hipertansiyon ve KAH arasında kurulan bu ilişki en azından ortaklaşa birkaç geni paylaşabileceklerini gösterir. Genetik ve moleküler tıpta teknolojik ilerlemeler ile kan basıncında bozulmaya neden olan 17 insan geni

mendeliyan formları gösterilmiştir (50). Örneğin alfa-adducin (ADD1) polimorfizmi esansiyel HT için önem arz etmektedir (51-58).

1.3. Alfa Adducin

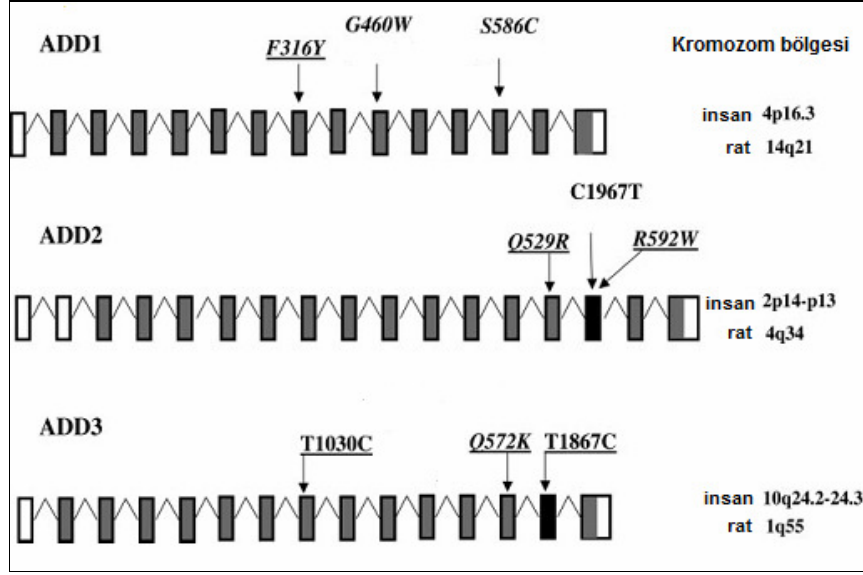
Son 10 yılda olumlu ve olumsuz çalışmaların her ikisi, tek nükleotid polimorfizm aday genler ile HT'yi ilişkilendirmeye çalışmışlardır. Bu konuda en sık ve en iyi çalışılan aday gen α -adducin genidir. İnsanlarda, ADD1, ADD2 ve ADD3 olmak üzere üç gen, sırasıyla 4p16.3, 2p14-p13 ve 10q24.2-24.3'de adducinün üç alt birimini kodlar (şekil 2). Adducin proteini, bu her biri ayrı fakat homolog genlerle kodlanan 3 farklı alt ünitenin [bir α -subünit (103 kDa), bir β -subünit (97 kDa) veya bir γ -subünit (90 kDa)], ikisinin (ya α/β yada α/γ heterodimerleri) kombinasyonundan oluşan bir heterodimerik hücre iskelet proteindir. Özellikle α alt biriminin iki polimorfizmi son 10 yılda özel ilgi görmüştür. Bunlar Gly460Trp polimorfizmi ki bu polimorfizm G460W olarak da adlandırılmıştır ve daha az çalışılan S586C polimorfizmidir. Gly460Trp varyant prevalansı güçlü bölgesel ve ırksal farklılıklar göstermiştir (59). Cusi ve ark.'nın (53) HT'nin tuz duyarlı formu ile 460Trp allel ilişkisini göstermesi bu çalışmaların dönüm noktası olmuştur.

Alfa adducin geni 4. kromozom 4p16.3 bölgesinde, 16 ekzona sahiptir. En sık görülen mutasyon ekzon 10 üzerinde 614. pozisonda Glisin-Triptofan (Gly-Trp) değişimi ile görülen Gly460Trp mutasyonu olduğu açıklanmıştır (52).

Beta adducin alt ünitesini kodlayan gen kromozom 2p13'te lokalizedir ve 17 ekzondan oluşur. Beta adducin geninde ekzon 15 teki 1967. pozisyonunda yaygın bir tek nükleotid polimorfizmi (C1967T) tanımlanmıştır (60). Gama adducin alt ünitesini kodlayan gen ise kromozom 10q25.1-q25.2 bölgesinde lokalizedir, 15 ekzonluk bir bölge içerdiği bildirilmiştir (61). Bu bölge tarafından kodlanan proteinin spektrin-aktin bağlanmasını desteklediği ve kalmoduline bağlandığı bilinmektedir (62).

1.3.1 α -Adducinün Biyokimyasal Fonksiyonları

Hücrede, hücre iskeleti protein ağı ve integral membran proteinleri arasındaki etkileşim çeşitli fonksiyonlar için esastır. Buna örnek, hücre polarite ve iyon transportu düzenlenmesi verilebilir (64-67). Bu durum, band 3 anyon değiştiriciler (68), epitelyal Na kanalları (66), Na-K-Cl kotransporu (69) ve Na-K-ATPaz (70) ile aktin tabanlı hücre iskeletinin etkileşimine sahip olması ile gösterilmiştir (şekil 3).



Şekil 2. Hipertansif rat ve insanlarda tespit edilmiş ADD1, ADD2 ve ADD3 tek nükleotid polimorfizm (TNP) gen yapısı. Adducin geninin exon ve intron yapısı, kutular ve çizgiler ile belirtilmiştir. Açık ve kapalı kutular sırasıyla mRNA bölgelerinin kodladığı ve kodlamadığı exonları temsil etmektedir. ADD2 ve ADD3'teki siyah dolu kutular sırasıyla ADD2-β4 ve ADD3-γ2 izoformlarının alternatif bağlanma exonlarını göstermektedir. İnsan ve rat (altı çizili) TNP konumları okla gösterilmiştir. Tek nükleotid polimorfizm koordinatları, sessiz veya intronik mutasyon için nükleotid değişikliği ve missens mutasyon için amino asit değişikliğine (tek harf kodu, italik) dayanır. İnsan ve rat gen lokalizasyonları sağ tarafta bildirilmiştir (63).

Spektrin molekülleri, kısa aktin filamentleri tarafından oluşturulan poligonal bir diziye bağlıdır (71). Bu kavşaklarda adducin dahil aksesuar proteinler bulunmaktadır. Adducinün rolünün, aktin ve spektrinün bağlanmasının regülasyonu olduğuna inanılmaktadır (72). Bunu aktin filamentlerinin sıkıştırılması ve doğrudan bağlanması ile gerçekleştirir. Bu durum birçok dokuda hücre hücre kontaktını sağlayarak hücre içine doğru kontraktiletiyi başlatır (73). Sonuç olarak adducin, transmembran proteinlerin açığa çıkması ve hücre iskeletinin yapısının modülasyonunu sağlar. Stoplazmadan hücreye, hücreden hücreye kontakt sağlayan intraselüler Ca ve fosforilasyonun kontrolünde rol oynar.

Adducin, aktin ve spektrin için bağlayıcı rol oynaması yanında, aktin, hücre iskeleti ve Na-K pompası aktivitesinin modülasyonu arasında iyon transportunu da etkilemektedir (74,75). Adducin geninin (ADD1), 460Trp taşıyan alleli (varyant

allel), homozigot Gly460 alleli (Whild tip allel) ile karşılaştırıldığında daha yüksek Na-K pompa faaliyeti göstermektedir. Bu nedenle renal tübüler Na reabsorpsiyonu yüksek oranlarda görülür (76,77). Gly460Trp polimorfizmi hepsinde değil ama pek çok populasyonda kan basıncı düzeyleri ve HT riski ile ilişkili bulunmuştur (63). Yüksek sistolik kan basınçlı hastalarda α -adducin polimorfizmi açısından T allel taşıyıcıları, G allel taşıyıcılarıyla karşılaştırıldığında T allel taşıyıcılarında mortalite riskinin artmış olduğu da gösterilmiştir (78). Ayrıca bu polimorfizm, tuz duyarlılığı (79), ki bu durum kardiyovasküler olaylar için bir risk faktörüdür, ile ilişkilendirilmiştir (80). Nitekim 460Trp alleli taşıyıcıları KAH için artmış riske sahip bulunmuşlardır. Ancak bu bulgular tartışmalıdır (63,81).

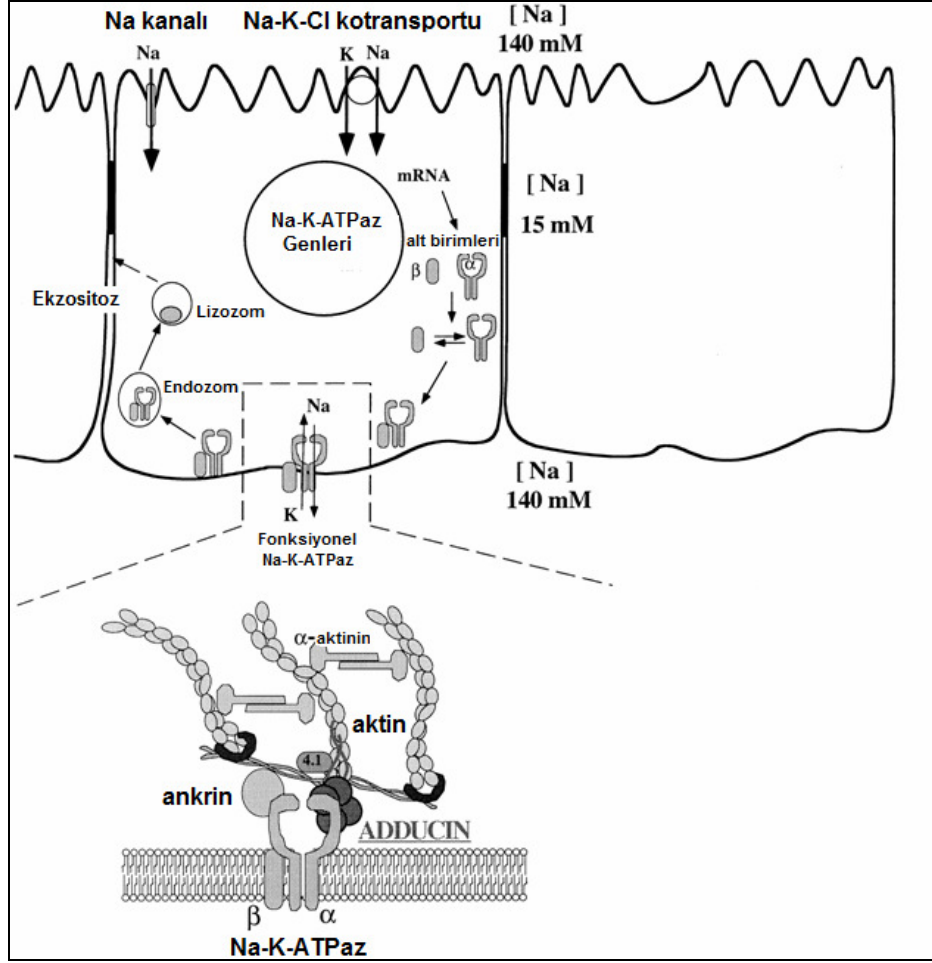
1.3.2 α -Adducin Polimorfizmi ve İlişkili Durumlar

1.3.2.1. α -Adducin Polimorfizmi ve Esansiyel Hipertansiyon

Kafkas populasyonunda yapılmış bir çalışmada α -adducin ile HT arasında bir bağlantı gösterilmiştir. Gly460Trp polimorfizmi İtalyan ve Fransız populasyonunda vaka kontrol çalışması ile test edilmiş ve HT ile mutasyona uğramış allel (Trp) arasında önemli bir ilişki gösterilmiştir (normotansif % 13.6, hipertansif % 20.7, $p=0.001$). Son zamanlarda Gly460Trp alleli varyantı bir Japon vaka kontrol çalışmasında da HT ile ilişkili bulunmuştur (82). 460Trp allel sıklığı diğer Avrupa populasyon çalışma kayıtlarına göre bu çalışmada daha yüksek bulunmuştur (Japon hipertansif % 65.6, Japon normotansif % 52.9 $p=0.0087$). Ayrıca İtalyan genel nüfusunda bu polimorfizm kan basıncı ve kardiyovasküler yapı ile ilişkisi araştırılmış ve 460 Trp alleli taşıyan hastalarda yüksek kan basıncına doğru bir eğilim gözlenmiştir (54). Tüm bu farklı populasyon çalışmalarında, HT ile α -adducin arasında anlamlı bağlantı olduğu gösterilmiştir.

1.3.2.2. α -Adducin Polimorfizmi ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Yapılmış üç çalışma (81,83,84) kayıtlarının ikisinde (81,84) koroner olaylar ve hipertansif hastalarda ADD1 T alleli arasında bir ilişki gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada (85) T allelinin sıklığı 75 yaş altında MI geçirenler aynı yaş grubu kontroller ile karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur. Bir diğer bulgu, yüksek riskli T allel taşıyıcılarının erken ölümü veya bu allelin koruyucu etkisi olabileceği yönündedir (85).



Şekil 3. Renal tübüler hücre içinde hücre iskeleti ve membran proteini ile adducin etkileşiminin şematik modeli. Hücre iskelet proteini adducin, aktin filamentleri ve Na-K-ATPaz alt birimi ile birlikte gösterilmiştir. Aktin filamentleri, talin, fodrin ve integrin gibi diğer membran iskelet bileşenleri ve spektrin filamentleri ile ilişkilidir. Na-K pompası, sırasıyla lüminal membrandan Na girişine izin vererek bazolateral membranda Na gradiyentinden sorumludur. Adducin polimorfizmleri, Na-K pompasının modülasyonu ile Na transportunu etkileyebilir (74).

Winnichi ve ark. (86), sol ventrikül hipertrofisi ve ADD1 TT genotip ve kardiyak hipertrofi arasında bir ilişki nitelendirmişlerdir. Belçika populasyonunda yapılmış bir başka çalışmada (87), ADD1 polimorfizmi femoral arter intima-media kalınlığı ile ilişkili bulunmuştur (88). Serebrovasküler hastalıklar ADD1 arasındaki ilişkiyi gösteren iki çalışmada (83,89), hemorajik inme tek başına veya birlikte iskemik inme ilişkisi bakıldığında sadece iskemik inmede bir ilişki saptanmıştır (90).

1.3.2.3. α -Adducin Polimorfizmi ve Renal Hastalıklar

Polikistik böbrek hastalığı olanlarda yapılmış iki çalışmada (91,92), ADD1 T allel frekansının, renal replasman tedavi süresi üzerine anlamlı farklılık göstermediği gözlemlenmiştir. Nicod ve ark. (93) çeşitli nedenli nefropatisi olan 260 hastada, tanı ve son dönem böbrek yetmezliği gelişimi arasında ortalama gecikme süresini, sırasıyla ADD1 GG ve ADD1 TT homozigotlarda 11.6 yıl ve 4.6 yıl ($p<0.003$). olarak bulmuşlardır. Başka araştırmacılar (94), böbrek yetmezliği ilerlemesinde ADD1 GT ve ACE ID polimorfizmi arasında bir etkileşim bildirmişlerdir. Bir diğer iki çalışmada (95,96), ADD1 TT genotip taşıyan hipertansiflerde GFR ve efektif plazma volümünde bir azalma olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmanın amacı; yüksek KAH riski taşıyan Türk popülasyonunda KAH'ları için risk faktörü olarak belirlenen parametrelerin düzeylerinin saptanması, bu parametrelerin birbirleri ile ve α -adducin Gly460Trp gen polimorfizmi ile olan ilişkilerinin incelenmesi ve KAH'da α -adducin Gly460Trp gen polimorfizminin rolünü araştırmaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Hasta ve Kontrol Grupları İçin Bireylerin Seçimi

Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Hastanesi Kardiyoloji Kliniğine başvuran, anjiyografik olarak koroner arter hastalığı tanısı alan yaşları 58.32 ± 11.01 arasında değişen toplam 270 hasta çalışma grubu ve anjiyografik olarak normal koroner arter saptanan yaşları 49.27 ± 10.51 arasında değişen 79 birey çalışmanın kontrol grubu olarak seçilmiştir. Koroner kalp hastalığı olanların, koroner anjiyografileri değerlendirilerek damar tıkanıklığı sayısı, lezyon yerleri ve uzunluğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışmaya başlamadan önce fakültemiz etik kurulunun onayı alınarak hem kontrol grubunu hem de hasta grubunu oluşturan bireylere çalışmanın amacı, yapılacak işlemler anlatılarak yazılı izinleri alınmıştır. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin anamnezleri alınarak sistolik ve diyastolik kan basınçları ölçülmüş ve aile hikayeleri, alışkanlıkları yönünden sorgulanmıştır. Sistolik kan basıncı 140 mmHg, diyastolik kan basıncı 90 mmHg ve üzerinde olan bireyler hipertansiyonlu hasta olarak değerlendirilmiştir.

2.2. Örneklerin hazırlanması

Çalışmaya dahil edilen bireylerden K_3 -EDTA içeren tüp ve düz biyokimya tüpüne 2'şer mililitre kan örneği alındı. K_3 -EDTA içeren kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılırken, düz biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 1500 rpmde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve -20°C 'de saklandı. Serum örneklerinde Glukoz, Total Kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, Trigliserid, Üre, Kreatinin ve Serum Elektrolit düzeyleri ölçüldü.

2.3. DNA İzolasyonu

Lökosit örneklerinden ticari bir DNA izolasyon kiti (Wizard Genomic DNA Purification Kit. For Laboratory USE. 500 isolations Lot: 253596, Cat: A1125) kullanılarak kitte belirtildiği biçimde yapıldı. Sonuçta elde edilen 100 μl genomik DNA ilerde PCR için kullanılmak üzere -80°C ' saklandı.

Kullanılan Malzemeler:

Primerler: (Integrated DNA Technologies)

Taq DNA Polimeraz, 10X PCR buffer, MgCl₂: (Sigma-Aldrich Co St, Louis, MO, ABD)

dNTP'ler: (100 mM set, Invitrogen)

Thermocycler: (Bio-Rad Laboratories, ABD; Molecular Imager Gel Doc XR)

Agaroz: (Bioron GmbH, Ludwigshafen, Almanya)

Borik Asit, EDTA.2H₂O: (Merck, Darmstadt, Almanya)

Etidyum Bromür: (100mg/ml) (Dr.Zeydanlı Hayat Bilimleri, Ankara, Türkiye)

100-1.5 bp DNA Marker: (Bioron GmbH, Ludwigshafen, Almanya)

50-1000 bp DNA marker: (Bio Basic Inc. Ontario, Kanada)

Sau96I (Cfr13I) kesim enzimi: (Lot: 00041101, Fermentas)

PsyI (Tth111I) kesim Enzimi: (Lot: 00022395, Fermentas)

1 X TBE Tamponu: 21.8 gr Tris, 11.2 gr borik asit ve 1.66 gr EDTA.2H₂O 2 L distile suda çözülerek hazırlandı.

2.3.1. Alfa Adducin Gly460Trp Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Çoğaltılması

Alfa-Adducin Gly460Trp gen bölgesinin, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması için kullanılan primer dizileri;

Primer-1 R-5'CTC CTT TGC TAG TGA CGG TGA TTC'3 ve

Primer-2; F-5'GAC TTG GGA CTG CTT CCA TTC GGC C'3

PZR için 25µl lik karışım (Mix) literatürde belirtildiği biçimde hazırlandı. PZR karışımı thermocyclerda amplifikasyona bırakıldı. Amplifikasyonda 95°C'de 4 dakikalık ön denatürasyondan sonra denatürasyon için 94°C'de 1 dakika, bağlanma için 62°C'de 1 dakika, sentez için 72°C'de 1 dakika olacak şekilde 40 döngü ve son uzama aşamasında 72°C'de 5 dakika olacak şekilde yapıldı (90).

2.3.2. Alfa Adducin Gly460Trp Gen Polimorfizminin Tespiti

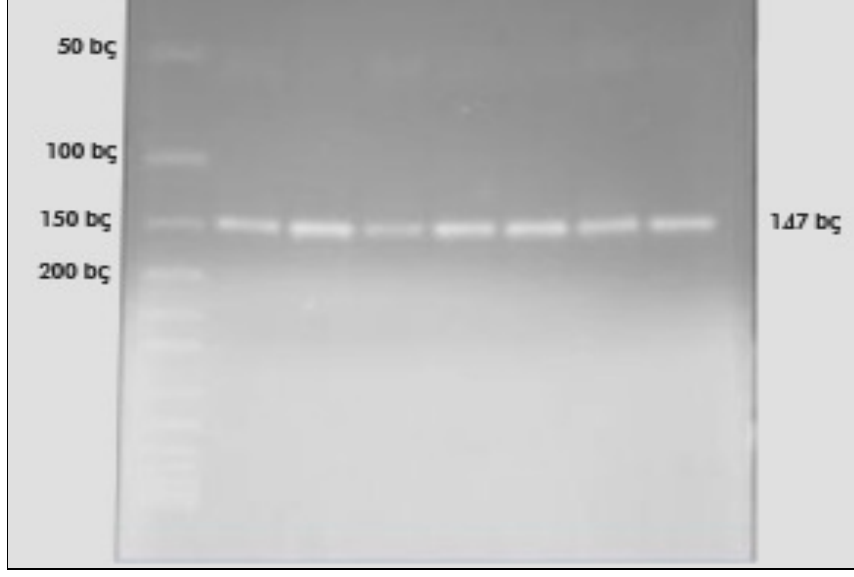
Polimeraz zincir reaksiyonu ürünü sonrasında 1 ünite Sau96I kesim enzimi ile kesime bırakıldı. Sonrasında α -adducin Gly460Trp polimorfizmini saptamak için, 1X TBE ile hazırlanmış içine etidyum-bromür katılmış %3'lük agaroz jele 100 bç'lik DNA ladder ile PZR kesim ürünü ekimi yapılarak, 120 Volt 75mA akımda elektroforez sonrası UV transilluminatörde DNA'ların görüntülenmesi yapıldı. α -adducin Gly460Trp polimorfizmi için heterozigot (GT) olanlar 147, 122 ve 25 bç ile 3 bölgede, homozigot (GG) olanlar ise 122 ve 25 bç bandında, homozigot (TT) ise 147 bç bandında RFLP öncesi ve sonrasında şekil 4 ve şekil 5'te görülmektedir (90).

2.4. Biyokimyasal Ölçümler

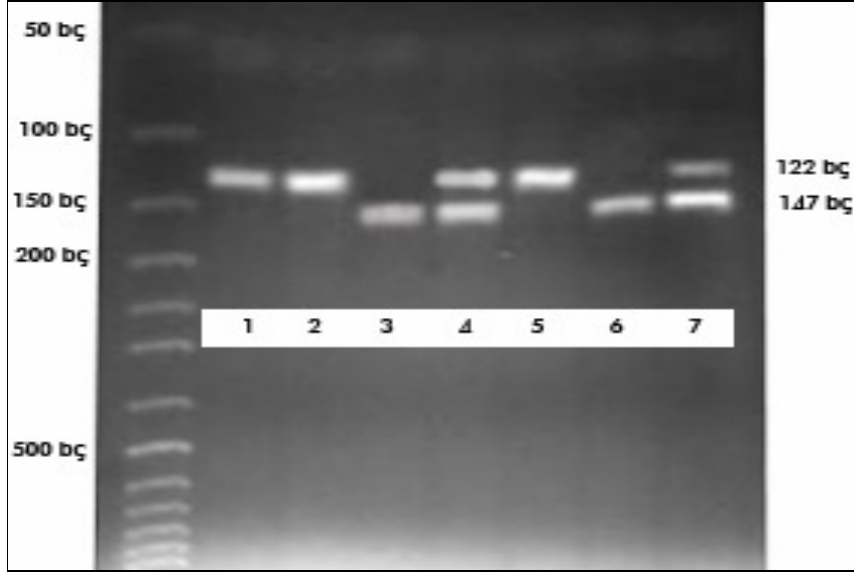
Örnekler çözdürüldükten sonra serum glukoz, (Katalog No: OSR6209), total kolesterol (Katalog No: OSR6216), HDL-K (Katalog No: OSR6287), LDL-K (Katalog No: OSR6283) ve TG (Katalog No: OSR6118) Na (Katalog No: OE66319), K (Katalog No: OE66320), üre (Katalog No: OSR6234), kreatinin (Katalog No: OSR6178) düzeyleri Olympus AU 600 (Olympus Optical Co. Ltd, Tokyo-Japan) otoanalizöründe Olympus marka ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

2.5. Biyoistatistiksel Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen sonuçların biyoistatistiksel değerlendirilmesi için SPSS 12.0 paket programı kullanıldı. Biyokimyasal parametrelerin kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırılmasında Student's t testi, genotipler arasındaki değişkenlerin değerlendirilmesi ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Adducin genotipleri görülme sıklığının ve gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde χ^2 testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4. α -Addusin Gly460Trp gen polimorfizmi RFLP öncesi görüntüsü.



Şekil 5. α -Addusin Gly460Trp gen polimorfizmi RFLP sonrası genotiplerinin görünümü. 1, 2 ve 5 numaralı görüntüler GG genotipi; 3 ve 6 numaralar TT genotipi, 4 ve 7 numaralar ise GT genotipini göstermektedir.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma Gruplarının Karakteristik Özellikleri

Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı bireylere ait karakteristik özellikler Tablo 2’de gösterilmiştir. Koroner arter hastalığına sahip bireylerin yaş ortalamaları kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Ancak fark anlamlı değildi ($p>0.05$). Cinsiyet farkı gözetildiğinde, erkek cinsiyet ile KAH arasında anlamlı ilişki vardı ($p<0.001$). Aynı zamanda sigara içiciliği de KAH grubunda anlamlı görüldü ($p<0.05$). Öte yandan HT, KAH grubunda yüksek oranda görülmesine karşın fark anlamlı değildi ($p>0.05$). Lipid düzeyleri incelendiğinde KAH’a sahip bireylerde Total Kolesterol düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükselmiş olup HDL-kolesterol düzeyleri ise anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0.05$). Serum LDL-kolesterol ve trigliserid düzeyleri ise KAH’da kontrol grubu değerlerine göre yüksek bulundu ancak bu düzeyler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 2. Koroner Arter Hastaları ile Kontrol Grubuna Ait Özellikler

	KAH (+)	Kontrol	P değeri
n	270	79	
Yaş (yıl)	58.32 ± 11,01	49,27± 10.51	$p>0.05$
Cinsiyet (K/E)	74/196	43/36	$p<0.001$
Sigara içenler (%)	36,3	21,5	$p< 0.05$
Hipertansiyon (%)	42,2	36,7	$p>0.05$
Heredite (%)	36,3	44,3	$p>0,05$
Total Kolesterol (mg/dl)	202,58 ± 37,91	190,40 ± 34,46	$p<0.05$
Trigliserid (mg/dl)	170,18 ± 99,17	160,72 ± 68,56	$p>0.05$
HDL kolesterol (mg/dl)	37,40 ± 9,42	43,14 ± 10,14	$p<0.001$
LDL kolesterol (mg/dl)	129,25 ± 59,93	119,91 ± 29,86	$p>0.05$

3.2. α -Adducin Gly460Trp Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımı

Tablo 3’de hasta ve kontrol grubunda, α -Adducin Gly460Trp gen polimorfizmine ait genotiplerin görülme sıklığı verilmiştir.

Tablo 3. Koroner Arter Hastaları ve Kontrol Grubunda Adducin Gen Polimorfizminin Genotip Dağılımları.

Adducin genotipi	KAH (+)	KONTROL	P değeri
GG	226 (%83,7)	67(% 84,8)	p>0.05
GT	35 (%13,0)	12 (%15,2)	p> 0.05
TT	9 (%3,3)	0 (%0)	p>0.05

Koroner arter hastalığına sahip bireylerde GG, GT ve TT genotiplerinin frekansı sırasıyla % 83.7 (n=226), % 13.0 (n=35) ve % 3.3 (n=9) olarak bulundu. Kontrol grubunda ise GG ve GT genotiplerinin frekansları sırasıyla % 84.8 (n=67) ve % 15.2 (n=12) oranında görülürken, TT genotip varlığı saptanmadı [% 0 (n=0)]. Her üç genotipte de görülme sıklığı, gruplar arasında anlamlı değildi (p>0.05).

3.3. α -Adducin Gly460Trp Gen Polimorfizmi Genotipinin Çalışma Grupları Özellikleri ile İlişkisi

Koroner arter hastaları ve kontrol grubu demografik özellikleri ve lipid düzeylerinin, Adducin Gly460Trp genotipi ile ilişkisi tablo 4’de verilmiştir.

Koroner arter hastalığı olan grupta, hastaların yaş ortalaması ile GG, GT ve TT genotiplerinin görülme sıklığı arasında anlamlı ilişki görülmezken, kontrol grubunda da benzer biçimde bireylerin yaş ortalaması ile farklı genotip frekansları arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Kadın/erkek cins ayrımı gözetildiğinde KAH grubunda, GG, GT ve TT genotip frekansları, yaklaşık olarak sırasıyla 1/3, 1/3 ve 1/2 oranında erkek cins lehine görülürken, bu durum kontrol grubunda GG ve GT genotipleri için kadın cins lehine yaklaşık 1/1 oranında görüldü. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sigara içimi, heredite ve HT görülmesi açısından da hem KAH grubu hem de kontrol grubunda her üç farklı genotip ile aralarında anlamlı ilişki görülmedi. Lipid düzeyleri bakımından KAH grubunda HDL-K, TT

genotipe sahip bireylerde, hem GG ($p<0.001$) hem de GT genotipi ($P<0.05$) ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulunurken, kontrol grubunda Total kolesterol, GG genotipe sahip bireylerde, GT genotipe sahip bireylere kıyasla anlamlı düşük bulundu ($P<0.05$). Diğer lipid parametreleri bakımından her iki grupta da farklı genotipler arasında anlamlı ilişki görülmedi.

Tablo 4. Demografik Özellikler ve Lipid Düzeylerinin Adducin Gly460Trp Genotipi ile İlişkisi

KAH (+)	GG	GT	TT	P
Yaş (yıl)	58,20±11,26	59,51±9,18	56,77±11,81	
Cinsiyet (K/E,%)	27,4/72,6	25,7/74,3	33,3/66,7	
Sigara (%)	38,5	25,7	22,2	*P<0.001, TT ile
Heredite (%)	37,6	28,6	33,3	karşılaştırıldığında
Hipertansiyon (%)	42,0	42,9	44,4	**P<0.05, TT ile
Total-K (mg/dl)	202,40±38,18	199,32±35,24	219,91±40,80	karşılaştırıldığında
Trigliserid (mg/dl)	169,63±63,96	168,40±104,02	190,55±84,76	
HDL-K (mg/dl)	37,03±8,77*	37,42±10,88**	47,87±14,85	
LDL-K (mg/dl)	130,77±63,96	120,88±30,12	123,55±37,96	
Sodyum (mEq/L)	139,09±12,30	139,00±3,74	138,33±3,31	
Potasyum (mEq/L)	4,35±0,53	4,20±0,42	4,37±0,72	
KONTROL	GG	GT	TT	P
Yaş (yıl)	49,11±10,55	50,16±10,72		
Cinsiyet (K/E,%)	53,7/46,3	58,3/41,7		
Sigara (%)	22,4	16,7		
Heredite (%)	40,3	66,7		
Hipertansiyon (%)	35,8	41,7		*P<0.05, GT ile
Total-K (mg/dl)	186,77±35,50*	210,65±18,21		karşılaştırıldığında
Trigliserid (mg/dl)	159,86±69,18	165,41±67,74		
HDL-K (mg/dl)	43,10±10,76	43,36±5,35		
LDL-K (mg/dl)	117,26±31,01	134,66±16,51		
Sodyum (mEq/L)	136,52±17,87	138,75±1,76		
Potasyum (mEq/L)	4,36±0,40	4,17±0,40		

4. TARTIŞMA

Koroner arter hastalığı, özellikle sanayileşmiş ülkelerde ölümlerin başta gelen nedenidir ve etyolojisinde çok sayıda genetik ve çevresel faktör rol oynamaktadır (97,98). Koroner arterlerde kolesterol birikimi ile başlayan bu süreçte kan basıncı ve HT'nin etkisi büyüktür (99,100). Genelde HT, KAH riskini ikiye katlar. Örneğin hipertansif erkekler, iki risk faktörü olanlara göre 4-5 kat artmış KAH riskine sahiptirler (101,102). Öte yandan KAH ve özellikle akut MI'nın klinik fenotipik özellikleri bilinmesine rağmen genetik varyantlar ile artmış risk arasındaki ilişki bilinmemektedir. Dolayısıyla bunu bilmek, hastalığı tespit ve yenilikçi tanı ve tedavi yöntemleri geliştirmeye yardımcı olabilir. Her ne kadar KAH'ın küresel yükünü azaltmak için tanıma ve kazanılmış risk faktörlerinin kontrolü önemli olmaya devam etse de stratejileri belirlemede onun genetik temelini çözmek de çok önemlidir. Bu nedenle KAH olan hipertansiflerde çok sayıda genetik çalışma yapılmıştır.

Alfa adducin geni, hem hipertansiyon için potansiyel bir risk faktörü olarak hem de antihipertansif tedavinin etkisinin değiştirilmesi için aday gen olarak ortaya çıkmıştır. Adducin her yerde bulunan bir hücre iskelet proteinidir ve iyon transportu gibi çeşitli diğer hücre fonksiyonlarını aktin ile spektrinin bağlanmasını teşvik ederek modüle edebilir (103). Yapılmış deneysel ve klinik çalışmalar ışığında, ADD1 polimorfizminin fonksiyonel etkilerinin, Na ve su dengesi sağlamada önemli olduğu görülmektedir. Buna paralel olarak tuz tutulumu ve HT eğilimi ile ilişkili olarak 460Trp allel varlığının, kardiyovasküler olay riskini artırdığı beklentisi beklenen sonuçtur.

Adducin geninin Gly460Trp polimorfizmi daha önceden HT, KAH ve MI ile anlamlı ilişkisi gösterilmiştir (53,81,85,104). Bununla birlikte epidemiyolojik gözlemler (53,105-110), Trp allel taşıyanların yüksek tuz duyarlılığı için indirek kanıt olduğunu göstermiştir. Hatta bazı çalışmalarda α -adducin Trp allelinin renal hastalıklar ile güçlü birlikteliği vurgulanmıştır (95,96). Bu araştırmalar, α - adducin Gly460Trp polimorfizminin kan basıncı ile ilişkili sağlık problemleri ile sonuçlanan durumlar ile güçlü birlikteliği olduğunu göstermektedir. Birçok araştırma sonucu bu doğrultudadır (105,107,110). Ancak son 10 yıl boyunca ADD1 Gly460Trp polimorfizminin, kan basıncı ile kardiyovasküler sonuçlarını belirlemeye yönelik

yapılan farklı çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (111). Hatta bu çelişki, çeşitli risk faktörleri (etnik köken, yaş ve sigara gibi) ile ADD1 Gly460Trp polimorfizmi arasında olan ilişkide de olumlu (78) ve olumsuz (111) görülmüştür.

Çalışmamızda, önceki çalışmalara paralel KAH grubunda kontrol grubuna kıyasla, serum total-K anlamlı yüksek bulunurken ($p<0.05$), HDL-K düzeyleri benzer biçimde anlamlı düşük saptandı ($p<0.001$). yine benzer olarak KAH grubunda erkek cinsiyet lehine anlamlı bulgular saptadık ($K/E=74/196$, $p<0.001$). Sigara-KAH ilişkisinde de anlamlı sonuçlar elde ettik ($p<0.05$), ancak KAH grubunda daha yüksek saptanmalarına rağmen bulgularımız, HT ($p>0.05$) ve yaş ($p>0.05$) ile KAH arasında anlamlı ilişkiye sahip değildi. Bulgularımız, hiperkolesterolemi, sigara ve erkek cinsiyetin KAH riskinde artışa yol açtığını gerçeğini desteklemektedir.

Öte yandan α -adducin Gly460Trp genotipi ile yaş, cinsiyet, sigara, heredite ve HT gibi KAH risk faktörleri arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenemedi. Sadece total-K düzeyleri anlamlı yüksek saptadık ($p<0.05$). Bulgularımız Li ve ark.(78) yapmış olduğu çalışma sonuçları ile benzerdir. Bu araştırmacılar 1323 GlyGly homozigot ve 912 Trp allel taşıyan bireylerin bazal karakteristik özelliklerini karşılaştırmış ve bahsedilen KAH risk faktörleri ile gruplar arasında anlamlı fark görmemişlerdir [yaş ($p=0.12$), SBP ($p=0.47$), sigara ($p=0.94$), heredite($p=0.63$), total-K ($p=0.90$)]. Benzer olarak bulgularımız Psaty ve ark. (83) bulguları ile örtüşüyordu. Bu araştırmacılar, Trp allel (heterozigot GT veya homozigot TT) taşıyanlarda, KAH risk faktörlerini [kadın cinsiyet ($p=0.38$), sigara ($p=0.08$), HT ($p=0.95$) ve total-K ($p=0.32$)] anlamlı bulmamışlardır. Buna karşın Cha ve ark. (112) α -adducin genotipini tayin ettikleri 535 bireyden oluşan çalışmada, bulgularımıza zıt, HT ve Trp allel taşıyıcılığı arasında anlamlı ilişki saptamışlardır ($p=0.03$). Yine çalışmamızdan farklı olarak total-K düzeylerinde anlamlı fark görmemişlerdir ($p=0.90$).

Aslında KAH patogenezi komplekstir ve çok sayıda gen ve ekolojik koşullara bağlıdır. Ki bunlar, yaşam stili, çevresel faktörler ve popülasyonlara özel diğer risk faktörü allellerin taşınmasındaki sıklıklardır (43). Buna örnek adducin varyantları ve tuz alımı arasındaki güçlü birlikteliğin kan basıncı ile ilişkili olması gösterilebilir (60,63). Yaş, genetik varyantların etkinliğinde diğer önemli bir

faktördür. Yaşlılarda Na sensitivitesinin artması, kan basıncı ve Na dengesini etkilemektedir. Baroreseptör reflekslerde azalma, renal perfüzyonda azalma, büyük damarların tampon etkilerinin yetersizliği, sistolik ve diyastolik basınç artışında önemli etkenlerdir (43). Bu kompanse edilebilir feedback halkaları, Na dengesini korumada büyük potansiyele sahiptirler. Bu ilişkili mekanizmalar, α -adducin gen polimorfizmi ile KAH arasında çelişkili sonuçlar ve çalışmamız sonuçları için de açıklayıcı olabilir.

Adducin geninin Gly460Trp allel sıklığı, farklı toplumlarda değişkenlik göstermektedir. Örneğin TT genotip sıklığı Kore populasyonunda % 59.9 olarak bulunmuştur. Bu sıklık Doğu Asya populasyonunda, örneğin Japon ve Çin populasyonu sıklığına benzerdir (53,113-115). Doğu Asya populasyonundaki bu yüksek orana karşılık beyaz ırkta TT genotip sıklığı örneğin Kuzey İtalya'da %18, Fransa'da %20 ve İskoçya'da %27 ile daha düşük görülmektedir (53,54,116). Dolayısıyla Gly460Trp allel varyantının, Doğu Asya populasyonunda kardiyovasküler hastalıklar üzerine anlamlı etkileri olabilir.

Çalışmamızda, adducin geninin GG genotip sıklığını sağlıklı bireylerde % 84.8 (n=67), KAH grubunda % 83.7 (n=226) saptadık. GT genotip sıklığı ise sırasıyla % 15.2 (n=12) ve % 13.0 (n=35) idi. TT genotipi, KAH grubunda % 3.3 (n=9) saptanırken sağlıklı kontrol grubunda gözlenmedi. Aynı zamanda her iki grupta da genetik varyasyonlar ile KAH arasında anlamlı ilişki saptamadık.

Bulgularımız, önceki çalışma sonuçlarına benzer, kimi sonuçlar ile örtüşürken bir kısmı ile de ters düşmektedir. Çalışmamızda, GT, TT genotip sıklığı, Doğu Asya populasyonunda gözlenen yüksek oranlara zıt, Avrupa beyaz ırk verilerine yakın bulunmuştur. Örneğin Cha ve ark. (112) Kore populasyonunda, çalışma metodumuza benzer olarak KAH semptomları ile kliniğe başvuran bireylerde anjiyografi sonucunda KAH tanısı konulan hastalarda α -adducin Gly460Trp polimorfizmi ile KAH ilişkisini araştırmışlardır. Anjiyografik olarak normal olan bireyler % 41.7 (n=535) oranında bulunmuşken, % 37.3 hastada (n=479) çok damar hastalığı (2 veya daha fazla damar patolojisi olan), % 21 hastada (n=270) tek damar hastalığı saptamışlardır. Çalışma sonucunda Cha ve ark. (112) bulgularımıza zıt, α -adducin GG genotipini normal bireylerde % 19.4, tek damar hastalığı olanlarda % 16.7, çok damar hastalığı

olanlarda % 13.2 oranında saptamışlardır. GT genotip sıklığını ise sırasıyla % 47.5, % 44.3 ve % 48.4 oranında bulmuşlardır. Çalışmamızda, normal bireylerde TT genotipi saptanmamasına karşın bu araştırmacılar, normal bireylerde TT genotip sıklığını % 33.1 ile yüksek oranda gözlemlemişlerdir. Benzer biçimde KAH grubunda düşük oranda (% 3.3) gözlemlediğimiz TT genotip sıklığını, tek damar hastalığı olanlarda % 39.0, çok damar hastalığı olanlarda % 38.4 oranlarında yüksek bulmuşlardır. Çalışma sonucunda, KAH ile anlamlı ilişki ($p=0.01$) gözlemledikleri TT genotip varlığını KAH açısından artmış risk faktörü olarak yorumlamışlardır. GG genotip varlığını ise KAH'da anlamlı düşük ($p<0.01$) saptamışlardır. Öte yandan Manunta ve ark. (77) İtalyan toplumunda GG, GT ve TT genotiplerinin dağılımını % 74 ($n=80$), % 24 ($n=26$) ve % 2 ($n=2$) olarak bulmuşlardır ki bu sonuçlar, çalışmamız sonuçlarına daha yakındır.

Benzer şekilde Gerhard ve ark. (111) farklı etnik gruplarda (siyah, ispanyol, beyaz ırk ve az sayıda diğer bireylerin oluşturduğu), α -adducin Gly460Trp polimorfizminin kardiyovasküler sonlanımlar ile arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve bulgularımız ile örtüşen veriler elde etmişlerdir. Tüm grupta GG genotip sıklığını % 69 ($n=3888$), GT genotip sıklığını % 29 ($n=1621$) ve TT genotip sıklığını % 3 ($n=152$) saptamışlardır. Beyaz toplumda genotip sıklığı sırasıyla % 63 ($n=1443$), % 34 ($n=782$) ve % 3 ($n=77$) bulunmuşken, siyah bireylerde % 83 ($n=545$), % 15 ($n=101$), % 1 ($n=8$) oranında saptamışlardır. Kalan gruplarda da oranlar benzer bulunmuştur. Çalışma sonucunda KAH olan hipertansif hastalarda, kardiyovasküler sonlanım açısından sadece siyah ırkta ADD1 varyant taşıyıcılığının, 2.62 kez daha artmış riske sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Beyazlar dahil diğer gruplarda anlamlı bir ilişki saptamamışlardır. Öte yandan beklenenin aksine Tobin ve ark. (117) 1052 bireyden oluşan geniş çaplı bir vaka-kontrol çalışmasında, 35 aday gende 58 polimorfizm ve miyokard infarktüsü (MI) arasındaki ilişkiyi incelemişler ve sonuçta ADD1 460Trp allelinin, MI'ya karşı koruyucu olduğunu saptamışlardır. Benzer bir sonuç, Psaty ve ark. (83) yapmış olduğu, diüretik tedavisi alan hipertansif hastalarda, α -adducin gen varyantının MI riski ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada da görülmektedir. Bu araştırmacılar diüretik tedavisi alanlarda, almanlara kıyasla 653 bireyde gözlenen GG genotipi ile MI riski arasında anlamlı bir ilişki bulmazken, 460Trp varyant alleleline sahip 385 bireyde MI riskini anlamlı

düşük bulmuşlardır. Öte yandan Davis ve ark. (118) yapmış olduğu genetik HT ilişkili tedavi çalışması (GenHAT) sonucunda, ADD1 Gly460Trp polimorfizminin, antihipertansif tedavi ile, ne kardiyovasküler risk üzerine ne de kardiyovasküler sonlanımları üzerine olumsuz önemli bir değiştirici etkisinin olmadığı kaydedilmiştir. Bununla birlikte aynı araştırmacılar, cinsiyet-ADD1-tedavi birlikteliğini incelediklerinde, diüretik ile tedavi edilmiş kadın varyant taşıyıcılarında, KAH riskinde anlamlı artma saptarken erkeklerde anlamlı risk artışı görmemişlerdir. 460Trp varyant alleli ile MI arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir diğer çalışmada van Rijn ve ark. (119) normotansif bireylerde anlamlı sonuç bulmazken, HT'si olanlarda 460Trp varyant alleli ile MI arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır ($p<0.05$).

Son 10 yılı aşkın zamanda yapılan çalışmalar, α -adducin gen mutasyonunun esansiyel HT ve KAH'ın patogeneğinde katkıda bulunup bulunmadığı sorusunu doğurmuştur (52,53,105-110). Deneysel ve klinik çalışmalar, Trp allel taşıyıcılarının, Na pompası sitümlasyonu ve renal tübüler Na artışına yol açtığını göstermektedir (53,63,77,120-121). Bu durum HT ve KAH riskinde artışa yol açabilir. Ancak insanlardaki çalışmalar, α -adducin gen mutasyonunun HT'ye yol açmada tek başına yetersiz olduğunu vurgulamıştır (63).

Öte yandan, her ne kadar ADD1 460Trp ile hipertansif bireyler arasında önceki bazı çalışmalarda KAH sıklığında artan yaygınlık gösterilse de, ADD1'in polimorfik varyasyonunun bu aterojenitede sadece kan basıncı seviyesi üzerinde doğrudan etkisi ile ilişkilendirilebilir anlamına gelmez. Nitekim Morrison ve ark. (123) yaptıkları çalışma ile ADD1 460Trp allelini hipertansif bireyler arasında KAH sıklığında anlamlı artış ile ilişkili bulsalar da, gerçekte kan basıncı düzeylerini, ADD1 genotiplerinin genelinde, hipertansif beyaz bireyler örnekleminde farklı görmemişlerdir. Öyleyse KAH riskinde ADD1 genetik varyasyonu yanı sıra potansiyel başka patofizyolojik etkenlerin olabileceği sözkonusudur. Bu potansiyel neden tuz duyarlılığı olabilir ki, tuz duyarlılığının, kan basıncından bağımsız kardiyovasküler olaylar için bağımsız risk faktörü olduğu bilinmektedir (80). Her ne kadar tuz duyarlılığı ve ADD1'de polimorfik varyasyon arasındaki ilişki tartışmalı ise de (108,124) böbrek Na kullanımı ve tuz duyarlılığı önemli fizyolojik mekanizmaları, potansiyel kardiyovasküler riske katkıda düşünülmalıdır.

Sonuç olarak;

1. Hiperkolesterolemi, sigara, erkek cinsiyet, ileri yaş ve HT'nin, KAH için önemli risk faktörü olduğu
2. KAH etyopatogenezinde, bu risk faktörlerinin α -adducin Gly460Trp gen polimorfizminden bağımsız rol oynadığı
3. α -adducin Gly460Trp polimorfizminin, Türk toplumunda, beyaz Avrupa toplumlarına benzer oranda görüldüğü
4. α -adducin Gly460Trp polimorfizmi GT ve TT genotipinin, KAH için risk oluşturmadığı
5. α -adducin Gly460Trp polimorfizminin, diğer risk faktörlerinden bağımsız, HT ile ilişkili olmadığı
6. Bulgularımızın teyidi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

5. KAYNAKLAR

1. American Heart Association. Heart and Stroke Statistical Update. Dallas, TX: American Heart Association 2001.
2. Bronner LL, Kanter DS, Manson JE. Primary prevention of stroke. *N Engl J Med* 1995;333:1392–1400.
3. Scott M. Grundy. Metabolic Syndrom: A Growing Clinical Challenge. *Medscape Cardiology* 2004;8(2).
4. Tousoulis D, Charakida M, Stefanadis C. Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. *Heart* 2006;92:441–444.
5. Al Lawati JA, Jousilahti PJ. Prevalence and 10-year Secular Trend of Obesity in Oman. *Saudi Med J* 2004;25:346-351.
6. De Bacquer D, De Backer G, Cokkinos D, Keil U, Montaye M, Ostör E et al. Overweight and Obesity in Patients with Established Coronary Heart Disease: Are We Meeting The Challenge? *Eur Heart J* 2004;25:121-128.
7. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135–1143.
8. Economou E, Tousoulis D, Katinioti A, Stefanadis C, Trikas A, Pitsavos C et al. Chemokines in patients with ischaemic heart disease and the effect of coronary angioplasty. *Int J Cardiol* 2001;80:55–60.
9. Tousoulis D, Davies GJ, Asimakopoulos G, Homaei H, Zouridakis E, Ahmed N et al. Vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 serum level in patients with chest pain and normal coronary arteries (syndrome X). *Clin Cardiol* 2001;24:301–304.
10. Antoniadis C, Tousoulis D, Tountas C, Tentolouris C, Toutouza M, Vasiliadou C et al. Vascular endothelium and inflammatory process, in patients with combined type 2 diabetes mellitus and coronary atherosclerosis: the effects of vitamin C. *Diabet Med* 2004;21:552–558.
11. Tentolouris C, Tousoulis D, Antoniadis C, Bosinakou E, Kotsopoulou M, Trikas A et al. Endothelial function and proinflammatory cytokines in patients with ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2004;94:301–305.

12. Tentolouris C, Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Trikas A, Goumas G et al. The impact of risk factors for atherosclerosis on the vasomotor effects of inhibition of nitric oxide synthesis in patients with normal angiograms. *Cardiology* 2000;94:26–30.
13. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol* 2002;90:40–48.
14. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468–1474.
15. Tousoulis D, Antoniadis C, Tentolouris C, Tsioufis C, Toutouza M, Toutouzas P et al. Effects of combined administration of vitamins C and E on reactive hyperemia and inflammatory process in chronic smokers. *Atherosclerosis* 2003;170:261–267.
16. Sundell J, Laine H, Luotolahti M, Kalliokoski K, Raitakari O, Nuutila P et al. Obesity affects myocardial vasoreactivity and coronary flow response to insulin. *Obes Res* 2002;10:617–624.
17. Higashi Y, Sasaki S, Kurisu S, Yoshimizu A, Sasaki N, Matsuura H et al. Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: role of endothelium-derived nitric oxide. *Circulation* 1999;100:1194–1202.
18. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Tousoulis D, Toutouza M et al. Impact of lifestyle habits on the prevalence of the metabolic syndrome among Greek adults from the ATTICA study. *Am Heart J* 2004;147:106–112.
19. Prasad A, Zhu J, Halcox JP, Waclawiw MA, Epstein SE, Quyyumi AA. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction. *Circulation* 2002;106:184–190.
20. Charakida M, Donald AE, Terese M, Leary S, Halcox JP, Ness A et al. Endothelial dysfunction in childhood infection. *Circulation* 2005;111:1660–1665.
21. Dhillon R, Clarkson P, Donald AE, Powe AJ, Nash M, Novelli V et al. Endothelial dysfunction late after Kawasaki disease. *Circulation* 1996;94:2103–2106.
22. Rchoen FJ. Blood Vessels in pathologic basis of disease. Cotran SD, Kumar V, Robins S.W.B. Saunders Company Philadelphia USA 1994;S:467.
23. Cosentino F, Luscher TF. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32:54–61.
24. Fernando Grover-Paez, Ana Bertha Zavalza-Gomez. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk factors. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2009;84:1–10.

25. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S et al. Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part I. Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005;23:7–17.
26. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373–376.
27. Govers R, Rabelink TJ. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;280: 193–206.
28. Bragulat E, de la Sierra A, Antonio MT, Coca A. Endothelial dysfunction in salt-sensitive essential hypertension. *Hypertension* 2001;37:444–448.
29. Masumoto A, Hirooka Y, Hironaga K, Eshima K, Setoguchi S, Egashira K et al. Effect of pravastatin on endothelial function in patients with coronary artery disease (cholesterol-independent effect of pravastatin). *Am J Cardiol* 2001;88:1291–1294.
30. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DS, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471–476.
31. Urakami-Harasawa L, Shimokawa H, Nakashima M, Egashira K, Takeshita A. Importance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human arteries. *J Clin Invest* 1997;100:2793–2799.
32. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149–2155.
33. Burke AP, Farb A, Malcolm GT, You-hui Liang, John Smialek, Renu Virmani. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary artery disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336:1276–1282.
34. Heitzer T, Just H, Munzel T. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation* 1996;94:6–9.
35. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 1996;94:19–25.
36. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation in atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135–1143.

37. Ishizuka T, Takamizawa-Matsumoto M, Suzuki K, Kurita A. Endothelin-1 enhances vascular cell adhesion molecule-1 expression in tumor necrosis factor alpha stimulated vascular endothelial cells. *Eu J Pharmacol* 1999;369:237–245.
38. Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000;102:994–999.
39. Cleland SJ, Sattar N, Petrie JR, Forouhi NG, Elliott HL, Connell JMC. Endothelial dysfunction as a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease. *Clin Sci* 2000;98:531–535.
40. Cusi D. Genetic renal mechanisms of hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997;6:192-198.
41. Keil U. Coronary artery disease: the role of lipids, hypertension, and smoking. *Basic Res Cardiol* 2000;95:52–58.
42. Staessen JA, Wang JG, Birkenhager WH. Outcome beyond blood pressure control? *Eur Heart J* 2003; 24:504–514.
43. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhager WH. Essential hypertension. *Lancet* 2003; 361:1629–1641.
44. Carretero OA, Oparil S: Essential Hypertension Part I: Definition an Etiology. *Circulation* 2000;101: 329-335
45. Hajjar I, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003;290:199-206.
46. Johnson JA, Turner ST. Hypertension pharmacogenomics: current status and future directions 1. *Curr Opin Mol Ther* 2005;7:218-225.
47. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics drug disposition, drug targets and side effects. *N Engl J Med* 2003;348:538-549.
48. Abbott R, Petrovitch H, Rodriguez B, Katsuhiko Y, Schatz I, Popper J et al. Ankle/brachial blood pressure in men >70 years of age and the risk of coronary heart disease. *Am J Cardiology* 2000;86:280–284.
49. Newman A, Sutton-Tyrrell K, Vogt M, Kuller L. Morbidity and mortality in hypertensive adults with a low ankle/arm blood pressure index. *Journal of the American Medical Association* 1993;270:487–489.
50. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell* 2001; 104:545–556.

51. Barlassina C, Citterio L, Bernardi L, Buzzi L, D'Amico M, Sciarrone T, Bianchi G. Genetics of renal mechanisms of primary hypertension: the role of adducin. *J Hypertens* 1997;15:1567–1571.
52. Bianchi G, Tripodi G, Casari G, Salardi S, Barber B, Garcia R et al. Two point mutations within the adducin genes are involved in blood pressure variation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:3999–4003.
53. Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M et al. Polymorphisms of α -adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997;349:1353–1357.
54. Castellano M, Barlassina C, Muiesan ML, Beschi M, Cinelli A, Rossi F et al. α -adducin gene polymorphism and cardiovascular phenotypes in a general population. *J Hypertens* 1997; 15:1707–1710.
55. Siffert W, Roszkopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R et al. Association of a human G protein β 3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 1998;18: 45–48.
56. Schunkert H, Hense H, Doring A, Riegger G, Siffert W. Association between a polymorphism in the G protein β 3 subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension* 1998; 32:510–513.
57. Hegele R, Harris S, Hanley A, Cao H, Zinman B. G protein β 3 subunit gene variant and blood pressure variation in Canadian Oji-Cree. *Hypertension* 1998;32:688–692.
58. Siffert W. G protein β 3 subunit 825T allele, hypertension, obesity, and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1298–1306.
59. Marc De Buyzere. Selective genetic advantages for users of thiazide diuretics. Is there a case for the 460Trp variant of α -adducin? *Journal of Hypertension* 2009;27:24–27
60. Tikhonoff V, Kuznetsova T, Stolarz K, Bianchi G, Casiglia E, Kawecka- Jaszcz K et al. Staessen and European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) Investigators beta-Adducin polymorphisms, blood pressure, and sodium excretion in three European populations. *American Journal of Hypertension* 2003; 16(10): 840-846.
61. Efendiev R, Krmar RT, Ogimoto G, Zwiller J, Tripodi G, Katz AI et al. Hypertension-Linked Mutation in the Adducin – Subunit Leads to Higher AP2- μ 2 Phosphorylation and Impaired Na⁺-K⁺-ATPase Trafficking in Response to GPCR Signals and Intracellular Sodium. *Circ Res* 2004;95:1100-1108

62. Arystarkhova E, Wetzel RK, Asinovski NK, Sweadner KJ. The Subunit Modulates Na⁺ and K⁺ Affinity of the Renal Na,K-ATPase. *The Journal of Biological Chemistry* 1999;274:33183-33185.
63. Giuseppe Bianchi, Patrizia Ferrari, Jan A. Staessen. Adducin Polymorphism Detection and Impact on Hypertension and Related Disorders. *Hypertension* 2005;45:331-340.
64. Hammerton R, Krzeminski KA, Ryan TA, Wollner DA and Nelson WJ. Mechanism for regulating cell surface distribution of Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase in polarized epithelial cells. *Science* 1991;254:847-850.
65. Marrs JA, Napolitano EW, Murphy-Erdosh C, Mays RW, Reichardt LF and Nelson JJ. Distinguishing roles of the membrane-cytoskeleton and cadherin mediated cell-cell adhesion in generating different Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase distributions in polarized epithelia. *Cell Biol* 1993;123:149-164.
66. Berdiev BK, Prat AG, Cantiello HF, Ausiello DA, Fuller GM, Jovov B, Benos DJ and Ismilov II. Regulation of epithelial sodium channels by short actin filaments. *J Biol Chem* 1996;271:17704-17710.
67. Cantiello HF. Role of the actin cytoskeleton on epithelial Na⁺ channel regulation. *Kidney Int* 1995;48:970-984.
68. Drenckhahn D, Schluter K, Allen DP and Bennet V. Colocalization of band 3 with ankyrin and spectrin at the basal membrane of intercalated cells in the rat kidney. *Science* 1985;230:1287-1289.
69. Wu MS, Bens M, Cluzeaud F and Vandewalle A. Role of F-actin in the activation of Na⁽⁺⁾-K⁽⁺⁾-Cl⁻ cotransport by forskolin and vasopressin in mouse kidney cultured thick ascending limb cells. *J Membr Biol* 1994;142:323-336.
70. Morrow JS, Cianci CD, Ardito T, Mann AS and Kashgarian M. Ankyrin links fodrin to the alpha subunit of Na,K-ATPase in Madin-Darby canine kidney cells and in intact renal tubule cells. *J Cell Biol* 1989;108:455-465.
71. Byers TJ and Branton D. Visualization of the protein associations in the erythrocyte membrane skeleton. *Proc Natl Acad Sci* 1985;82:6153-6157.
72. Kuhlman PA, Hughes CA, Bennet V and Fowler VM. A new function for adducin. Calcium/calmodulin-regulated capping of the barbed ends of actin filaments. *J Biol Chem* 1996;271:7986-7991.

73. Gardner K and Bennett V. Modulation of spectrin-actin assembly by erythrocyte adducin. *Nature* 1987;328:359-362.
74. Manunta P, Barlassina C, Bianchi G. Adducin in essential hypertension. *FEBS Lett* 1998;430:41– 44.
75. Hughes CA, Bennett V. Adducin: a physical model with implications for function in assembly of spectrin-actin complexes. *J Biol Chem* 1995;270:18990–18996.
76. Glorioso N, Filigheddu F, Cusi D, Troffa C, Conti M, Natalizio M et al. α -Adducin 460Trp allele is associated with erythrocyte Na transport rate in North Sardinian primary hypertensives. *Hypertension* 2002;39:357–362.
77. Manunta P, Cusi D, Barlassina C, Righetti M, Lanzani C, D'Amico M et al. α -Adducin polymorphisms and renal sodium handling in essential hypertensive patients. *Kidney Int* 1998;53:1471–1478.
78. Li Y, Thijs L, Kuznetsova T, Zagato L, Struijker-Boudier H, Bianchi G, Staessen JA: Cardiovascular risk in relation to α -adducin Gly460Trp polymorphism and systolic pressure: a prospective population study. *Hypertension* 2005;46:527–532.
79. Beeks E, Kessels AG, Kroon AA, van der Klauw MM, de Leeuw PW. Genetic predisposition to salt-sensitivity: a systematic review. *J Hypertens* 2004;22:1243–1249.
80. Morimoto A, Uzu T, Fujii T, Nishimura M, Kuroda S, Nakamura S et al. Sodium sensitivity and cardiovascular events in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997;350:1734 –1737.
81. Morrison AC, Bray MS, Folsom AR, Boerwinkle E. ADD1 460W allele associated with cardiovascular disease in hypertensive individuals. *Hypertension* 2002;39:1053–1057.
82. Iwai N, Tamaki S, Nakamura Y and Kinoshita M. Polymorphism of alpha-adducin and hypertension. *Lancet* 1997;350:369.
83. Psaty BM, Smith NL, Heckbert SR, Vos HL, Lemaitre RN, Reiner AP et al. Diuretic therapy, the alpha-adducin gene variant, and the risk of myocardial infarction or stroke in persons with treated hypertension. *J Am Med Assoc* 2002;287:1680–1689.
84. Psaty BM, Doggen C, Vos HL, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Association of the alpha-adducin polymorphism with blood pressure and risk of myocardial infarction. *J Hum Hypertens* 2000;14:95–97.

85. Tobin MD, Braund PS, Burton PR, Thompson JR, Steeds R, Channer K, Cheng S, Lindpaintner K, Samani NJ. Genotypes and haplotypes predisposing to myocardial infarction: a multilocus case-control study. *Eur Heart J* 2004;25:459–467.
86. Winnicki M, Somers VK, Accurso V, Hoffmann M, Pawlowski R, Frigo G, Visentin P, Palatini P; HARVEST Study Group. alpha-Adducin Gly460Trp polymorphism, left ventricular mass and plasma renin activity. *J Hypertens* 2002;20:1771–1777.
87. Balkestein EJ, Wang JG, Struijker-Boudier HA, Barlassina C, Bianchi G, Birkenhager WH, Brand E, Den Hond E, Fagard R, Herrmann SM, Van Bortel LM, Staessen JA. Carotid and femoral intima-media thickness in relation to three candidate genes in a Caucasian population. *J Hypertens* 2002;20:1551–1561.
88. Balkestein EJ, Staessen JA, Wang JG, van Der Heijden-Spek JJ, Van Bortel LM, Barlassina C, Bianchi G, Brand E, Herrmann SM, Struijker- Boudier HA. Carotid and femoral artery stiffness in relation to three candidate genes in a white population. *Hypertension* 2001;38:1190–1197.
89. Dou XF, Zhang HY, Huang XH, Liu XN, Ju ZY, Sun K, Wang DW, Liao YH, Ma AQ, Zhu ZM, Zhao BR, Zhao JZ, Song Y, Zhang L, Hui RT. [Alpha-adducin gene G/W460 polymorphism is associated with intracerebral hemorrhage in Chinese] *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2004;84:186–188.
90. Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E; Atherosclerosis Risk in Communities Study. G-protein beta3 subunit and alphaadducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke* 2001;32:822–829.
91. Persu A, El-Khattabi O, Messiaen T, Pirson Y, Chauveau D, Devuyst O. Influence of ACE (I/D) and G460W polymorphism of alpha-adducin in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2032–2038.
92. Merta M, Reiterova J, Stekrova J, Rysava R, Rihova Z, Tesar V, Viklicky O, Kmentova D. Influence of the alpha-adducin and ACE gene polymorphism on the progression of autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2003;26:42– 49.
93. Nicod J, Frey BM, Frey FJ, Ferrari P. Role of the alpha-adducin genotype on renal disease progression. *Kidney Int* 2002;61:1270 –1275.
94. Narita I, Goto S, Saito N, Song J, Ajiro J, Sato F, Saga D, Kondo D, Akazawa K, Sakatsume M, Gejyo F. Interaction between ACE and ADD1 gene polymorphisms in the progression of IgA nephropathy in Japanese patients. *Hypertension* 2003;42:304 – 309.

95. Wang JG, Staessen JA, Tizzoni L, Brand E, Birkenhager WH, Fagard R, Herrmann SM, Bianchi G. Renal function in relation to three candidate genes. *Am J Kidney Dis* 2001;38:1158–1168.
96. Beeks E, Van Der Klauw MM, Kroon AA, Spiering W, Fuss-Lejeune MJ, de Leeuw PW. α -Adducin Gly460Trp polymorphism and renal hemodynamics in essential hypertension. *Hypertension* 2004;44:419–423.
97. Qureshi AI, Suri MF, Kirmani JF, Divani AA, Mohammad Y. Is prehypertension a risk factor for cardiovascular diseases? *Stroke* 2005;36:1859–1863.
98. O'Donnell CJ, Ridker PM, Glynn RJ, Berger K, Ajani U, Manson JE, Hennekens CH. Hypertension and borderline isolated systolic hypertension increase risks of cardiovascular disease and mortality in male physicians. *Circulation* 1997;95:1132–1137.
99. Rewers M, Zaccaro D, D'Agostino R, Haffner S, Saad MF, Selby JV et al. Insulin sensitivity, insulinemia, and coronary artery disease: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2004;27:781–787.
100. Bell RA, Mayer-Davis EJ, Martin MA, D'Agostino RB Jr, Haffner SM. Associations between alcohol consumption and insulin sensitivity and cardiovascular disease risk factors: the Insulin Resistance and Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2000;23:1630–1636.
101. Oparil S. Management of the hypertensive patient with coronary artery disease. *Am J Hypertens* 1999;12:56–62.
102. Kannel WB. Cardioprotection and antihypertensive therapy: the key importance of addressing the associated coronary risk factors (the Framingham experience). *Am J Cardiol* 1996;77:6–11.
103. Matsuoka Y, Li X, Bennett V. Adducin: structure, function and regulation. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:884–95.
104. Guo X, Cheng S, Taylor KD, Cui J, Hughes R, Quinones MJ et al. Hypertension genes are genetic markers for insulin sensitivity and resistance. *Hypertension* 2005; 45:799–803.
105. Wang JG, Staessen JA, Barlassina C, Fagard R, Kuznetsova T, Stuijker-Boudier HA, Zagato L, Citterio L, Messaggio E, Bianchi G. Association between hypertension and variation in the alpha- and beta-adducin genes in a white population. *Kidney Int* 2002;62:2152–2159.

106. Province MA, Arnett DK, Hunt SC, Leiendecker-Foster C, Eckfeldt JH, Oberman A, Ellison RC, Heiss G, Mockrin SC, Williams RR. Association between the alpha-adducin gene and hypertension in the HyperGEN Study. *Am J Hypertens* 2000;13:710–718.
107. Staessen JA, Wang JG, Brand E, Barlassina C, Birkenhager WH, Herrmann SM, Fagard R, Tizzoni L, Bianchi G. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens* 2001;19:1349–1358.
108. Grant FD, Romero JR, Jeunemaitre X, Hunt SC, Hopkins PN, Hollenberg NH, Williams GH. Low-renin hypertension, altered sodium homeostasis, and an alpha-adducin polymorphism. *Hypertension* 2002;39:191–196.
109. Glorioso N, Filigheddu F, Cusi D, Troffa C, Conti M, Natalizio M, Argiolas G, Barlassina C, Bianchi G. Alpha-adducin 460Trp allele is associated with erythrocyte Na transport in North Sardinian primary hypertensives. *Hypertension* 2002;39:357–362.
110. Wang JG, Liu L, Zagato L, Xie J, Fagard R, Jin K, Wang J, Li Y, Bianchi G, Staessen JA, Liu L. Blood pressure in relation to three candidate genes in a Chinese population. *J Hypertens* 2004;22:937–944.
111. Tobias Gerhard PhD, Yan Gong PhD, Amber L Beitelshes, PharmD MPH, Xianyun Mao, Maximilian T Lobmeyer et al. α -Adducin polymorphism associated with increased risk of adverse cardiovascular outcomes: Results from GENetic Substudy of the INternational VERapamil SR-trandolapril STudy (INVEST-GENES). *Am Heart J* 2008;156:397-404.
112. Seung-Hun Cha, Hung-Tae Kim, Yangsoo Jang, Sungha Park, Jae-Jung Kim, Min Young Song et al. Association of α -adducin Gly460Trp polymorphism with coronary artery disease in a Korean population. *Journal of Hypertension* 2007;25:2413–2420
113. Sugimoto K, Hozawa A, Katsuya T, Matsubara M, Ohkubo T, Tsuji I et al. alpha-Adducin Gly460Trp polymorphism is associated with low renin hypertension in younger subjects in the Ohasama study. *J Hypertens* 2002;20:1779–1784.
114. Ju Z, Zhang H, Sun K, Song Y, Lu H, Hui R, Huang X. Alpha-adducin gene polymorphism is associated with essential hypertension in Chinese: a case-control and family-based study. *J Hypertens* 2003;21:1861–1868.
115. Barlassina C, Norton GR, Samani NJ, Woodwiss AJ, Candy GC, Radevski I et al. Alpha-adducin polymorphism in hypertensives of South African ancestry. *Am J Hypertens* 2000;13:719–723.

116. Kamitani A, Wong ZY, Fraser R, Davies DL, Connor JM, Foy CJ et al. Human alpha-adducin gene, blood pressure, and sodium metabolism. *Hypertension* 1998;32:138–143.
117. Martin D, Tobin P, S. Braund, Paul R. Burton, John R. Thompson, Richard Steeds, Kevin Channer et al. Genotypes and haplotypes predisposing to myocardial infarction: a multilocus case-control study. *European Heart Journal* 2004;25:459–467
118. Davis BR, Arnett DK, Boerwinkle E, Ford CE, Leisenicker-Foster C, Miller MB, Black H, Eckfeldt JH. Antihypertensive therapy, the alpha-adducin polymorphism, and cardiovascular disease in high-risk hypertensive persons: the Genetics of Hypertension Associated Treatment Study. *Pharmacogenomics J* 2007;7:112-122
119. Marie Josee E. van Rijn, Michiel J. Bos, Mojgan Yazdanpanah, Aaron Isaacs, Alejandro Arias-Va'squez, Peter J. Koudstaal et al. α -Adducin Polymorphism, Atherosclerosis, and Cardiovascular and Cerebrovascular Risk. *Stroke* 2006;37:2930-2934.
120. Ferrandi M, Salardi S, Tripodi MG, Barassi P, Rivera R, Manunta P, Goldshleger R, Ferrari P, Bianchi G, Karlish S. Evidence for an interaction between adducin and Na-K-ATPase: relation to genetic hypertension. *Am J Physiol* 1999;277:1338–1349.
121. Tripodi MG, Valtorta F, Torielli L, Chiergatti E, Salardi S, Trusolino L, Menegon A, Ferrari P, Marchisio PC, Bianchi G. Hypertension associated point mutations in the adducin alpha and beta subunits affect actin cytoskeleton and ion transport. *J Clin Invest* 1996;97:2815–2822.
122. Manunta P, Burnier M, D'Amico M, Buzzi L, Maillard M, Barlassina C, Lanella G, Cusi D, Bianchi G. Adducin polymorphism affects renal proximal tubule reabsorption in hypertension. *Hypertension* 1999;33:694–697.
123. Alanna C. Morrison, Molly S. Bray, Aaron R. Folsom, Eric Boerwinkle. ADD1 460W Allele Associated With Cardiovascular Disease in Hypertensive Individuals. *Hypertension* 2002;39:1053.
124. Ciechanowicz A, Widecka K, Drozd R, Adler G, Cyrylowski L, Czekalski S. Lack of association between Gly460Trp polymorphism of α -adducin gene and salt sensitivity of blood pressure in Polish hypertensives. *Kidney Blood Press Res* 2001;24:201–206.

6. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1993 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başladım ve 1999 yılında bu fakülteden mezun oldum. 2001-2004 yılları arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimi aldıktan sonra ayrılarak 2004-2009 yılları arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimimi tamamladım. Halen İç Hastalıkları uzmanı olarak görev yapmaktayım. Evli ve iki çocuk babasıyım. İngilizce bilmekteyim.