

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER EKTAZİLİLERİN KARDEŞ  
KROMATİD DEĞİŞİMİ (SCE) VE DETOKSİFİKASYON  
ENZİM GEN POLİMOFİZMLERİ YÖNÜNDEN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ayşe YİĞİT  
DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN**  
Doç. Dr. Efkân UZ

ISPARTA 2012

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER EKTAZİLERİN KARDEŞ KROMATİD  
DEĞİŞİMİ (SCE) VE DETOKSİFİKASYON ENZİM GEN  
POLİMORFİZMLERİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Arş. Gör. Ayşe YİĞİT

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Efkan UZ

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Yönetim Birimi tarafından 1940-D-2009 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 81

2012-İSPARTA

## KABUL VE ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı** çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Efkân UZ  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Abdullah DOĞAN  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kardiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç.Dr. Efkân UZ  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Mehmet Ali SÖZEN  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç.Dr. Pınar ASLAN KOŞAR  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

**ONAY:** Bu Doktora Tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Fehmi ÖZGÜNER  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmış olup vakalar Kardiyoloji Anabilim Dalı polikliniğine başvurmuş hastalardan oluşturulmuştur. Çalışma kapsamında bölgemize oldukça yaygın görülen Koroner Arter Ektazi (KAE) vakaları Glutatyon S-Transferaz (GST) enzim gen polimorfizmleri yönünden değerlendirilmiştir.

Yüksek Lisans ve Doktora eğitimim sırasında emeği geçen, ilgisini ve tecrübesini esirgemeyen değerli tez danışmanım Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Efkân UZ'a,

Anabilim Dalımızın bir düzen içerisinde yürümesini sağlayan ve yetişmemde gayret gösteren Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK'e,

Çalışmama yardım ve katkısını esirgemeyen Mevlana Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hacı Ramazan YILMAZ'a,

Her zaman desteklerini yanımda hissettiğim Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalımız öğretim elemanları Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR, Öğrt. Gör. İbrahim ONARAN ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Kalp Merkezinden hastaların belirlenmesi ve tezin yürütülmesi esnasında yardımlarını esirgemeyen Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Elemanlarından Prof. Dr. Abdullah DOĞAN ile asistanları Atilla İÇLİ ve Hâbil YÜCEL'e,

Tezimin maddi desteğini sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

Yüksek lisans ve doktora eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Ve çalışmam süresince deneyimleriyle hep yanımda olan ve bana desteğini her an hissettiren değerli eşim BARBAROS'a, biricik kızım NEŞE'ye ve aileme tüm kalbimle teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay .....	i
Önsöz .....	ii
İçindekiler .....	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini .....	vi
Şekiller Dizini .....	vii
Resimler Dizini .....	viii
Tablolar Dizini .....	ix
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Faz I Tepkimeleri .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.1. Oksidasyonlar .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.2. Kopma Tepkimeleri .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.3. Hidroliz Tepkimeleri .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.4. İndirgenme Tepkimeleri .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2. Faz II Tepkimeleri .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.1. Glukuronik Asit ile Birleşme .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.2. N-Asetilasyon .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.3. Metilasyon .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.4. Sülfat-Ester Konjugasyonu .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.5. Glisin Konjugasyonu .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.6. Glutasyon (GSH) ile Konjugasyon .....</b>	<b>8</b>
<b>2.3. Biyotransformasyondan Sorumlu Enzimlerin Aktivitelerini Etkileyen Faktörler .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4. Ksenobiyotiklerin Toksik Etkileri .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5. Ksenobiyotiklerin Vücuttan Atılması .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.1. Akciğerler .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.2. Safra .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.3. Böbrekler .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6. Glutasyon S-Transferaz .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6.1. Glutasyon .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6.2. Glutasyon S-Transferazlar .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6.3. Glutasyon S Transferaz (GST) Enzimlerinin Sınıflandırılması .....</b>	<b>14</b>
<b>2.6.4. Glutasyon S-Transferazların Genetiği .....</b>	<b>16</b>

2.7. Koroner Arter Ektazisi .....	17
2.7.1. Tanım .....	17
2.7.2. Etyoloji .....	17
2.7.3. Epidemiyoloji .....	21
2.7.4. Koroner Arter Ektazisinin Sınıflandırılması .....	22
2.7.5. Koroner Arter Ektazisinin Anjiyografik Akım Özellikleri .....	24
2.7.6. Koroner Arter Ektazi Patofizyolojisi ve Histopatolojik Bulgular .....	25
2.8. Polimorfizm .....	30
2.8.1. Tanım .....	30
2.8.2. Glutasyon S Transferaz Geni Polimorfik Özellikleri .....	31
2.8.3. Glutasyon S Transferaz Gen Polimorfizmleri ve Kardiyovasküler Hastalıkları .....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	38
3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması .....	38
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler .....	39
3.2.1. Kullanılan Cihazlar .....	39
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler .....	39
3.2.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler .....	41
3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler .....	41
3.2.3.2. PCR İçin Kullanılan Çözeltiler .....	41
3.2.3.3. Elektroforez için Kullanılan Çözeltiler .....	41
3.3. Yapılan İşlemler .....	42
3.3.1. DNA'nın İzolasyonu .....	42
3.3.2. Moleküler Analiz .....	43
3.3.2.1. PCR İşlemi .....	43
3.3.2.2. Kesim İşlemi .....	46
3.3.3. Elektroforez İşlemi .....	47
3.4. Genotiplendirme .....	47
3.5. Sitogenetik Analiz .....	49
3.5.1. Sitogenetik Değerlendirmede Kullanılan Tampon ve Çözeltiler .....	49
3.5.2. Hücrelerin Kültüre Edilmesi ve Kromozom Eldesi .....	51
3.5.3. Preparatların Boyanması .....	51

3.5.4. Preparatların Mikroskopik Değerlendirilmesi .....	52
3.6. Glutasyon-S-Transferaz Enzim Aktivitesi Tayini .....	52
3.7. İstatistiksel Değerlendirme .....	53
4. BULGULAR .....	54
4.1. Hastaların Klinik Özellikleri .....	54
4.2. Koroner Arter Ektazi Hastalarının Anjiyografik Özellikleri.....	56
4.3. Glutasyon S-Transferaz M1 ve T1 (GSTM1, T1) Polimorfizm Genotipleri .	57
4.4. KAE'de Herbisit Maruziyeti ile GSTM1 ve GSTT1 Genotip Dağılımları Arasındaki İlişki .....	58
4.5. Kardeş Kromatid Değişimi.....	59
4.6. Glutasyon S-Transferaz P1 Polimorfizm Genotipleri .....	60
4.7. Glutasyon S-Transferaz Enzim Miktarı Analizleri.....	62
4.8. GSTM1 Gen Polimorfizmi ve Kardeş Kromatid Değişimi.....	62
4.9. GSTT1 Gen Polimorfizmi ve Kardeş Kromatid Değişimi.....	62
5. TARTIŞMA .....	64
ÖZET .....	74
ABSTRACT.....	75
KAYNAKLAR .....	76
EKLER.....	94
ÖZGEÇMİŞ .....	96

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CAE, KAE	Koroner arter ektazisi
GST	Glutasyon S-transferaz
GSH	Glutasyon
CRP	C-reaktif protein
MMP	Matriks metalloproteinazlar
TIMP	Metalloproteinazların doku inhibitörleri
IL	Interlökinler
VCAM	Vasküler hücre adhezyon molekülleri
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörleri
CAD, KAH	Koroner arter hastalığı
NO	Nitrik oksit
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
TG	Trigliserid
IEL	İnternal elastik lamina
ACE	Angiotensin converting enzim
DNA	Deoksiribonükleik asit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
VNTR	Değişken ardışık tekrarlar (Variable Number of Tandem Repeats)
SSCP	Tek iplikçik yapısal çeşitlilik (Single Stranded Conformational Polimorphism)
A	Adenin
G	Guanin
C	Sitozin
T	Timin
Val	Valin
Ile	İzolösin
EDTA	Etilen diamine tetra acetic acid
dNTP	Deoksi nükleotid trifosfat
TBE	Tris-borat-edta
MN	Mikronükleus
SCE, KKD	Kardeş kromatid değişimi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Glutasyonun moleküler yapısı.....	9
<b>Şekil 2.</b> Glutasyonun ksenobiyotik ile konjugasyonu .....	9
<b>Şekil 3.</b> GSH konjugasyonu ve merkaptürik asit biyosentezi .....	10
<b>Şekil 4.</b> GSTM1 gen bölgesinin genomik lokasyonu .....	16
<b>Şekil 5.</b> GSTT1 gen bölgesinin genomik lokasyonu .....	16
<b>Şekil 6.</b> GSTP1 gen bölgesinin genomik lokasyonu.....	17
<b>Şekil 7.</b> Koroner arter ektazi patogenezinin şematize gösterimi .....	26

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> a) Yaygın ektazi b) Segmental ektazi c) Fusiform ektazi'yi gösterir anjiografi çekimleri .....	24
<b>Resim 2.</b> GSTM1, T1 genleri jel elektroforezi görüntüsü .....	48
<b>Resim 3.</b> GSTP1 geni jel elektroforezi görüntüsü .....	48

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> İnsan GST enzimlerinin sınıflandırılması .....	15
<b>Tablo 2.</b> Koroner arter ektazisi sınıflaması .....	23
<b>Tablo 3.</b> GSTM1 olası polimorfizm bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları .....	45
<b>Tablo 4.</b> GSTT1 olası polimorfizm bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları .....	45
<b>Tablo 5.</b> GSTP1 olası polimorfizm bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları .....	46
<b>Tablo 6a.</b> KAE ve normal koroner gruplarının demografik özellikleri .....	54
<b>Tablo 6b.</b> KAE ve normal koroner gruplarının biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri .....	55
<b>Tablo 7a.</b> Herbisit (+) ve Herbisit (-) KAE hastalarının demografik özellikleri .....	55
<b>Tablo 7b.</b> Herbisit (+) ve Herbisit (-) KAE hastaların biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri .....	56
<b>Tablo 8.</b> KAE hastalarının anjiyografik karakteristikleri .....	57
<b>Tablo 9.</b> GSTM1 gen polimorfizminin genotip frekansları .....	57
<b>Tablo 10.</b> GSTT1 gen polimorfizminin genotip frekansları .....	58
<b>Tablo 11.</b> GSTM1 gen polimorfizminin genotip frekansları .....	59
<b>Tablo 12.</b> KAE grubunda GSTT1 gen polimorfizminin genotip frekansları .....	59
<b>Tablo 13.</b> KAE ve normal koronerlerin (kontrol grubu) kardeş kromatid değişimi .....	60
<b>Tablo 14.</b> KAE’de herbisit maruziyeti ile SCE arasındaki ilişki .....	60
<b>Tablo 15.</b> GSTP1 gen polimorfizminin genotip frekansları .....	61
<b>Tablo 16.</b> KAE ve normal koroner (kontrol) grupların dominant modele göre genotip dağılımları .....	61
<b>Tablo 17.</b> KAE ve normal koroner (kontrol) grupların resesif modele göre genotip dağılımları .....	61
<b>Tablo 18.</b> KAE ve normal koroner gruplarının GST enzim miktarları .....	62

<b>Tablo 19.</b> GSTM1 gen polimorfizmi ile kardeş kromatid değişimi (SCE) arasındaki ilişki.....	62
<b>Tablo 20.</b> GSTT1 gen polimorfizmi ile Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) arasındaki ilişki.....	63

## 1. GİRİŞ

Koroner Arter Ektazisi (KAE) veya anevrizmal koroner arter hastalığı; koroner damarların bir bölümünün komşu normal koroner damar çapına göre tıkcayıcı lezyon olmaksızın 1,5-2 kat genişlemesi olarak tanımlanmaktadır. Bu genişleme iki kattan daha fazla olursa koroner arter anevrizması olarak tanımlanmaktadır (Swaye et al. 1983, Falsetti and Carroll 1976). Koroner arter ektazi ve anevrizmaları koroner anomalilerinin nadir formlarıdır ve konjenital veya kazanılmış kökenli olabilirler (Swanton et al., 1978). Koroner arter ektazisi koroner arterlerin anormal dilatasyonu ile karakterize olup aterosklerotik koroner arter hastalığının bir varyantı olarak kabul edilmektedir (Manginas and Cokkinos 2006, Yetkin and Waltenberger 2007).

KAE'nin etyolojisinde % 50 ateroskleroz, % 20-30 konjenital, % 10-20 kadarında enflamatuvar veya bağ doku hastalıkları yer almaktadır (Falsetti and Carroll 1976, Befeler et al., 1977). Ayrıca; familial hiperkolesterolemi, abdominal aort anevrizması nedeniyle opere edilen hastalar, aterektomi, koroner anjioplasti, koroner invaziv girişimler ve travma, mediadaki destek dokuyu zayıflatan kollajen doku hastalıkları (poliarteritis nodosa (PAN), sistemik skleroderma, sistemik lupus eritematosus (SLE) ve romatoid artrit, Ehler-Danlos sendromu ve Marfan sendromu), nitrat ve herbisite maruziyet gibi durumlar etkili olabilmektedir (Sudhir et al., 1995, Berkoff and Rowe 1975, Stajduhar et al., 1993, Markis et al., 1976, Kruger et al., 1999, Maehara et al., 2001, Özaydın et al. 2007).

Koroner arter ektazilerin anjiyografik sıklığı değişik serilerde % 0,2 ile % 10 arasında bildirilmiştir (Aintablian et al., 1978, Hartnell et al., 1985, Rath et al., 1985, Sharma et al., 1990, Tunick et al., 1990, Akcay ve ark., 2010). Hindistanda yapılan bir saha çalışmasında iskemik kalp hastalarında KAE insidansı % 10 bulunmuştur (Sharma et al., 1990). İnsidans verilen en büyük çalışmalardan biri olan Coronary Artery Surgery Study (CASS) verilerinde 20087 hastanın 978'inde (% 4,9) KAE saptanmıştır (National Heart, Lung, and Blood Institute Coronary Artery Surgery Study 1981, Swaye et al., 1983).

İnsanlık günümüzde pek çok yabancı maddeye maruz kalmaktadırlar. Ksenobiyotikler adını verdiğimiz bu maddeler arasında ilaçlar, çevreyi kirleten

kimyasal karsinojenler, insektisid, herbisit ve fungusid kalıntıları, yiyecek ve içeceklerde bulunan katkı maddeleri bulunmaktadır. Glutasyon S-transferaz (GST) enzim sistemleri birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda önemli rol oynayan Faz II metabolizması enzimlerindedir (Sheehan et al., 2001). Glutatyona elektrofilik substratların bağlanmasını katalizleyebilir, kovalent ve kovalent olmayan bağlanmalar vasıtasıyla toksik bileşikleri uzaklaştırırlar. Glutasyon (GSH) bir non-enzimatik antioksidan olup, elektrofilik özellikteki bileşiklerle konjugasyona girerek onların detoksifikasyonunu sağlar. Vücuda alınan ksenobiyotikler besin maddelerine ve endojen bileşiklere benzer şekilde bir seri biyokimyasal tepkime sonucunda metabolize edilmektedir. Bu tepkimeler sonucu oluşan ve başlangıçtaki bileşikten daha polar olan bileşikler vücuttan doğal yollarla atılmaktadır.

Glutasyon S-transferazların birçok formu insan dokularının çoğunda bulunmaktadır ve şimdiye kadar araştırılan her bir dokuda izoelektrik noktası (pI) 4,5 ile 4,9 arasında en az bir anyonik formunun bulunduğu tespit edilmiştir (Singh et al., 1986).

EC 2.5.1.18 olarak kodlanan GST enzimlerinin insanda 5 tipi bildirilmiştir. Bunlar alpha (A), mu (M), pi (P), theta (T) ve zeta (Z)'dir (Singh et al., 2008). Bu grupların da subtipleri bulunmaktadır (A1-A4, M1-M5, P1, T1-T2 ve Z1).

Bildiğimiz gibi toplumda % 1'den daha yüksek sıklıkta görülen genetik değişiklik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak adlandırılır. GST enzimleri arasında çok sayıda polimorfizm bildirilen tipler M1, M3, P1, T1, T2 ve Z1'dir (Lee et al., 2004).

GSTM1 ve GSTT1 genlerindeki polimorfizmler enzim aktivitesinin azalmasına özellikle her iki gendeki homozigot delesyonlar enzimin tamamen aktivitesini kaybetmesine neden olmaktadır. Bu da sigara ile ilişkili kanser ve koroner arter hastalıklarının oluşumuna zemin hazırlamakta, özellikle sigara içenlerde koroner arter hastalığının gelişimine katkıda bulunmaktadır (Zhong et al., 1991, Tamer ve ark., 2004).

GST'ler özellikle sigara tütününde bulunan kanserojenlerin (monohalometanlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, etilen oksit) detoksifikasyonunda önemli rol oynarlar. GST gen delesyonunda GST aktivite

yokluğuna bağlı sigara içimi sonucu ortaya çıkan kanserojenler detoksifiye edilemez ve bunun sonucunda akciğer, serviks ve diğer sigaraya bağlı kanserlerde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Singh et al., 2008, Ueda et al., 2005 ).

GST polimorfizmleri kardiyolojik hastalıklarda da değerlendirilmiştir. GSTT1 ve GSTM1 genlerindeki delesyonlar GST enziminin aktivitesini azaltmakta, özellikle sigara içenlerde koroner arter hastalığının gelişimine katkıda bulunduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Abu-Amero et al., 2006, Tamer ve ark., 2004, Van Schooten et al., 1998, Girisha et al., 2004). Yine GSTM1 ve GSTT1 genindeki null genotipinin KAH'nın ya da akut miyokard infarktüs (AMI)'ün risk faktörü olduğu da bildirilmiştir (Wilson et al., 2003).

Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde GST gen polimorfizmlerinin KAE ile bağlantısının araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca KAE vakalarında kardeş kromatid değişim (KKD) sıklığı adı verilen bir sitogenetik parametre ile de vakaların çevresel bir toksik ajandan etkilenme durumları değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda 90 KAE hastası ve 91 kontrol vakası kullanılarak GST enzim polimorfizmleri ve enzim aktivitesi incelenmek istenmiştir. Ayrıca KAE vakalarının bölgemizde özellikle yapılan tarım ve kullanılan herbisitlerle bağlantısına da bakılmış ve herbisit maruziyeti GST ilişkisi de değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda sitogenetik, moleküler genetik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak KAE vakaları ve onlarla yaş ve cinsiyet açısından uyumlu kontrol grubu arasında aşağıdaki veriler değerlendirilmiştir.

- KAE ve kontrol grubunun GSTM1 gen polimorfizminin karşılaştırılması,
- KAE ve kontrol grubunun GSTT1 gen polimorfizminin karşılaştırılması,
- KAE ve kontrol grubunun GSTP1 gen polimorfizminin karşılaştırılması,
- KAE grubundaki vakaların herbisit maruziyetli ve maruziyetsiz vakalarında GSTM1, GSTT1, GSTP1 gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması,
- KAE ve kontrol grubunun KKD sıklığı açısından değerlendirilmesi,
- KAE ve kontrol grubunun GST enzim aktivitesi yönünden kıyaslanması.

Daha önceki çalışmalar, kardiyolojik hastalıklar (KAH, AMI) ve GST polimorfizmleri arasındaki ilişkileri incelemiştir. GST enzim polimorfizmlerinin KAE vakalarını nasıl etkilediği çalışmamız kapsamında incelenmiştir. Ayrıca KAE vakaları kendi içinde değerlendirilerek herbisit maruziyetli olanlar ayrılmıştır.

Yetiştirilen bitkisel ürünlerin kalitesini ve miktarını artırmak amaçlı kullanılan pestisitler, son yıllarda canlılar için bir tehdit haline gelmiştir. Ekosistemdeki her canlı direkt ya da indirekt olarak pestisitlerden etkilenmektedir. Özellikle, bilinçsizce yapılan aşırı pestisit ve herbisit kullanımları yüzünden, hayvanlarda ve insanlarda ölümlere varan ciddi sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Herbisit maruziyetinin GST enzim polimorfizmi ile birlikte olması durumunda KAE vakalarının etki düzeyi değerlendirilmeye çalışılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

İnsanlar günlük yaşantılarında pek çok yabancı maddeye maruz kalmaktadırlar. Ksenobiyotikler adı verilen bu maddeler arasında ilaçlar, çevreyi kirleten kimyasal karsinogenler, insektisid, herbisit ve fungusid kalıntıları, yiyecek ve içeceklerde bulunan katkı maddeleri bulunmaktadır.

Vücuda alınan ksenobiyotikler besin maddelerine ve endojen bileşiklere benzer şekilde bir seri biyokimyasal tepkime sonucunda metabolize edilmektedir. Bu tepkimeler sonucu oluşan ve başlangıçtaki bileşikten daha polar olan bileşikler vücuttan doğal yollarla atılmaktadır. Bu yabancı maddenin vücuttan atılması için geçen süre, bileşiğin cinsine ve kişinin bileşiği metabolize etme yeteneğine bağlı olarak değişmektedir. Genellikle gastrointestinal sistemden pasif difüzyon ile absorbe edilen bu bileşiklerden asidik karakterde olanları midenin asidik ortamında gastrik mukoza tarafından kolayca alınabilmekte, bazik olanlar ise midede iyonlaştıktan sonra intestinal lümeninden emilmektedir.

Dolaşıma geçen bir ksenobiyotik molekülü idrar veya safra ile atılabilmekte hücreler arası sıvıya geçerek doku hücreleri içine sızabilmekte veya karaciğer, böbrek, akciğer ve diğer organlardan geçişi sırasında metabolik değişikliğe (biyotransformasyon) uğratılmaktadır. Bu mekanizma serbest moleküller için geçerli olup plazma ve hücrel proteinlere bağlı olanlar öncelikle bağlandıkları bölgeden ayrılmalıdırlar. Asidik yapıdaki yabancı moleküller albumin, bazik olanlar ise  $\alpha$ -asit glikoproteine bağlanmaktadır.

Pek çok ilaç ve diğer ksenobiyotiklerin biyotransformasyonundan sorumlu olan enzim sitemleri karaciğerin düz endoplazmik retikulumunda mikrozomal kesitte yerleşmişlerdir. Böbrek, beyin, akciğer, gastrointestinal epitel, deri, adrenaller gibi diğer dokularda da bulunabilen bu enzimlerin buralardaki miktarı karaciğerden daha azdır. İnce barsaklardan emilen bileşik önce gastrointestinal epitel ve daha sonra karaciğer enzimlerinin etkinliği ile karşılaşır. Enzimatik biyotransformasyonda yer alan kimyasal tepkimeler, faz I ve faz II tepkimeleri olarak iki grupta toplanır. Faz I tepkimelerinde, bileşik yükseltgenerek, indirgenerek veya hidroliz edilerek daha polar bir yapıya dönüştürülmektedir. Ortaya çıkan metabolit farmakolojik olarak

inaktif, daha az aktif veya ana molekülden daha çok aktif olabilmektedir. Faz I tepkimelerini monooksijenazlar veya sitokrom P450 gibi enzimler katalizlemektedir. Aynı zamanda deaminasyon, dehalojenasyon, desülfürasyon, epoksidasyon ve peroksijenasyon yapabilen bu enzimler ile ana bileşiğe, bir fonksiyonel grup (-OH, -NH<sub>2</sub>, -SH) eklenmekte veya bileşiğin fonksiyonel grubunu saklamaktadır. Oluşan metabolit yeteri kadar polar ise böbreklerden veya safra yollarından atılmaktadır. Ancak pek çok faz I ürününün kolaylıkla atılmadığı, glukuronik asit, sülfürik asit, asetik asit veya aminoasitler gibi endojen bir substratla birleşerek daha çok polar bir konjugat haline getirildiği bilinmektedir. Birinci fazdaki ürünlerin daha polar hale getirildiği tepkimelerin toplamına faz II tepkimeleri adı verilmektedir. Detoksifikasyon, ksenobiyotiğin metabolize edilerek zararsız hale getirilmesidir ancak oluşan ürün daha aktif ve zehirleyici ise olumsuz sonuçlar da doğurabilmektedir.

## **2.1. Faz I Tepkimeleri**

### **2.1.1. Oksidasyonlar**

Oksidasyon tepkimeleri sitokrom P450 bağımlı oksidazlar tarafından katalizlenmektedir. Sitokrom P450 bağımlı oksidazlar veya monooksijenazlar (karma fonksiyonlu oksidazlar) moleküler oksijeni kullanarak bileşikleri hidroliz etmektedirler.

### **2.1.2. Kopma Tepkimeleri**

Bir ksenobiyotiğin daha küçük iki moleküle ayrılması tepkimeleri, kopma tepkimeleri olarak tanımlanmaktadır. Bu tepkimelerde hidroliz, dekarboksilasyon ve glikozidlerin hidrolizi gibi biyokimyasal olaylar yer almaktadır.

### **2.1.3. Hidroliz Tepkimeleri**

Asetilkolin esterase tarafından asetat ve koline hidroliz edilen asetilkolin örneğinde olduğu gibi esterler ve amidler grubunda yer alan yabancı maddeler genellikle hidroliz edilmektedir. Prokain gibi lokal anestezipler, aspirin gibi analjezikler vücuttan hidroliz edilerek atılmaktadır. Bu tepkimeleri katalizleyen

esterazlar ve amidazlar, plazmada ve hücrenin sitoplazmasında yer almaktadır. Hidrolazların substrat özgüllüğü dokudan dokuya ve türden türe farklılıklar göstermektedir.

#### **2.1.4. İndirgenme Tepkimeleri**

İn vivo koşullarda yapılarından ötürü indirgenerek metabolize edilen maddeler arasında ketonlar, aldehitler, azo (N=N) grubu, nitro grubu ve disülfür bağı taşıyan bileşikler yer almaktadır.

### **2.2. Faz II Tepkimeleri**

Faz I tepkimeleri ile hidrosillenerek polar özellik kazanan bileşikler, glukuronik asit, glutasyon veya sülfat moleküllerinin kullanıldığı II. faz tepkimeleri ile daha polar özellik taşıyan konjugatlara dönüştürülmektedir. Konjugatların oluşumu için yüksek enerjili ara bileşikler ile hücre sitoplazmasında veya mikrozomlarında yerleşik özel transferaz enzimleri gerekmektedir.

#### **2.2.1. Glukuronik Asit ile Birleşme**

UDP-glukuronik asitin (UDPG) glukuronil grubu vericisi olarak kullanıldığı bu gruptaki tepkimeleri bir grup glukuronil transferaz katalizlemektedir. Glukuronil transferazlar endoplazmik retikulum ve sitozolde bulunmaktadır. Anilin, benzoik asit, fenol, bir karsinojen olan 2-asetilaminofluoren, bir yapıştırıcı olan maeprobromat, fenolik bileşikler ve pek çok steroid sınıfı bileşik glukuronidler şeklinde atılmaktadır. Substrat üzerinde bulunan oksijen, azot veya kükürt taşıyan gruplara glukuronik asit bağlanmaktadır. Sitoplazmadaki üronik asit metabolik yolunda UDPG, glukoz-1-fosfat ve uridin trifosfatın katıldığı tepkimeler ile sentezlenmektedir.

#### **2.2.2. N-Asetilasyon**

Asetat ve benzoik asit gibi çeşitli karboksilik asitler, asetil-CoA ile aktiflenerek asetil veya benzoil türevlerine dönüştürülmektedirler. Anilin türevi olan

sülfonamid ilaçlar ve antitüberküler bir ilaç olan izoniazid gibi hidrazinler, N-asetilasyon yolu ile metabolize edilmektedir.

### **2.2.3. Metilasyon**

Karaciğer hücrelerinin sitoplazmasında ve mikrozomal kesitinde bulunan transmetilazlar tarafından aromatik hidroksil, sülfidril ve amin grupları taşıyan ilaçların metilasyonu katalizlenmektedir.

### **2.2.4. Sülfat-Ester Konjugasyonu**

Çeşitli alkolik ve fenolik ilaçlar, sülfatlanarak eteral sülfatlara dönüştürülmektedir. Sülfat grubunun ATP ile aktiflenmesi sonucu oluşan fosfo adozin-5'fosfosülfat (PAPS) yapısındaki APS ile tepkimeye giren fenolik ilacın hidroksil grubuna sülfat aktarılmaktadır. Bu tepkime sülfokinazlar tarafından katalizlenmektedir.

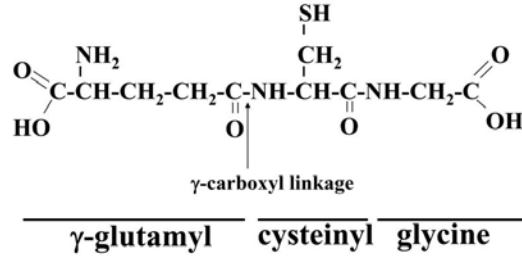
### **2.2.5. Glisin Konjugasyonu**

Karboksil grubu taşıyan bazı ilaçların CoA ile konjugasyona girmesi ile oluşan aktif kompleksler, daha sonra bir aminoasit olan glisin veya glutamat ile tepkimeye girerek peptit-açılımları meydana getirmektedirler. Safra asitlerinin glisin ile konjugasyonu atılımlardaki en önemli basamağı oluşturmaktadır. Benzoik asit glisin ile konjugasyona girerek huppurik asite çevrilmekte ve idrarla atılmaktadır.

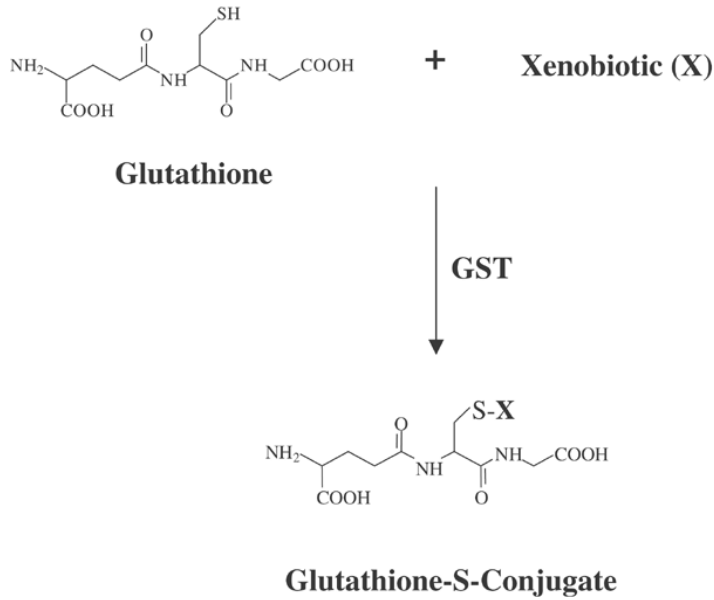
### **2.2.6. Glutasyon (GSH) ile Konjugasyon**

Bir tripeptit olan glutasyon ( $\gamma$ -glutamil sistenil glisin) (Şekil 1), yapısında yer alan sisteinden ötürü bir sülfidril (-SH) grubu taşımaktadır. Kuvvetli bir nükleofil olan sülfidril grubu bazı toksik bileşik veya metabolitlerin elektrofilik merkezlerine bağlanmaktadır (Şekil 2). Karaciğer sitozolünde ve daha az miktarda diğer dokularda bulunan Glutasyon S-Transferazlar bu tepkimeleri katalizlemektedir. Aromatik nitro bileşikleri, alkenler, aromatik hidrokarbonlar, aril epoksidler, alkil epoksidler ve alkil halidler ile tepkimeye giren bu enzimlerin substratlara karşı özgülükleri farklı olmaktadır. Glutasyon konjugatlarında enzimlerin vasıtasıyla öncelikle glutamat sonra glisin ayrılır. Daha sonra asetilasyon ile son ürün olan ve sistein amino asitinin

mevcut olduğu merkapturik asit oluşur. Merkapturik asit N-asetilsisteinin türevleri olan S-alkillenmiş ürünlerdir. Son olarak bu ürünler idrar yolu ile atılır (Habig et al., 1974) Yani glutatyon ile konjuge edilen bileşikler merkapturik asit türevleri şeklinde idrarla atılmaktadır (Şekil 3).



Şekil 1: Glutatyonun moleküler yapısı (Lu SC., 2009).

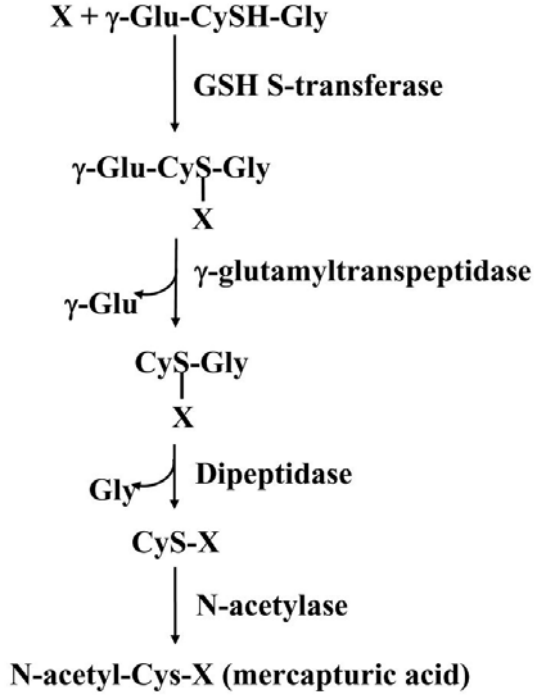


Şekil 2: Glutatyonun ksenobiyotik ile konjugasyonu (<http://www.nature.com>, Erişim tarihi: 13 Ağustos 2012)

Kimyasal Formül : C<sub>7</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S  
 Fiziksel Formu : Beyaz, kristal katı  
 Moleküler Ağırlığı : 307,33  
 Erime Noktası : 192-195°C  
 Suda Çözünürlük : Su, etanol, sıvı amonyak, dimetilformamidde kolay çözünür.

pH (10g/L; H<sub>2</sub>O; 20°C): 3

Hücre içi glutatyon (GSH) düzeyinin azalmasına bağlı olarak potansiyel toksik bileşikler olan ksenobiyotikler, GSH ile konjugasyona girememekte ve kovalent olarak DNA ve RNA moleküllerine veya hücre proteinlerine bağlanarak hücre hasarına yol açmaktadır.



**Şekil 3:** GSH konjugasyonu ve merkaptirik asit biyosentezi. X; elektrofilik substratın aktif merkezi (Lu SC, 2009).

### 2.3. Biyotransformasyondan Sorumlu Enzimlerin Aktivitelerini Etkileyen Faktörler

Ksenobiyotik metabolizmasında görevli enzimler; diyet, genetik faktörler, ksenobiyotiklerin metabolitleri, tür, yaş ve cinsiyet gibi çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedirler. Doğum sonrası ilk birkaç ay düşük olan sitokrom P450 enzim aktiviteleri, birkaç ay sonra erişkin düzeyine ulaşmaktadır. Konjugasyonları katalizleyen enzimler ise daha geç dönemde erişkinlerdeki aktivite düzeyine ulaşabilmektedir. Fenobarbital gibi bazı ksenobiyotiklerin alımında enzim uyarılması olabilmektedir. Bazı ksenobiyotiklerin metabolitleri ise ksenobiyotik metabolizmasında yer alan enzimleri inhibe etmektedir. Birden fazla ilaç kullanımı, pestisit ve endüstriyel kimyasal maddeler gibi çevresel faktörler, beslenme faktörleri

(açlık veya diyetin kalitesi), alkol alımı, aşular ve hastalıklar (hepatik ve renal) enzim aktivitesini etkileyebilmektedir.

#### **2.4. Ksenobiyotiklerin Toksik Etkileri**

Bazıları çok küçük miktarlarda bile toksik etkili olabilen ksenobiyotikler, genel olarak hücreler üzerinde üç tip etki yapmaktadır. Bunlar; hücre hasarı, hücrenin antijenik özelliklerinin değiştirilmesi ve karsinogenez şeklindedir. Ksenobiyotiklerin hücre proteinlerine, DNA ve RNA moleküllerine kovalent olarak bağlanması ile ortaya çıkan hücre hasarı hücrenin ölümü ile sonuçlanmaktadır. Hücrenin antijenik özelliklerini değiştiren ve haptenler gibi davranan ksenobiyotikler, daha önce sentezlenen antikora bağlanarak hücrenin immünolojik metabolizmasını bozmaktadır. Monooksijenazlar ile aktiflenen benzopiren gibi bazı kimyasal bileşikler, karsinojenik özellik kazanmaktadır. Alkilleyici bileşikler ise doğrudan DNA yapısına bağlanarak karsinojenik etki göstermektedir.

#### **2.5. Ksenobiyotiklerin Vücuttan Atılması**

Toksik bileşikler vücuttan; akciğer, safra ve böbrekler başta olmak üzere süt veren annelerde meme dokusundan süt ile de atılabilmektedir.

##### **2.5.1. Akciğerler**

Uçucu anestezikler, paraldialdehid, hidrojen sülfid, karbonmonoksit ve siyanid gibi toksik gazlar akciğerde metabolize edilerek atılmaktadır. Akciğerde karaciğerdeki biyotransformasyon tepkimelerinde yer alan enzimlerin tamamı bulunmaktadır. Monoaminooksidaz, katekol-O-metil transferaz, anjiyotensin converting enzim gibi enzimlerin yanı sıra; aromatik bileşiklerin hidroksillenmesi ve glukuronik asit ile birleşme gibi temel tepkimeler akciğerde gerçekleşmektedir.

##### **2.5.2. Safra**

Molekül ağırlığı 0,5 kDa değerinden büyük olan ksenobiyotiklerin atılımı safra aracılığı ile olur.

### **2.5.3. Böbrekler**

Böbreklerden atılan önemli bileşikler arasında; digoksin, aminoglukozidler, furosemid ve fenobarbital yer almaktadır. Biyotransformasyondan sorumlu enzimler genel olarak tubulus epitel hücrelerinde yerleşmiştir. Böbreklerde temel detoksifikasyon tepkimesi sülfat konjugasyonudur. Bununla birlikte; glukuronilleşme, sistein ve glutatyon ile birleşme, çeşitli oksidasyonlar, N-asetilasyon tepkimeleri de ksenobiyotiklerin böbrekten atılımında etkili olmaktadır (Onat ve Emerk 1996).

## **2.6. Glutatyon S-Transferaz**

### **2.6.1. Glutatyon**

Glutatyon (GSH) bir non-enzimatik antioksidan olup, elektrofilik özellikteki bileşiklerle konjugasyona girerek onların detoksifikasyonunu sağlar. GSH, L-glutamik asid, L-sistein ve glisinden iki basamaklı bir reaksiyon ile oluşan bir tripeptittir (Şekil 1). Organizmada en fazla karaciğerde, hücrede ise; sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunur. Ksenobiyotik metabolizmasında glutatyonun rolü; faz I enzimlerince oluşturulan reaktif türlerin glutatyon ile konjugasyona girmesi ve sonuçta hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını engelleyerek hücre hasarını önlemesi şeklinde gerçekleşmektedir. Ksenobiyotiğin reaktif türleri bir proteine bağlanıp onu değişikliğe uğratarak antijenik özelliğini değiştirebilir. Ksenobiyotik bir hapten yani tek başına antikor sentezini uyarmayan bir molekül gibi davranıp, antikorla birleşip hücreyi hasara götürebilir.

### **2.6.2. Glutatyon S-Transferazlar**

Glutatyon S-transferaz (GST) enzim sistemleri birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda önemli rol oynayan Faz II metabolizması enzimlerindedir (Sheehan et al., 2001). Glutatyona elektrofilik substratların bağlanmasını katalizleyebilir, kovalent ve kovalent olmayan bağlanmalar vasıtasıyla toksik bileşikleri uzaklaştırır. Bunun yanı sıra bu enzimlerin diğer bazı fonksiyonları vardır. Peroksidaz ve izomeraz aktivitesine de sahip olan bu enzimler hücre ölümlerine neden olan  $H_2O_2$ 'ye karşı hücreleri korurlar (Sheehan et



al., 2001). Glutasyon peroksidaz II aktivitesi ile lipid hidroperoksitleri azaltırlar (Booth et al., 1961, Prohaska and Ganther 1977, Chasseaud 1979, Awasthi et al., 1980).

GST enziminin diğeri önemli görevi; prostoglandinlerin izomerizasyonu, hem, bilirubin, safra tuzları ve yağ asitleri gibi nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayarak, taşınmasına yardımcı olmaktır. GST, nonspesifik bir hidrofobik bir bağlanma bölgesine (H bölgesi) sahip olduğu için, nonpolar moleküller için intrasellüler bağlanma proteini olarak da rol oynamaktadır (Boyer 1989).

GST enzimi; klorambusil, melphalan, siklofosamid ve mitoksantren gibi çeşitli antikanser ilaçlar, hormonlar, hidrokarbonlar ve diüretik ilaç olan etakrinik asit gibi endojen metabolitleri GSH ile bağlayarak, suda daha kolay çözünür hale getirmekte, idrar ve safra yoluyla atılımını kolaylaştırmaktadır (Arias and Jacoby 1976). Aynı zamanda reaktif elektrofilik bileşiklerin vücuda zarar vermesini, aynı tür bileşikler birbirine kovalent bağlayarak da önleyebilmektedir. Ligandların birçoğu, karaciğerde GST enzimine bağlı olarak bulunmaktadır. Dolayısıyla GST varlığında, bazı ligandların serbest halde bulunması engellenerek, steroid gibi toksik bileşiklerin karaciğere vereceği zararlar ortadan kaldırılmış olur (Puchalski and Fahl 1990). GST, çok sayıda reseptör molekülüne, sülfür grubunu aktarabilir. Bu ksenobiyotik akseptörler içerisinde, nitrojenli, halojenli bileşikler, organofosfatlar (pestisitler dahil), polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi bileşikler yer almaktadır. Ayrıca GST, oksijen varlığında lipid ve DNA'da meydana gelen zararlı uçları, DNA hidroperoksitlerin son metabolik ürünlerini, alkenol ve endojen elektrofik bileşikler detoksifiye etmektedir (Arias and Jacoby 1976).

Glutasyon S-transferazların birçok formu insan dokularının çoğunda bulunmaktadır ve şimdiye kadar araştırılan her bir dokuda izoelektrik noktası (pI) 4,5 ile 4,9 arasında en az bir anyonik formunun bulunduğu tesbit edilmiştir (Singh et al., 1986). Bu enzimlerin birkaç formu karaciğer hücrelerinin sitozolünde bulunmaktadır. Ayrıca karaciğer hücrelerinin mikrozomal kısmında mikrozomal membrana sıkı bir şekilde tutunmuş ve sitozolik formundan farklı özelliklere sahip glutasyon S-transferazlar bulunmuştur. En sık rastlandığı dokular, başta karaciğer olmak üzere, incebağırsak, kalınbağırsak, böbrek, akciğer, meme, kas, dalak, testis ve plasenta gibi birçok organın sitosolü ve membranıdır (Habig et al., 1974).

Merkapturik asit oluşumunun ilk adımında ksenobiyotikler ile GSH'ın bağlanmasını katalizleyen bu enzimler karaciğerde selenyumsuz glutatyon peroksidaz aktivitesi gösterirler. Bu enzimler aynı zamanda bilirubin ve hem grubu gibi metabolitler ile birçok ilaç ve boyar maddelere bağlanma gösterebilirler (Boylard and Chasseaud 1969).

GST, glutatyon ile kanserojen ve mutajen gibi ksenobiyotikleri içeren çeşitli elektrofilik substratların konjugasyonunu da katalizler. Memeli karaciğerinde bu GSH konjugatları  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz, sisteinilglisinaz ve N-asetil transferaz ilavesi ile merkapturik asit biyosentez yolu vasıtasıyla metabolize olur. Bazı GST'lerin detoksifikasyondan ziyade organik hidroperoksitlerin glutatyon peroksidaz (GPX) aktivitesiyle redüksiyonu ve lökotrien A (LTA) dan lökotrien C (LTC) nin oluşumunu sağlaması gibi alternatif fonksiyonları olduğu belirtilmiştir (Tamaki et al., 1989).

GSH'ın tiyol grubu ile lökotrien LTA4'ün konjugasyonu LTC4'ün biyosentezini gerçekleştirir. Lösemili fare hücrelerindeki bu reaksiyonu membrana bağlı bir enzim katalizlemektedir. Bu sebepten ötürü fare mikrozomal GST'sini karakterize etmek, substrata karşı olan ilgiyi, inhibitörlere karşı davranışı ve fizikokimyasal özelliklerini tanımlamak LTC4 sentezine olan katkısını değerlendirebilmek için önemlidir (Andesson et al., 1988).

Karaciğerdeki yüksek konsantrasyondaki GST'ler ve bunların bilirubine karşı yüksek afinitesi aynı zamanda bu proteinin bilirubin metabolizmasındaki rolünü destekler (Vander Jagt et al., 1985).

### **2.6.3. Glutatyon S Transferaz (GST) Enzimlerinin Sınıflandırılması**

GST enzimleri doğada bakteriler, maya, küf, yumuşakçalar, kabuklular, solucanlar, kurbağalar, böcekler, bitkiler, balıklar, kuşlar ve memelilerde bulunur. Özellikle böceklerde, sığanda ve memelilerde detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Fare karaciğerindeki GST'ler birkaç genin ürünüdür ve bu enzimlerin hepsi dimer oldukları için dimerlerin bazılarının arasında değiş-tokuş yapılarak bu enzimin çok sayıda formu ortaya çıkmıştır. Böceklerde bu enzim ailesi insektisidlerin toksik etkilerine karşı temel bir savunma olarak bilinir. Örneğin karasineklerde (*Musca domestica*) organofosfat insektisidlere dirençli mutantların GST'nin yüksek

seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. *Musca domestica*'da  $\theta$  sınıfı GST'leri önemli bir gen ailesi kodlar. Bu aileden Md GST1, 2, 3, 4, 6A ve 6B genleri tanımlanmıştır. *Musca domestica*'da Md GST1, 3 ve 6'nın fazla üretimi organofosfat insektisitlere direnç oluşturur. Md GST6A dirence diğerlerinden daha fazla katkıda bulunur. Araştırmacılar *Musca domestica*'nın 2. kromozomunda lokalize olmuş genlerin organofosfatlı insektisitlere direnç gösteren GST'nin ekspresyonunu kontrol ettiğini göstermişlerdir (Plapp 1984, Kence 1988, Çakır ve Yamanel 2005).

EC 2.5.1.18 olarak kodlanan GST enzimleri çok fonksiyonlu iki alt birimden oluşmuş dimerik bir enzim ailesidir. GST'ler membrana bağlı ve sitoplazmik olmak üzere iki grupta incelenmektedir. İnsanda sitozolik GST izoenzimleri izoelektrik noktaları esas alınarak 3 ayrı grupta toplanmıştır (Board 1981, Faulder et al., 1987).

GST  $\mu, \Psi, \theta$  → Nötral

GST  $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \varepsilon$  → Bazik

GST  $\Pi, \lambda, \rho$  → Asidik özellik gösterir.

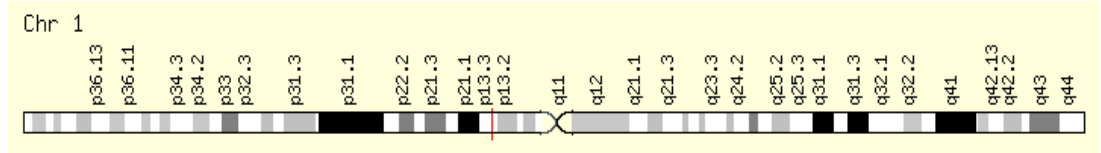
Memelilerdeki sitozolik GST enzimleri; Alfa, Mü, Pi, Theta olmak üzere dört ana sınıfa ayrılmıştır. Bunların dışında membrana bağlı şekilde lökötrien C4 sentaz ve mikrosomal GST olarak adlandırılan iki GST daha bulunmaktadır (Mannervik 1985, Chan and Sell 1994).

**Tablo 1:** İnsan GST enzimlerinin sınıflandırılması (Mannervik 1985, Chan and Sell 1994).

ENZİM	SINIF	LOKUS	KROMOZOM
GST A1-1	Alfa	GSTA 1	6p12
GST A1-2	Alfa	GSTA2	6p12
GST M 1a-1a	Mü	GSTM1	1p13
GST M1b-1b	Mü	GSTM1	1p13
GST M2-2	Mü	GSTM2	1p13
GST M3-3	Mü	GSTM3	1p13
GST M4-4	Mü	GSTM4	1p13
GST M5-5	Mü	GSTM5	1p13
GST P1-1	Pi	GSTP1	11q13
GST T1-1	Teta	GSTT1	
GST T2-2	Teta	GSTT2	
Mikrosomal		GST12	12
Lökötrien C4		Lökötrien C4	
Sentaz		Sentaz	

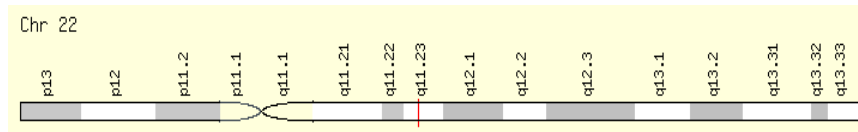
#### 2.6.4. Glutasyon S-Transferazların Genetiği

Mu sınıfı GST'ler (GSTM1, M2, M3, M4, M5); karsinojenler, ilaçlar, çevresel toksinler ve oksidatif stres ürünleri gibi elektrofilik bileşikleri glutasyon ile konjuge ederek detoksifikasyonunu sağlar. 1p13.3 kromozom bölgesinde lokalize olan gen oldukça polimorfiktir (Şekil 4). Polimorfizm nedeniyle oluşan genetik varyasyon; bireyin karsinojenlerden ve toksinlerden etkilenme düzeyini değiştirebilmektedir. Mu sınıfı genlerin null mutasyonu (delesyonu), bazı kanserlerin artışıyla bağlantılıdır. Bu bağlantı muhtemelen çevresel toksin ve karsinojenlerin detoksifiye edilememesi ile oluşmaktadır. Bu genin farklı transkriptlerinden genin farklı izoformları kodlanmaktadır



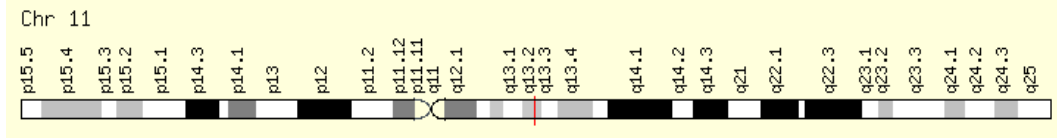
**Şekil 4:** GSTM1 gen bölgesinin genomik lokasyonu ([www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2952](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2952), <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTM1>).

Theta sınıfı GST'ler (GSTT1 ve GSTT2), % 55 oranında aminoasit benzerliği gösterirler. GSTT'ler birçok eksojen ve endojen hidrofobik elektrolitin redükte glutasyon ile konjugasyonunu sağlarlar. Ayrıca her ikisinin de karsinogenezde önemli olduğu iddia edilmektedir. T1, T2'den yaklaşık 50 kb uzakta yer almaktadır ve 22q11.23 bölgesinde lokalize olmuşlardır (Şekil 5).



**Şekil 5:** GSTT1 gen bölgesinin genomik lokasyonu (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTT1>).

Pi sınıfı GST'ler de ksenobiyotik mekanizmasında rol almaktadırlar ve kanser ve birçok hastalığın oluşumunda rol oynayabilmektedirler. GSTP varyantları 11q13.2 gen bölgesinde lokalize olmuştur (Şekil 6).



**Şekil 6:** GSTP1 gen bölgesinin genomik lokasyonu (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTP1>).

GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizminde, popülasyonun % 15-50'sinde GSTT1 ve GSTM1 geni bulunmaz ve homozigot gen delesyonu bulunan bireylerde ilgili enzim sentezlenemez (Kato et al., 1998). GSTP1 üç genotip halinde bulunmakta olup bunu 105. pozisyondaki aminoasit izolösinin valin aminoasidi ile heterozigot veya homozigot değişimi belirlemektedir. Bu da enzimin aktivitesini ve termostabilitesinde değişime neden olmaktadır (Watson et al., 1998).

## 2.7. Koroner Arter Ektazisi

### 2.7.1. Tanım

Koroner damarların bir bölümünün komşu normal koroner damar çapına göre tıkaçıcı lezyon olmaksızın 1,5-2 kat genişlemesi **koroner arter ektazi (KAE) veya anevrizmal koroner arter hastalığı** olarak tanımlanmaktadır. Bu genişleme iki kattan daha fazla olursa koroner arter anevrizması olarak tanımlanmaktadır (Swaye et al., 1983, Falsetti and Carroll 1976). Koroner arter ektazi ve anevrizmaları koroner anomalilerinin nadir formlarıdır ve konjenital veya kazanılmış kökenli olabilirler (Swanton et al., 1978). Koroner arter ektazisi koroner arterlerin anormal dilatasyonu ile karakterize olup aterosklerotik koroner arter hastalığı varyantı olarak kabul edilmektedir (Manginas and Cokkinos 2006, Yetkin and Waltenberger 2007). KAE terimi ilk kez 1929'da Packard ve Wechsler tarafından rapor edilmiştir (Packard and Wechsler 1929).

### 2.7.2. Etyoloji

KAE'nin etyolojisinde % 50 ateroskleroz, % 20-30 konjenital, % 10-20 kadarında enflamatuvar veya bağ doku hastalıkları yer almaktadır (Falsetti and Carroll 1976, Befeler et al., 1977). Ayrıca; familial hiperkolesterolemi, abdominal aort anevrizması nedeniyle opere edilen hastalar, aterektomi, koroner anjioplasti, koroner invaziv girişimler ve travma, mediadaki destek dokuyu zayıflatan kollajen doku

hastalıkları (poliarteritis nodosa (PAN), sistemik skleroderma, sistemik lupus eritematosus (SLE) ve romatoid artrit, Ehler-Danlos sendromu ve Marfan sendromu), nitrat ve herbisite maruziyet gibi durumlar etkili olabilmektedir (Sudhir et al., 1995, Berkoff and Rowe 1975, Stajduhar et al., 1993, Markis et al., 1976, Kruger et al., 1999, Maehara et al., 2001, Özaydın et al. 2007).

Batı toplumunda koroner arter etkizisinin en sık nedeni aterosklerotik koroner arter hastalığıdır. Yapılan çeşitli çalışmalarda KAE ve aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH)'nın büyük oranlarda birliktelik göstermiştir. KAE'nin patolojik incelenmesinde; aterosklerotik reaksiyonun bulguları olan; tipik diffüz hiyalinizasyon, lipit depozisyonu, intima ve media hasarı, fokal kalsifikasyon ve fibrozis, kolesterol kristalleri, intramural kanama ve yabancı cisim dev hücresi gösterilmiştir (Kajinami et al., 1999). Gerek aterosklerotik KAH ile olan sık birliktelik gerekse ortak patofizyolojik mekanizmaların olması KAE'ni KAH'nın farklı bir varyantı olduğu değerlendirmelerinin yapılmasına neden olmuştur (Markis et al., 1976, Kruger et al., 1999, Yetkin and Waltenberger 2007, Hartnell et al., 1985, Demapoulos et al., 1997, Sadr-Ameli and Sharifi 2001, Ilia et al., 1995, Swanton et al., 1978, Nyamu et al., 2003, Swaye et al., 1983)

KAE'nin etyolojisinde % 10-20 oranında inflamatuvar veya bağ doku hastalıkları sorumlu tutulmuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda gerek sistemik inflamasyon markerlerinin (CRP, IL'ler), gerekse bozulmuş ve yeniden yapılanan vasküler yapılarda etkili diğer parametreler (Matriks metalloproteinaz (MMPs), metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMPs), E-Selektin, Vasküler hücre adhezyon molekülleri (VCAM-1), Interselüler hücre adhezyon molekülleri (ICAM-1), Vasküler endotelial büyüme faktörleri (VEGF)) taranmıştır. Sistemik enfeksiyonun göstergesi olan IL-6 ve CRP'nin KAE'lilerde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Dawson et al., 2007, Tokgozoglu et al., 2004, Turhan et al., 2004)

Turhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada KAE'lilerde CRP'nin gerek kontrol grubundan gerekse obstrüktif koroner arter hastalığı grubundan yüksek olması, KAE'nin patogenezinde sistemik ve damar duvarı enflamasyonunun güçlü bir şekilde etkili olabileceği yorumunun yapılmasına neden olmuştur (Turhan et al., 2004). Bunun yanında KAE oluşumunda IL-6, MMP-3 ve MMP-9'u sorumlu tutan

ancak; CRP'nin KAE, KAH ve kontrol gruplarında benzerlik gösterdiğini belirten çalışmalar da mevcuttur (Dogan et al., 2008). MMPs ekstraselüler matriks komponentlerini degrade eden bir enzim grubudur. Bu enzim ailesi embriyogenez, yara iyileşmesi, anjiogenez, doku yeniden yapılanması, kanser ve ateroskleroz gibi birçok biyolojik olayda merkezi rol oynamaktadır. KAE, aortik anevrizma ile yüksek oranda bir arada bulunmaktadır ve bulgular ortak patogenetik mekanizmayı paylaştığını göstermektedir. Burada suçlanan etken MMPs'lar ve onların doku inhibitörleri TIMPs'lerdir (Dollery et al., 1995). Yine Tengiz ve arkadaşları MMP ve TIMP arasındaki dengesizliğin KAE'nin patogenezinde etkili olduğunu gösterir çalışmaları mevcuttur. Bilindiği gibi orta kalınlıktaki ve ince arterlerin tunica media'sı temel damar tabakası olup duvarın kalınlığını ve tonüsünü belirlemektedir. Ektatik koroner arterlerin histolojik incelemelerinde, tunica media ve intima tabakalarında yoğun yapısal hasarın olduğu gözlenmiştir. Bu değişikliklerin şiddeti, KAE'nin çapı ile korele bir şekilde artmaktadır. Arter duvarındaki bu yıkımın MMP ve TIMP arasındaki dengenin bozulması ile olduğu ifade edilmektedir. Çalıştıkları KAE vaka serisinde serum MMP-3 seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek olmasını bunun göstergesi olarak ifade etmişlerdir (Tengiz et al., 2004, Li et al., 2007). Yine Doğan ve arkadaşları da MMP-3 ve MMP-9 yüksekliğinin ektazi oluşumunda katkısı olduğunu savunmuşlardır (Dogan et al., 2008).

İnflamasyonun damar hasarına neden olan olaylarda etkili olduğu bilinen bir gerçektir. Ateroskleroz patogenezinde adezyon molekülleri dolaşımdaki monositlerin endotele adezyonuna ve geçişine aracılık ederek katılırlar. Yapılan çalışmalarda plazma E selektin, interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler adezyon molekülü (VCAM-1) ve CRP seviyelerinin izole KAE hastalarında, tıkaçıcı KAH ve normal koroner arterli olanlara göre oldukça yüksek olduğu görülmüştür (Yılmaz et al., 2006, Turhan et al., 2005) Ayrıca bu adezyon molekülleri ile ektatik segment uzunluğu arasında da önemli bir korelasyon tespit edilmiştir (Turhan et al., 2005). Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiogeneziste ve inflamatuvar süreçte rol oynayan bir diğer faktör olup diffüz KAE hastalarında anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (Savino et al., 2006). Aynı çalışmada VEGF'in yanı sıra MMP-2, TIMP-1, TIMP-2 ve CRP değerleri de taranmıştır. MMP-2, TIMP-1 ve CRP değerleri gruplar arasında fark göstermezken; TIMP-2 seviyesi KAE'lilerde anlamlı

olarak düşük bulunmuştur. Bu veriler sürekli ve hızlı bir ekstraselüler matriks yapılanması sürecinin, arterial yeniden yapılanma ve anevrizmal oluşuma destek verdiğini göstermektedir. İnflamasyon süreci esnasında damar duvarındaki dengesiz matriks yapım ve ayrışımı KAE'nin patogeneğinde etkili bir durumdur. Tüm bu parametrelere bakarak, KAE'nin tahrip edici inflamatuvar bir lezyon olduğu sonucuna varılabilmektedir (Turhan ve Yetkin 2007).

Koroner arter ektazi gelişimi için bir başka olasılık Nitrik Oksid (NO)'in endotel bağımlı gevşetici faktör (EDRF: Endothelium-derived relaxing factor) aracılığı ile kronik aşırı stimülasyonu sonucu koroner dilatasyona neden olabileceğidir. Birçok hasta angina pectoris nedeniyle kronik olarak gliseril trinitrat tedavisi almakta, bunlarda muhtemelen NO stimülasyonu aracılığı ile ektaziyi kötüleştirebilmektedir. Diğer bir olasılık da, bu hastalarda genellikle koroner arter hastalığı vardır ve ateroskleroz varlığında endotelden uygunsuz NO salınımı olmaktadır. Quyyumi ve arkadaşları, koroner vasküler dilatasyon nedeninin asetilkoline bağlı artmış NO üretimi olduğunu bildirmişlerdir (Quyyumi et al., 1995). Aterosklerotik damarların asetilkolinle stimülasyonu ile paradoksik vazokonstriksiyon görülebilir. Bu NO'ye bağlı vazodilatasyon ile endotelin bağımlı vazokonstriksiyon arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır. NO'nin asetilkolin ile stimülasyonu sonucu biyoyararlılığı azalmakta, endotelin dominant hale gelmekte ve vazokonstriksiyon oluşmaktadır (Sorrell et al., 1996, Sorrell et al., 1998).

Uzun süreli herbisitlere maruz kalma ile KAE arasında ilişki olabileceği üzerinde durulmuştur. Çiftçilerde bireysel olarak herbisit sprey kullanımı ile KAE arasında ilişki kurulmuştur (Özaydın et al., 2007). Herbisitlerde yaygın olarak kullanılan 2,4-diklorofenoksi asetik asit ve 2,4,5-triklorofenoksi asetik asit birer asetilkolin esteraz inhibitörüdür. Bu ajanlara uzun süre maruz kalınması koroner intertisyumunda asetilkolin konsantrasyonunu kronik olarak artırmaktadır. Herbisitlerdeki 2,4-diklorofenoksi asetik asit ve 2,4,5-triklorofenoksi asetik asitin asetilkolin konsantrasyonunu artırmasının mekanizması; muhtemelen asetilkolinin son ürünleri olan asetik asit ve koline yıkımının kompetitif inhibisyonudur. Yine herbisitlerdeki asetilkolin esteraz inhibitörleri direkt olarak asetilkolin konsantrasyonunu artırmaktadır. Asetilkolin NO oluşumunu uyarmaktadır. Herbisitler fokal olarak NO konsantrasyonunu arttırabilirler. NO stimülasyonu



guanilat siklaz yoluyla ve endoplazmik retikulumdan kalsiyum salımıyla vasküler düz kaslarda relaksasyona neden olmaktadır. Fakat kronik relaksasyonun KAE'ne neden olup olmadığı bilinmemektedir.

Koroner arter ektazisinin erkek cinsiyette kadın cinsiyete göre daha sık görüldüğü belirtilmiştir. (Swaye et al., 1983, Bermudez et al., 2003, Sudhir et al., 1995). Ancak cinsiyet açısından farkın olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur. (Demopoulos et al., 1997 Hartnell et al., 1985).

Çalışmaların çoğunda KAE ile yaş arasında bir ilişki gösterilmemiştir (Sadr-Ameli and Sharifi 2001, Demopoulos et al., 1997). Koroner arter hastalığı risk faktörlerinden hiperlipidemi, tütün kullanımı ve hipertansiyon ektazinin eşlik ettiği KAH'larında sık rastlanılan risk faktörleridir. KAE risk faktörlerinin incelendiği bir çalışmada; 197 ailesel hiperkolesterolemili ve 198 sağlıklı kontrol iki grubun karşılaştırılmasında; hiperkolesterolemili grupta KAE sıklığı % 15, kontrol grubunda ise % 2,5 bulunmuştur. Aynı çalışmada ektazi saptanan tüm hastalarda LDL/HDL oranı ve LDL değeri yüksek tespit edilmiş ayrıca düşük HDL düzeyi ile ektazi arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. İlgili çalışma, lipoprotein metabolizmasındaki bozukluğun KAE gelişiminde rolünün olabileceğini düşündürmektedir (Sudhir et al., 1995).

Koroner arter ektazisi ile sistemik hipertansiyon arasında bir ilişkinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ilişki hipertansiyonun KAE'nin patogenezinde rol alabileceğini gösterir olduğunu ifade etmesinin (Yılmaz et al., 2008, Swaye et al., 1983) yanında etkilemeyeceğini belirtmesi tarzında da olabilir (Demopoulos et al., 1997, Sadr-Ameli and Sharifi 2001)

### **2.7.3. Epidemiyoloji**

Koroner arter ektazilerin anjiyografik sıklığı değişik serilerde % 0,2 ile % 10 arasında bildirilmiştir (Aintablian et al., 1978, Hartnell et al., 1985, Rath et al., 1985, Sharma et al., 1990, Tunick et al., 1990, Akcay ve ark., 2010). Hindistanda yapılan bir saha çalışmasında iskemik kalp hastalarında KAE insidansı % 10 bulunmuştur (Sharma et al., 1990). İnsidans verilen en büyük çalışmalardan biri olan Coronary Artery Surgery Study (CASS) verilerinde 20087 hastanın 978'inde (% 4,9) KAE

saptanmıştır (National Heart, Lung, and Blood Institute Coronary Artery Surgery Study 1981, Swaye et al., 1983).

Markis ve arkadaşlarının prospektif değerlendirmelerinde % 1,2 insidans verilirken, bu oran Hartnell ve arkadaşlarının 5000 kişiyi değerlendirdikleri retrospektif çalışmalarında % 1.4'dür (Markis et al., 1976, Hartnell et al., 1985).

Önemli koroner arter stenozunun eşlik etmediği koroner arter dilatasyonuna izole KAE veya pür KAE denilmektedir. Tanısal amaçlı 3815 koroner anjiyografide, izole KAE sıklığı % 1,08 olarak saptanmıştır (Akyürek ve ark., 2001). Diğer bir seride bu oran % 3 olarak bildirilmiştir (Altınbaş ve ark., 2004). Literatürlerde verilen KAE insidansı popülasyonun genelinde bulunan KAE insidansından daha yüksektir. Çünkü KAE tanısındaki altın standart anjiyografiye yönlendirilmiş seçilmiş vakalarda bu oran tahminlerin üzerinde çıkmaktadır (Yetkin and Waltenberger 2007). Ayrıca KAE insidansının farklı oranlarda bildirilmesinin tanı kriterlerinin farklılığından ve farklı ölçümler kullanılmasından kaynaklanmaktadır (Yamanaka and Hobbs 1990, Swaye et al., 1983).

Koroner ektazi en çok sağ koroner arteri tutmakta (% 40), bunu sırasıyla sirkumfleks (% 34) ve sol ön inen arter (% 29) takip etmektedir (Hartnell et al., 1985). Giannoglu ve arkadaşları 331 ektazili hastada damar tutulum oranlarını; sağ koroner arter; % 44.4, sirkumfleks arter; % 24.8, sol inen arter; % 24.5, sol ana koroner arter; % 3,9 olarak bildirmişlerdir (Giannoglu et al., 2006).

#### **2.7.4. Koroner Arter Ektazisinin Sınıflandırılması**

Koroner arter ektazilerini sınıflandırmada çok çeşitli tanımlamalar kullanılmıştır. Ektazi; koroner arterdeki yaygınlığına göre fokal ve diffüz olarak ikiye ayrılır. Koroner arter lokalize tutulum gösteriyorsa; fokal ektazi, koroner arterin tamamı ektazik ise de diffüz ektazi tanımları yapılır (Maehara et al., 2001). Morfolojik olarak ektazi; sakküler ve fuziform olarak ayrılır. Sakküler formda; transvers çap, fuziform form da ise longitüdinale çap daha büyüktür (Aqel et al., 2004). Tunick ve arkadaşları fusiform genişlemeleri ektazi olarak tanımlarken, lokal olan sferik veya sakküler genişlemeleri için diskret anevrizma terimini kullanmışlardır (Tunick et al., 1990). Ektazi koroner arter lümen çapına göre ise; küçük, orta çapta ve dev ektazi olarak 3'e ayrılır. Lümen çapı 5 mm'nin altında ise;

küçük, 5-8 mm arası ise; orta çapta, 8 mm'nin üzerinde ise de dev ektazi adını almaktadır (Dajani et al., 1994).

Markis ve arkadaşları ise KAE'yi dört gruba ayırmışlardır. Gruplar şu şekildedir:

Tip I : 2 yada 3 damarda diffüz ektazi,

Tip II : Bir damarda diffüz ve başka damarda lokalize ektazi,

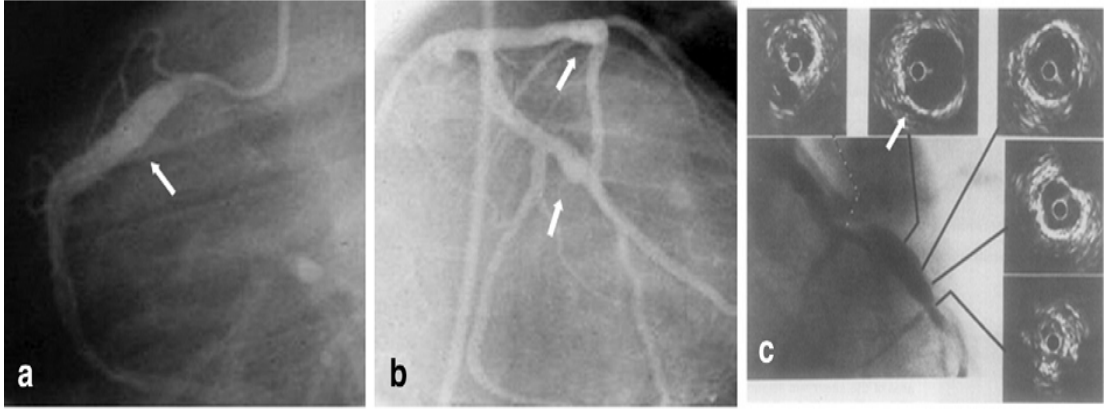
Tip III: Sadece bir damarda diffüz ektazi,

Tip IV: Lokalize yada segmental ektazi (Markis et al., 1976) (Resim 1).

İlia ve arkadaşları KAE'yi komşu normal koroner segmente olan anjiyografik ölçümlerine göre 3'e ayırmışlardır: Birinci derece; komşu normal segmentten 1.2-1.5 kat daha fazla genişleme, ikinci derece; komşu normal segmentten 1.5-2 kat daha fazla genişleme, üçüncü derece; komşu normal segmentten 2 kattan daha fazla genişleme olarak tanımlanmıştır (İlia et al. 1995).

**Tablo 2:** Koroner arter ektazisi sınıflaması (Antoniadis et al., 2008).

Özellik	Kategori	Tanımlama
Ölçülen Çap	Küçük	Anevrizmanın lüminal çapı 5mm'den küçük
	Orta	Anevrizmanın lüminal çapı 5-8 mm
	Büyük (Dev)	Anevrizmanın lüminal çapı 8 mm'den büyük
Enine veya Boyuna Boyut	Sakkular	Enine çap boyuna boyutu geçerse
	Fusiform	Boyuna boyut maksimum enine çapı geçerse
Damar Duvar Bütünlüğü	Gerçek	Tüm duvar tabakaları mevcut
	Yalancı	Damar bütünlüğü kaybolmuştur
Topoğrafik Yerleşim	Tip I	2 veya 3 damarın yaygın ektazisi
	Tip II	1 damarın yaygın ektazisi ve bir diğerinde lokalize olması
	Tip III	Sadece bir damarda yaygın ektazi
	Tip IV	Lokalize veya segmental ektazi



**Resim 1.** a) Yaygın ektazi b) Segmental ektazi c) Fusiform ektazi'yi gösterir anjiyografi çekimleri (Antoniadis et al., 2008).

### 2.7.5. Koroner Arter Ektazisinin Anjiyografik Akım Özellikleri

Koroner arter ektazisinde anjiyografik olarak koroner kan akımında bozulma vardır ve üç akım durumu izlenmektedir.

1. Yavaş koroner akım; radyopak maddenin dolması ve boşalmasında gecikme,

2. Segmental ileri-geri akım fenomeni “Backflow” (milking phenomenon)

3. Dilate koroner segmentte radyopak maddenin lokal birikimi (staz) dir.

Anjiyografik bulgular, genişlemiş koroner arter lümeninde akımın laminar özellikten türbülant akıma dönüşmesine bağlı bulgularıdır (Türkmen ve ark., 2006). Koroner arter ektazisi bulunan hastalarda iskemi mekanizması açık değildir. Yapılan çalışmalarda izole KAE'deki bozulmuş koroner kan akımının miyokard iskemisine ve hatta miyokard infarktüsüne sebep olabileceği belirtilmiştir (Ilia et al., 1995). Güleç ve arkadaşları ektazili hastalarda epikardiyal ve mikrovasküler perfüzyonun bozulduğunu göstermişlerdir (Gulec ve ark., 2003).

Ektatik segmentlerde kan akımının türbülant özellik kazanması, aksiyal akımın kaybına bağlı gelişen eritrosit agregasyonları ve ektatik bölgede oluşan trombojenite artışı ve bunun sonucunda oluşan trombüslerin distale embolizasyonu, koroner ektazi ile mikrovasküler perfüzyon bozukluğu arasındaki ilişkinin önemli nedenleri olarak bildirilmiştir (Kruger et al., 1999).

Başka bir çalışmada ise koroner akım hızı ölçülmüş, akım hızının anevrizma içerisinde belirgin olarak azaldığı, komşu normal segmentte ise normal olduğu görülmüştür (Hamaoka et al., 1998)

Akyürek ve arkadaşları izole diffüz KAE'si olan hastalarda koroner akım rezervinin kontrol grubundan daha düşük olduğu bildirilmiştir (Akyürek ve ark., 2001). Fakat volümetrik koroner kan akımı anlamlı olarak KAE grubunda daha yüksek bulunmuştur. Azalmış koroner akım rezervi mikrosirkülatuar disfonksiyonu yansıtmakta ve egzersize bağlı miyokardial iskeminin nedeni olarak açıklamışlardır (Akyürek ve ark., 2001).

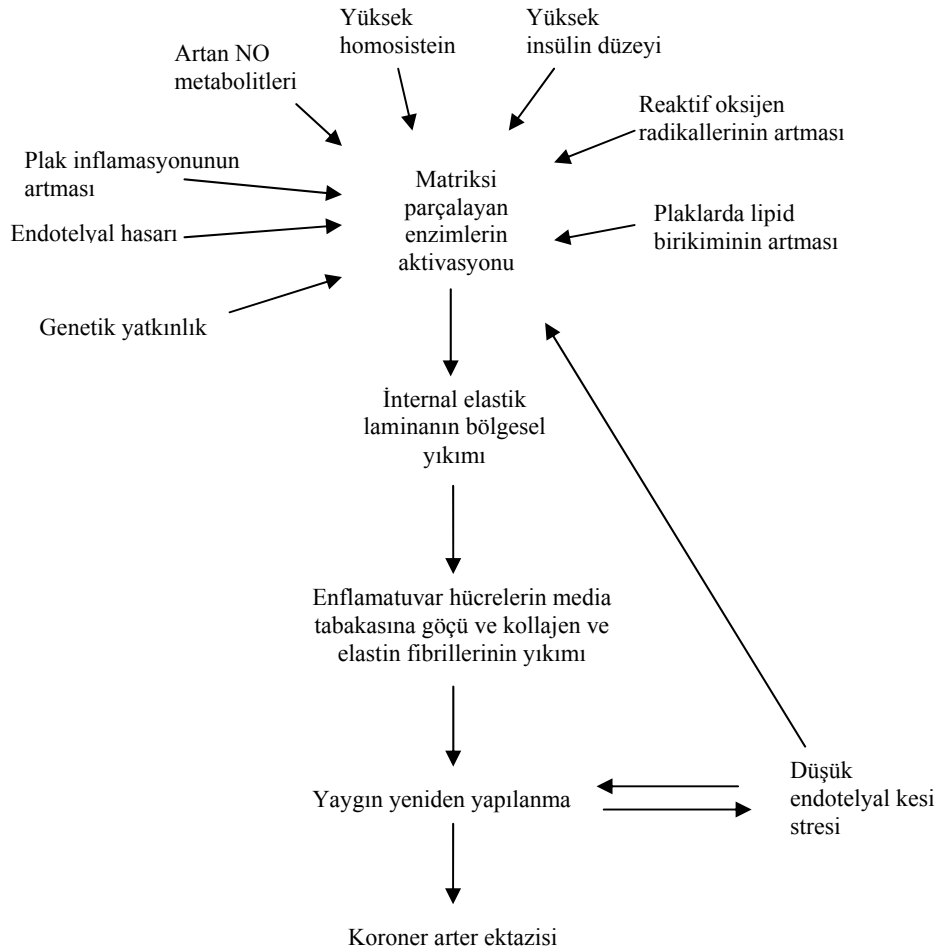
Koroner arter ektazili hastaların ektatik arterleri, ektatik olmayan arterler veya kontrol grubuyla kıyaslandığında “Trombolysis in Myocardial Infarction (TIMI)”, kare sayısı ve myokardiyal blush grade'i (MBG), mikrovasküler perfüzyon bozukluğunu öngördürecek düzeyde düşük bulunmuştur (Gulec ve ark., 2003). Sonuç olarak, KAE'li hastalarda miyokard iskemisi ve angina pectorisin temel nedeni, mikrovasküler perfüzyon ve akım rezervindeki bozulmalar olarak kabul edilmektedir (Akyürek ve ark., 2001, Türkmen ve ark., 2006, Chrissoheris et al., 2008).

#### **2.7.6. Koroner Arter Ektazi Patofizyolojisi ve Histopatolojik Bulgular**

Şekil 7'de görüldüğü gibi KAE patogenezindeki temel nokta; media tabakasının müsküloelastik elementlerinin matriks degrade eden enzimler tarafından yıkımı, kollajen ve elastin birikimi ve sonuçta damar duvarının incelmeye giden bir yapılanma izlenmektedir (Antoniadis et al., 2008). Media hasarı, intraluminal basıncın azalmış stres toleransında azalmaya neden olarak, devam eden yıkıma ve ektazi gelişimine sebep olmaktadır. Aynı zamanda damar duvarının incelmeye ve duvar stresinin artması kısır bir döngü oluşturmaktadır. Bu kısır döngü ile ilerleyici genişleme sonucu diffüz yada lokal ektazi gelişmektedir (Gussenhoven et al., 1991).

Daha önce de ifade ettiğimiz gibi KAE'nin altında yatan en sık patoloji aterosklerozdur. Aterosklerotik KAH ile anlamlı oranda birlikteliği, patofizyolojide ortak mekanizmalar olduğunu ve ektazinin KAH'nın farklı bir varyantı olduğunu düşündürmektedir. Ancak araştırılmış birçok özellik açısından KAE ve aterosklerotik KAH'nın birbirinden farklılık gösterdiği derlenmiştir (Yetkin and Waltenberger 2007). Diyabet ve yaş ile koroner arter ektazisinin negatif korelasyonlu olduğu söylenmektedir. Yani ilerleyen yaş ve diyabet varlığı KAH riskini artırırken, KAE riski bunlarla bağlantılı değildir. MMP-3 5A polimorfizmi KAE grubunda anlamlı

bir şekilde yaygın iken KAH grubunda bir anlam teşkil etmemektedir. MMP-3'ün plazma seviyesinin artışı yine KAE'sinde görülürken KAH'da gözlenmez. KAE'sinde daha çok sağ koroner arter etkilenirken, KAH'da sol ön inen koroner arter tutulum göstermektedir. Karotid intima-media kalınlığı KAE'de değişkenlik gösterirken, KAH'da artış göstermektedir. Endotel bağımsız dilatasyon azalması KAE'de görülürken, KAH'da görülmemektedir. Nitrat tedavisinin ya da maruziyetinin tehlikeli etkileri KAE vakalarını etkilerken, KAH vakalarını etkilememektedir (Yetkin and Waltenberger 2007). Sayılan bu farklılıklardan dolayı KAE'nin KAH'nın bir varyantı değil, kendine has spesifik patolojileri olan farklı bir klinik bulgu olduğu söylenilebilir.



**Şekil 7:** Koroner arter ektazi patogenezinin şematize gösterimi. Matriks degradasyonuna neden olan matriks degrade eden enzimlerin aktivasyonunu etkileyen faktörler, bunların iç elastik laminayı (IEL) yıkımı ve enflamatuvar hücrelerin media tabakasına göçü ve yaygın yeniden yapılanma ile oluşan ektazi (Antoniadis et al., 2008).

KAE oluşumu ile bağlantılı pek çok faktör bilinmektedir. Bu faktörlerin etkisi özellikle matriks degrade eden enzimlerin aktivasyonunun indüklenmesi ve ektazinin tetiklenmesi şeklinde olmaktadır.

KAE'nin bir arteriyal yeniden yapılanma sonucu oluştuğu gerçektir. 3 ayrı yeniden yapılanma modeli tanımlanmıştır.

a) Daraltıcı yeniden yapılanmada dış elastik membran ve lümen bölgesi büzleştirilmekte ve daralmaktadır.

b) Dengeleyici ya da telafi edici yeniden yapılanmada ise; total dış elastik membran bölgesi artmakta fakat lümen genişliği korunmaktadır.

c) Aşırı genişletici yeniden yapılanmada ise; hem dış elastik membran hem de lümen çapı artmaktadır (Chatzizisis et al., 2007a, Chatzizisis et al., 2007b, Chatzizisis et al., 2008, Glagov et al., 1987, Bentzon et al., 2003).

Media tabakasının ekstraselüler matriksinin enzimatik yıkımının ektazi oluşumunda temel patobiyolojik işlem olduğu düşünüldükten sonra KAE aşırı genişletici yeniden yapılanmanın da ilerlemiş hali olarak kabul edilmektedir (Chatzizisis et al., 2007a, Chatzizisis et al., 2007b, Chatzizisis et al., 2008, Bentzon et al., 2003). Matriks Metalloproteinazların (MMPs) aşırı ekspresyonu deneysel hayvan modellerinde arteriyal yeniden yapılanma ile bağlantılıdır (Mason et al., 1999). İnsanlarda ise; abdominal aort anevrizmalarının MMPazların artan üretimi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Carrell et al., 2002). Farklı sınıflardaki proteolitik enzimlerin (sistein proteaz, serin proteaz gibi) koroner ektazi patogenezinde önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (Liu et al., 2006, Schneiderman et al., 1995, Cheng et al., 2004, Dollery et al., 2003). Matriksi degrade eden bu enzimler, iç elastik laminanın hasarına neden olmakta bu da; inflamasyon ile bağlantılı hücrelerin media tabakasına geçişine ve burada kollajen ve elastin fibrillerini degrade etmesine ve sonuç olarak damar duvar bütünlüğünün zayıflamasına ve ektatik dönüşüme giden bir süreci oluşturmaktadır.

Plazma lipoprotein seviyesi ile koroner arter anevrizması ve ektazisi arasındaki ilişki daha çok ailevi hiperkolesterolemisi olan vakalarla yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Koroner ektazi prevalansı ve KAH risk faktör ilişkisinin incelendiği bir çalışmada ailevi hiperlipidemili asemptomatik 197 hasta, aynı yaş ve cinsiyetteki KAH ön tanısıyla tanısal amaçlı koroner anjiyografi yapılan

benzer sayıda hasta ile karşılaştırılmış ve ektazi prevalansının ailevi hiperlipidemili hasta grubunda % 15'e karşın % 2,5'lik farkla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada ektazi saptanan tüm hastalarda LDL/HDL oranı ve LDL değeri yüksek saptanmıştır (Sudhir et al., 1995). Moleküler seviyede, LDL-C (Low-density lipoprotein kolesterol) elastin, kollajen ve proteoglikanlara bağlanmakta ve oksidatif değişimler geçirerek matriks bileşenlere afinitesi artmaktadır (Camejo 1982). Okside LDL-C makrofajlar ve düz kas hücreleri tarafından yutulur ve köpük hücre yapısı oluşur. Köpük hücre oluşumu ile arter duvarı bağ dokusunun zayıflaması arasında direk bir bağlantı vardır. Koroner arter duvarının bu şekilde hasarı yeniden biçimlenmeye gider; bu yeniden biçimlendirmenin ileri formu ise ektazi olarak karşımıza çıkmaktadır.

İnflamasyonun rolüne bakıldığında ise bu etkinin; adhezyon molekülleri, C-reaktif protein (CRP), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), lökotrienler, enfeksiyon ajanları ile belirlendiği ifade edilmektedir (Antoniadis et al., 2008). İnflamasyon gerek koroner arterlerde gerekse sistemik dolaşımda anevrizma oluşumunda anahtar rol oynamaktadır. Adhezyon molekülleri sirkülasyondaki monositlerin duvar endoteline göçünde ve yapışmasında görev olarak ateroskleroz patogenezinde yer almaktadır. E-selektin, hücreler arası adhezyon molekülü (ICAM-1) ve vasküler hücre adhezyon moleküllerinin (VCAM-1) plazma seviyeleri izole koroner ektazili vakalarda belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca adhezyon moleküllerinin seviyesi ile ektatik segment büyüklüğü arasında da anlamlı ilişki vardır (Turhan ve ark., 2005). CRP de yine koroner ektazi grubunda anlamlı olarak yüksek bulunan bir parametredir (Turhan ve ark., 2004).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), potansiyel anjiojenik bir parametredir ve enflamatuvar süreçte önemli rol oynamaktadır. VEGF seviyesi, diffüz koroner ektazi vakalarında anlamlı olarak yüksektir (Savino et al., 2006). Bu bulgu anevrizmatik arerial bölgelerde tanımlanan yeniden damarlanma ile bağlantılıdır (Collins et al., 2006). Ayrıca VEGF, MMP oluşumunu tetiklemektedir bunlar da hücre siklusunu bozarak damar duvarındaki yapısal değişimleri ilerletmektedir (Unemori et al., 1992). Lökotrienler aterosklerotik lezyonlarda bolca sentezlenmektedir ve aterosklerotik oluşum ile KAH'nin belirtilerinin oluşması ile bağlantılıdır. Lipoksijenaz yolunda lökotrienler, hidrosieikozatetraenoik asitler



(HETE) ve lipoksinler oluşur. Deneysel modellerde 5-lipoksijenaz geninin artan ekspresyonu aortik anevrizma oluşumuna yatkınlık oluşturur. Damar duvarında makrofajlardan MMP salınımı ve 5-lipooksijenaz aşırı ekspresyonu bir arada olmaktadır (Dwyer et al., 2004, Zhao et al., 2004, Cipollone et al., 2005). *Chlamydia pneumoniae* gibi bazı enfeksiyon ajanları aterosklerozun patogenezi ile bağlantılıdır. *Chlamydia pneumoniae*'ye karşı oluşturulan antipadiler izole koroner ektazi gurubunda normal kontrollerle kıyaslandığında daha yüksek bulunmuştur. Bu bakterinin etkisini muhtemelen MMP ekspresyonunu düzenleyen ısı şok proteinlerinden Hsp 60'ın üretilmesine aracılık etmek suretiyle gösterdiği düşünülmektedir (Adiloglu ve ark., 2005, Arno et al., 2005, Kol et al., 1998).

Renin-anjiotensin sisteminin rolüne bakıldığında; anjiotensin II'nin damar duvar homeostazını etkileyen temel belirleyici olduğu ifade edilmektedir. Anjiotensin bu görevini; endotel disfonksiyonu, inflamasyon aracılarının ekspresyonu, oksidatif stres üretimini, hücre çoğalmasını, fibrozis ve trombozisi indükleyip ateroskleroza sebep olarak gerçekleştirmektedir. Genetik polimorfizmin yol açtığı artan plazma ve doku anjiotensin II seviyeleri koroner ektazi ile bağlantılıdır. Yükselen anjiotensin II seviyesi medianın yıkımını IL-6'yı indüklemek suretiyle kolaylaştırmaktadır (Singh and Mehta 2003, Uyarel ve ark., 2005).

Homosisteinin etkisine bakıldığında; kontrol grubu kullanılarak yapılan çalışmalarda plazma homosistein düzeyinin ektazililerde belirgin olarak yüksek olduğu bulunmuştur. Ek olarak homosistein düzeyi ile ektatik segment sayısı arasında da korelasyon bulunmuştur. Artan homosistein seviyesi, arterial düz kas hücrelerinde serin proteaz aktivitesini indüklemek suretiyle (MMP-2'yi aktifleştirir) medial arter tabakasının yıkımını hızlandırmaktadır (Kosar ve ark., 2006, Bescond et al., 1998)

İnsülin de ateroskleroz ve koroner ektazi ile bağlantılıdır. Hiperinsülinemi ateroskleroz oluşumunu mediadaki vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü uyararak şiddetlendirmektedir ve ekstraselüler matriks üretimini etkilemektedir (Anderson et al., 1996).

Nitrik Oksid (NO), vazodilatör, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antitrombotik etkileri ile iyi bilinmektedir. NO çeşitli metabolitleri ve yan ürünleri (peroxynitrat, nitrat), gerek direkt gerekse MMPazları aktive etmek suretiyle koroner

ektazi oluşumunda önemli roller oynamaktadır (Paik et al., 1997, Rajagopalan et al., 1996).

Koroner ektazi gelişiminde genetiğin etkisi bazı indirek kanıtlarla gösterilmiştir. Bunlar Angiotensin Converting Enzim (ACE) genotipi ve ailevi hiperkolesteroleminin kalıtsal durumlarıdır (Uyarel ve ark., 2005, Gulec ve ark., 2003, Alarcon et al., 2006, Mabuchi et al., 1986, Sudhir et al., 1995.). Farklı coğrafik bölgelerdeki ektazi sıklığının değişmesinde de genetik varyasyon düşünülebilir (Sharma et al., 1990). Belirtilen genlerin etkilerine rağmen, ektaziden sorumlu kesin bir genetik defekt henüz tanımlanmamıştır.

## **2.8. Polimorfizm**

### **2.8.1. Tanım**

İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve ifade edilme düzeylerini etkileyen kişisel genetik farklılıklar ve DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen polimorfik/genetik değişiklikler, kanser dahil çeşitli hastalıkların riskini arttırabilen başlıca genetik faktörlerdir.

Toplumda % 1'den daha yüksek sıklıkta görülen genetik değişiklik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak adlandırılır. Bu oran % 1'in altında ise mutasyon ismini alır. Polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanmaktadır. Gen lokusu kromozom üzerinde belirli bir karaktere ait genetik bilginin yer aldığı bölgedir (Friedman et al., 1976, Passarge and Passarge 1995). Bir gen lokusunda iki veya daha fazla allel yer alabilir ve bunlardan herhangi birisi fenotipte etkisini gösterebilir. Eğer bir lokustaki allel frekansı en az % 1 ise ve bu alleli taşıyan heterozigotların frekansı % 2'den büyükse bu gen lokusuna polimorfik denebilir. İnsanlarda proteinleri kodlayan gen lokuslarının en az üçte birinin polimorfik olduğu saptanmıştır. Evrimsel süreçte türlerin farklılaşmaları ve bir türün üyeleri arasındaki genetik çeşitliliklerin oluşmasında etkili genetik değişikliklerden birisi de polimorfizmdir. Genomdaki nükleotid tekrar sayısı değişiklikleri çoğunlukla tek nükleotid polimorfizmi olmak üzere ikili, üçlü olabilmektedir. Nadir olarak da

kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlenmeler şeklinde genetik polimorfizmler görülmektedir (Ekmekçi ve ark., 2008).

Genetik polimorfizmlerinin belirlenmesinde PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi), VNTR (Variable Number of Tandem Repeats=Değişken Ardışık Tekrarlar), SSCP (Single Stranded Conformational Polimorfizm=Tek İplikçik Yapısal Çeşitlilik) laboratuvar yöntemleri kullanılmaktadır. Polimorfizm çalışmalarında elde edilen bulgular, hastalıklara yatkınlığın belirlenmesinde ve tedavinin yönlendirilmesinde önem taşımaktadır (Passarge and Passarge 1995). Genomda binlerce aday polimorfik genin bulunması ve genomunda bu farklılıkları taşıyan bireylerin kanser dahil bir çok hastalığın gelişimine duyarlılıklarının etkilenebileceği düşüncesi pek çok araştırmacıyı bu çalışma alanına itmiştir. Gen varyasyonlarının ırk, cinsiyet, çevre şartları (DNA yapısını etkileyen radyoaktivite, ultraviyole ışınlar, kimyasal maddeler, çevre kirliliği, serbest radikaller vs.) ve diğer faktörlerden etkilendiği bilinmektedir (Yoon et al., 2000).

### **2.8.2. Glutasyon S Transferaz Geni Polimorfik Özellikleri**

GST'lerin insanlarda 5 tipi bildirilmiştir. Bunlar alpha (A), mu (M), pi (P), theta (T) ve zeta (Z)'dir (Singh et al., 2008). Bu grupların da subtipleri bulunmaktadır. (A1-A4, M1-M5, P1, T1-T2 ve Z1) Bunlar arasında çok sayıda polimorfizm bildirilen tipler M1, M3, P1, T1, T2 ve Z1'dir (Lee et al., 2004).

GSTM1 benzopiren ve aflotoksin gibi kanserojen polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) detoksifikasyonundan sorumludur (Singh et al., 2008, Uedaa et al., 2005, Rebbeck 1997, Chen et al., 1999). GSTM1 geni 1p13.3 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır. Bu genle ilgili olarak GSTM1-a, GSTM1-b ve GSTM1-0 şeklinde üç farklı alel gösterilmiştir (Rebbeck 1997). GSTM1-0 aleli delesyonludur, null alel olarak adlandırılır ve homozigot etki gösterir (Rebbeck 1997, Sobti et al., 2006) GSTM1 null aleli enzim aktivitesi göstermez (Au 2004, Rebbeck 1997). Diğer iki alel enzim değişikliğine neden olmamaktadır (Rebbeck 1997). GSTM1 null alellinde sitogenetik hasar gözükmemektedir (Singh et al., 2008).

GSTT1 1,3 butadien, monohalometanları, etilen oksit gibi sigara içimi sonucu ortaya çıkan ve havada bulunan çevresel çok sayıda potansiyel kanserojenlerin detoksifikasyonunda rol oynar (Singh et al., 2008, Sobti et al., 2006). GSTT1 geni

22q11.2 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır. Bu genle ilgili GSTT1-1 ve GSTT1-0 iki alel gösterilmiştir. GSTT1-0 aleli delesyonludur ve null alel olarak adlandırılır ve homozigot etki gösterir. GSTT1 null alelinde enzim aktivitesi görülmez (Rebbeck 1997). GSTM1 ve GSTT1 aktivitesinin yokluğu (null alel) bu genlerin homozigot olarak delesyona uğramasından kaynaklanmaktadır. GSTT1 null alelinde sitogenetik hasar gözükmemektedir (Singh et al., 2008).

GSTP1 geni 11q13,1 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır (Jee et al., 2002). GSTP1 üç genotip halinde bulunmakta olup bunlar GSTP1 Ile105Ile (Ile/Ile)(AA), GSTP1 Ile105Val (Ile/Val)(AG), GSTP1 Val105Val (Val/Val)(GG)'dir. GSTP1 Ile/Ile bireylerde normal enzim fonksiyonu için bulunması gereken doğal genotiptir. GSTP1 gen polimorfizminde 105. pozisyondaki aminoasitte isoleüsin yerine valin aminoasidinin değişimi söz konusu olursa (GSTP1 Ile/Val veya GSTP1 Val/Val) GSTP1 enzim aktivitesi etkilenir (Sobti et al., 2006, Jee et al., 2002). GSTP1 Ile/Val (AG) heterozigot, GSTP1 Val/Val (GG) homozigot polimorfik genotipleri oluşturmaktadır.

Bireyler arasında görülen bazı kanser türlerine yatkınlığın artması veya azalmasının temelinde yatan nedenin ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimlerin gösterdiği genetik polimorfizmin olabileceği ileri sürülmüştür (Malats et al., 2000, Kim et al., 2000, Reszka et al., 2006) Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda kanser riski ile ksenobiyotik metabolizma enzim polimorfizmleri arasında önemli ilişkiler gösterilmiş ve tüm bulgular kanser etyolojisinde genetiğin rolünü vurgulamıştır (Reszka et al., 2006).

GST gen polimorfizmleri akciğer, karaciğer, mesane, meme, kolorektal, mide, larinks ve cilt kanseri gibi bir çok kanserde risk faktörü olarak araştırılmıştır (Lee et al., 2004). GSTM1 ve GSTT1 null alellerinin (non fonksiyonel) mesane ve akciğer kanseri için artmış riskle birlikte olduğu bildirilmiştir (Kim et al., 2000, Lee et al., 2004). Serviks kanseri riski ile GST gen polimorfizmlerini de araştıran çok sayıda çalışma vardır (Joseph et al., 2006, Singh et al., 2008).

Son zamanlarda serviks kanseri için birkaç aday belirteç tanımlanmaktadır. Bu belirteçler özellikle daha sık serviks kanseri taraması yapılan yüksek riskli kadınlarda kullanılabilir. Bu belirteçler GST ve p53'dür (Uedaa et al., 2005).

GST'ler sigara tütününde bulunan kanserojenlerin (monohalometanlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, etilen oksit) detoksifikasyonunda önemli rol oynarlar. GST gen delesyonunda GST aktivite yokluğuna bağlı sigara içimi sonucu ortaya çıkan kanserojenler detoksifiye edilemez ve bunun sonucunda akciğer, serviks ve diğer sigaraya bağlı kanserlerde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Singh et al., 2008, Ueda et al., 2005 ).

### **2.8.3. Glutasyon S-Transferaz Enzim Gen Polirfizimleri ve Kardiyovasküler Hastalıklar**

Dünyada ölüm sebepleri arasında kardiyovasküler hastalıklar hala ilk sırada yer almaktadır (<http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-36617/h/d-6-obezite-ve-kardiyovaskueler.pdf>). Kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde çevresel ve genetik faktörler birlikte rol oynamaktadır (Delles et al., 2008). Kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkışında etkili olabileceği öne sürülen genetik değişimlerden birisi de son yıllarda sıkça literatüre edilen Glutasyon S-Transferaz (GST) ailesidir. GST ailesi pek çok genden oluşmuş olup insanlarda bunların 5 tanesi tanımlanmıştır. GST'lerin; M, T ve P sınıflarındaki polimorfizimler pek çok hastalıkta değerlendirilmiş ve ilişkileri açıklanmıştır. Özellikle kanser, kardiyolojik hastalıklar, dermatolojik hastalıklar ve çevresel bir ksenobiyotiğin etkisi ile oluşabileceği düşünülen hastalıklarda GST sıkça taranmıştır (Hsu et al., 2011).

Kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynayan, çok sayıda risk faktörü tanımlanmıştır ancak; herhangi bir hastada, bilinen bu risk faktörlerinin titizlikle kontrol altına alınmasının, hastalığın iyileşmesini sağlayamaması ya da ilerlemesini önleyememesi, bu risk faktörlerinin, kardiyovasküler hastalık insidansının yüksek olmasının tek sorumlusu olmadığını göstermektedir. Kardiyovasküler hastalıkların risk faktörleri arasında; genetik, yaş, aile hikayesi, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, düşük HDL kolesterol, diyabet, obezite, stres, fiziksel aktivitenin az olması, menopoz, sigara ve alkol tüketimi ile ksenobiyotik maruziyeti sayılmaktadır (Delles et al., 2008, Sing et al., 1996, De Flora et al., 1997, Martinet et al., 2002, Masetti et al., 2003). GST genlerinin bu risk faktörlerinden; hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara, alkol, ksenobiyotikler ve kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda etkili genler olduğu literatürler ile ifade edilmektedir.

Hipertansiyonun patomekanizmasında; çok farklı yolların etkili olduğu bilinmektedir. Başlıca; elektrolit dengesinin sağlanmasında görevli genlerdeki defektler (Tobin et al., 2008, Newhouse et al., 2005, Tobin et al., 2005, Sayed-Tabatabaei et al., 2006, Staessen and Bianchi 2005), vasküler yapı ve fonksiyonda görevli genlerdeki defektler (Graham et al., 2007) ile oksidatif stres ile alakalı genlerdeki defektler hipertansiyonu etkileyebilmektedir. Bilindiği gibi GST'ler endojen ve eksojen kaynaklı bazı bileşikleri detoksifiye etmektedir. GST enzimlerinden özellikle GSTM sınıfı, serbest radikallerin detoksifikasyonunda görevlidir. M sınıfı genler oksidatif strese karşı koruyucudur ve azalan GSTM1 ekspresyonunun hipertansiyon ile bağlantılı olduğu literatürlerde ifade edilmiştir (Aitman et al., 2008, McBride et al., 2003, McBride et al., 2005). GST enzimleri vasküler düz kas hücreleri ve endotel hücreleri gibi farklı orjinli hücre tiplerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. (Kerr et al. 1999, Hamilton et al., 2001, Miller et al., 2003). Farklı çalışmalar GST M1 ve T1 genlerinin farklı bulunuş durumlarının hipertansiyon ile etkisini farklı değerlendirmişlerdir. Marinho ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada GSTT1 delesyonunun hipertansiyon için koruyucu bir faktör olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmada GSTM1 genotip frekansı ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak GST M1/T1 null genotip frekansı hipertansiyonlu grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür (% 19 karşın % 78). Çalışmada ayrıca GST M1/T1 non-null genotipli bireylerin hipertansiyon hastalığı için aday olduğu, her iki genin de null delesyonlu olması durumunun da kardiyovasküler hastalık gelişimi için koruyucu bir mutasyon olduğu gözlemlenmiştir (Marinho et al., 2007).

Saadat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; sülfür bileşikleri içeren doğal kaynak gazlarına maruz kalan bireylerin kan basıncını düzenlenmesinde GST T1 ve M1 gen polimorfizmlerinin etkisine bakılmıştır. Farklı genotipik kombinasyonlarda kan basınçlarının değişiklik gösterdiği görülen çalışmada; GSTM1 null ve GSTT1 pozitif bireylerde sistolik kan basıncı anlamlı olarak azalmıştır ve GSTM1 pozitif ve GSTT1 null bireylerde ise diastolik kan basıncı anlamlı olarak artmıştır. Sonuçlar; GST'lerin polimorfizm değişikliklerinin, sülfür içeren doğal gazlara maruz kalan bireylerde kan basıncının düzenlenmesinde fizyolojik rol oynadığını düşündürmüştür (Saadat et al., 2004).

Hipertansiyon ve GST ilişkisini gösterir bir diğer çalışma Capoluongo ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Çalışmada GSTM1-null genotipli bireylerin anlamlı olarak hipertansiyon açısından yüksek riskli grupta olduğu görülmüştür. Çalışmada vaka grubu ve kontrol grubu arasındaki bireylerin; sigara içme (polisiklik aromatik hidrokarbonların detoksifikasyon farkının olmaması), alkol alma durumu ve böbrek fonksiyonları açısından (benzer üre, kreatinin değerleri) bir farkın olmaması, bu durumları hipertansiyonun sebebi olmanın dışında tutar. Çalışma kan basıncının etkilenmesinde en olası sebebin GST'ların antioksidan aktivitesi olduğunu ifade etmektedir (Capoluongo et al., 2009).

Kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda etkili bir diğer durum olan kolesterol ve trigliserid seviyeleri ile GST enzim gen polimorfizmleri ve enzim seviyeleri arasındaki bağlantı literatürlerde belirtilmiştir (Gannage-Yared et al., 1998, Macial et al., 2009). Gannage-Yared ve arkadaşlarının yaptıkları eski bir çalışmada glutatyon ve Glutatyon S-Transferaz spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve lökosit glutatyon ile Glutatyon S-Transferaz enzim miktarının kan kolesterol seviyesinin cinsiyet ve vücut kitle endeksine göre anlamlı olacak şekilde artmış olduğu gözlenmiştir (Gannage-Yared et al., 1998).

Maciel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada GST polimorfizmi ile trigliserid ve HDL kolesterol arasında bağlantının olduğu ifade edilmiştir (Macial et al., 2009). İki farklı çalışma grubu olarak; genel populasyondan 1577 birey ve koroner anjiyografi yapılmış 871 birey alınmıştır. Çalışmada trigliserid (TG), HDL-kolesterol ve trigliserid/HDL oranının genel populasyondaki GSTM1, T1 null genotip (double deleted genotip) ile anlamlı olarak bağlantılı olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, ilk çalışma grubundan bağımsız, koroner anjiyografi yapılmış ikinci bir populasyon ile teyid edilmiştir. Ayrıca koroner arter hastalığı çeşitlerinin de GST genotipi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. İlgili literatür GSTM1, T1 genleri null delesyon varlığının hipertrigliseridemi ve düşük HDL-kolesterol seviyesi ile bağlantılı olduğunu ifade etmektedir. Bu bulgular ışığında lipit metabolizması ve GST dengesi arasında bir bağlantı olabileceği düşünülmüş ve şu şekilde açıklanmıştır: GST'ların Peroxisome Proliferator Activated receptor (PPAR)'ın önleyici etkisinin olduğu reverse kolesterol transport sistemi ile bağlantılı olabileceği düşünülmüştür. Moleküler Biyoloji alanında PPAR'lar bir grup nükleer protein olarak

tanımlanmaktadır. PPAR'ların gen ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri gibi görev yaptığı bulunmuştur. Hücre farklılaşması ve gelişmesinin düzenlenmesinde, karbonhidrat, protein ve lipit metabolizmasında ve ayrıca tümör oluşumunda temel rolleri tespit edilmiştir. Retinoid X Receptor (RXR), PPAR ile dimerize olup DNA üzerinde hedef genin uygun bölgesine bağlanarak transkripsiyonu başlatır. 15-Deoxy- $\Delta$  [12,14] prostaglandin J2 (15-d-PGJ2), prostoglandin D2 metablizmasının son ürünlerinden biridir ve biyolojik etkisi PPAR  $\gamma$ ' a aracılık etmektedir.

Çalışmalarda, 15-d-PGJ2'nin sitotoksitesi ve PPAR  $\gamma$  bağımlı transkripsiyonun aktivasyonunun azaldığı gözlenmiştir. Bu azalış 15-d-PGJ2 ve 15-d-PGJ2-SG (okside form)'nin Glutasyon konjugatları ve hücre dışına transportunu sağlayan MRP'nin ekspresyonları ile olmaktadır.

Glutasyon konjugatlarını katalizleyen sitozolik GST'lar, tek başına veya MRP1 ile kombine olduğunda 15-d-PGJ2 sitotoksitesi üzerine etkisi yoktur. Bununla birlikte 15-d-PGJ2 bağımlı transkripsiyon aktivatörü olan PPAR $\gamma$ -sorumlu hedef geni inhibe etmektedir. Bu inhibisyonun seviyesi GST ekspresyon seviyesi ile doğru orantılıdır.

PPAR aktivasyonunun engellenmesinin TG seviyesinin artmasına neden olmakta ve revers kolesterol transport sistemi ile de HDL-kolesterol seviyesinin azalması beklenmektedir (Davidson 2006).

İfade edilen çalışmada da belirtildiği gibi GST'ların her iki alelinin de olmaması (null delesyon) hipertriglisedemi ve düşük HDL-kolesterol seviyesi ile bağlantılıdır. Muhtemel ki bu bağlantı koroner arter hastalığı riskini etkileyebilmektedir.

Kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda bir diğer risk faktörü olarak sayılan diyabet de GST ile ilişkilendirilmiştir. Çin popülasyonunda Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada GSTM1, T1 ve quinone oxidoreductase 1 (NQO1) gen polimorfizmleri ile tip 2 diyabet arasında bir bağlantının olup olmadığı değerlendirilmiş ve GSTT1 pozitif bireylerde istatistik olarak anlamlı olacak şekilde GSTT1 null bireylere göre T2 diyabet riskinin 0,49 kat azaldığı bulunmuştur. Buradan hareket ile GSTT1 geninin çin popülasyonunda T2 diyabet gelişiminde aday bir gen olabileceği değerlendirilmiştir (Wang et al., 2006).



Daha önce tanımlanmış çalışmalarda GSTM1 ve T1 gen polimorfizmleri ile koroner arter hastalığı olasılığı arasında bağlantılar tanımlanmıştır (Masetti et al., 2003, Abu-Amero et al., 2006, Manfredi et al., 2007, Tamer ve ark., 2004).

Kardiyovasküler hastalıkların risk faktörleri arasında sayılan yukarıdaki etmenlerin her biri gerek münferit olarak gerekse kombine olarak GST genlerinin polimorfizmlerinden etkilenmektedir. Sonuç olarak söyleyebiliriz ki; gerek bu risk faktörleri üzerinden gerekse direk olarak kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda GST genlerinin polimorfizmlerinin etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Çalışmaya Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Şevket Demirel Kalp Merkezi Hemodinami ve Anjiyografi Laboratuvarı'nda, 2009–2011 tarihleri arasında stabil angina pectoris ve atipik göğüs ağrısı ile müracaat eden ve efor testi pozitif çıkması üzerine koroner anjiyografisi yapılan ve KAE tanısı almış hastalar ardışık olarak alındı. Çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Tüm hastalar çalışma öncesi bilgilendirilmiş, çalışmaya dahil olduklarını kabul etmişlerdir. Hastaların yaş grubu 40-70 arası olup en az bir damarın iki segmentinde ektazi saptanan hastalar alınmıştır. Hastalarla yaş ve cinsiyet açısından uyumlu, koroner arterleri normal olan hastalardan kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışmada herbisit maruziyetinin göstergesi olarak; tarımla uğraşmak ve haftada en az 2 kez ilaçlama yapmış olmak şartları dikkate alındı.

Çalışmanın dışlama kriterleri olarak; sistemik hastalığı olanlar, nefropatili hastalar (kreatin > 1,8mg/dl), herhangi bir kronik inflamatuvar-otoimmün hastalığı bulunan hastalar, aşırı alkol alımı, tıbbi tedavi gerektiren psikiyatrik hastalığı bulunanlar, kognitif fonksiyonları bozuk olan hastalar, sol ventrikül hipertrofisi olanlar (İnterventriküler septum >12mm ve sol ventrikül arka duvar >12mm), orta-ciddi kapak hastalığı olanlar, hipertirodi veya hipotiroidisi olanlar, kronik karaciğer hastalığı olanlar, KAE ile birlikte % 50 ve üzerinde tıkaçıcı koroner lezyonu olan hastalar, diyabetes mellitus hastalığı olanlar, anemisi olanlar, akut koroner sendrom hastaları şeklinde belirlenmiştir.

Vaka ve kontrol grubundaki bireylerden DNA izolasyonu için 3 ml venöz kan % 2'lik EDTA içeren, 5 ml'lik hemogram tüplerine alındı. DNA izolasyonuna kadar +4 °C buzdolabında saklandı. Ayrıca 68 I.U. Liquemine Heparine içeren steril 4 ml'lik tüplere kan kültürü için kan alındı. Biyokimyasal analiz için EDTA içeren tüplerden birisi santrifüjlenerek serum kısmı ayrıldı.

## **3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler**

### **3.2.1. Kullanılan Cihazlar**

- Mikropipet Seti (Eppendorf Research 10, 100, 1000, 5000, Almanya)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich Universal 32 R, Hettich Universal 320, Almanya)
- UV spektrofotometre (Shimadzu UV 1700, Japan)
- Mikrosantrifüj (Heraus Biofuge D-37520, Germany)
- Otoklav (Hirayama HVE-50 Japan)
- Etüv (Binder, Türkiye)
- Buzdolabı (Arçelik-8188 NF, Türkiye)
- Derin Dondurucu (Beko 8460 T, Türkiye)
- Kar Makinası (Hoshizaki FM-120EE, EU)
- Bidistile Su Cihazı (Millipore Simlicity 185, France)
- Su Banyosu (Termal Labaratuvar Aletleri 820-3, Türkiye)
- Laminar Hava Kabini (ESCO, Türkiye)
- Ph Metre (Hanna HI 9321 Microprocessor, Portugal)
- Vorteks (Nüve NM 110, Türkiye)
- Termal Cycler (Peqlab Primus 96, Germany)
- Hassas Terazı (Shimadzu AX200, Japan)
- Mikrodalga Fırın (Beko MD 1505, China)
- Manyetik Karıştırıcı (IKA RH-KT/C, Brazil)
- Elektroforez Tankı (Scie-plas V-GEL, UK)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Consort EV215, Belgium)
- Transsilüminatör (Ultra Lum. Inc., Türkiye)

### **3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

- Tris-Hidroklorid (Sigma T-7149)
- Sodyum Klorür (Riedel-de Haen)
- EDTA (Sigma E-5134)
- Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- Tris Base (Sigma T-6066)
- Borik Asit (Carlo Erba 302177)

- Agaroz (Prona Agarose Plus, E.U)
- Etidyum Bromid (Sigma E-1510)
- Wizard Genomic DNA purification Kit (Promega A1125)
- Orange G (Sigma O-3756)
- Gliserol (Merck 4091)
- Taq DNA Polimeraz (Promega M2665)
- NgoM IV (Promega R7171)
- dNTP Mix (Promega U1515)
- 10xPCR Buffer (Fermantes EP0402)
- Bidistile Su (Sigma W-3500)
- DMSO (Sigma D8418)
- Acetic Acid (Glacial) (Merck 100063)
- Methanol (Merck 106009)
- RPMI 1640 Medium (Bio.Ind. BI01-106-1B)
- Fetal Calf Serum (Bio.Ind. BI04-001-1B)
- Fitohemaglutinin (Bio.Ind. BI12-006-1H)
- 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (Sigma C-6396)
- Glutathione (Reduced solution) (Sigma G-4251)
- Ethylenediaminetetraacetic acid (Sigma ED4S)
- Potassium phosphate monobasic anhydrous (Sigma P5379)
- 5 Buromo-2-deoxyuridine (Sigma B-5002)
- Bisbenzimid (Hoechst 33258) (Sigma B-2261)
- Potasyum Klorür (Merck, 104936)
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck, 104873)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck, 106586)
- GSTT1 için;
- Forward Primer: 5'- TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC -3'
- Reverse Primer: 5'- TCACCGGATCATGGCCAGCA -3'(0.2 umol)
- GSTM1 için;
- Forward primer: 5'- GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC -3'
- Reverse primer: 5'- GTTGGGCTCAAATATACGGTG G -3' (0.2 umol)
- GSTP1 için;

- Forward primer: 5'- ACCCCAGGGCTCTATGGGAA-3'
- Reverse primer: 5'- TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3' (0.2 umol)
- BsmAI kesim enzimi
- DNA marker (100 bp DNA marker)

### **3.2.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler**

#### **3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler**

DNA izolasyonu için Promega A1125 Genomik DNA pürifikasyon hazır kiti kullanılmıştır. Vaka ve kontrollerden oluşan çalışma kanları; cell lysis solution, nuclei lysis solution, protein precipitation solution, RNase solution ve DNA rehydration solution içeren hazır kit yardımıyla izopropanol ve etanol de kullanarak izolasyona tabi tutulmuştur.

#### **3.2.3.2. PCR İçin Kullanılan Çözeltiler**

PCR için ticari olarak elde edilen Promega PCR amplifikasyon seti kullanılmıştır. Set içerisinde dNTP mix için dATP, dGTP, dCTP, dTTP deoksिनükleotid trifosfatları, MgCl<sub>2</sub>, PCR buffer ve Taq DNA polimeraz bulunmaktadır.

#### **3.2.3.3. Elektroforez İçin Kullanılan Çözeltiler**

##### **• 10xTBE (Tris-Borat-EDTA)**

- Tris Base 10.8 gr
- Borik Asit 54.8 gr
- Na<sub>2</sub>EDTA 5.44 g

Distile su ile 1 litreye tamamlanarak çözüldü. 120 °C'de, 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

• **Elektroforez Yürütme Tamponu:** 10xTBE Buffer'den distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1xTBE içerisine 0.5 µg/ml konsantrasyonunda etidyum bromid konulduktan sonra karıştırıldı.

• **Agaroz Jel Çözeltisi (% 3'lük):** 140 ml 1xTBE Buffer içerisine 4,2 gr agaroz bırakılıp mikrodalga fırında 4 dakika süren eritme işlemi gerçekleştirildikten sonra konsantrasyonu 0.5 µg/ml olacak şekilde etidyum bromid eklendi.

#### • Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

- % 0,25 bromfenol mavisi
- % 30 gliserol olacak şekilde steril su ile 10 ml hazırlandı.

### 3.3. Yapılan İşlemler

#### 3.3.1. DNA'nın izolasyonu

Genetik materyal DNA'nın tezin metodunda (Restriction Fragment Length Polymorphism: RFLP) kullanılmak üzere izole edilmesi gerekmektedir.

Çalışmamız kapsamında DNA izolasyonu için Promega hazır kiti kullanılmıştır. Bunun için kit içinde verilen izolasyon klavuzu laboratuvarımız koşullarına modifiye edilerek kullanılmıştır. Yöntemin esası, eritrositlerin ve lökositlerin parçalanması, kalan lökosit nükleuslarının nükleolizis buffer ile parçalanması ve protein yapıların Protein Precipitation solüsyonu ile çöktürülüp, üstte kalan sıvı kısmında bulunan DNA'nın alkol çeşitleri yardımı ile yoğunlaşması sağlanarak izole edilmesidir. İzolasyonun metodu Promega izolasyon kiti üretici firmasının tavsiye ettiği şekilde, laboratuvar ortamımıza uygun küçük manipülasyonlar yapılarak oluşturulmuştur.

#### DNA İzolasyonunun Yapılışı

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden DNA izolasyonu için 3 ml venöz kan alınıp içinde EDTA bulunan 5 ml'lik polipropilen santrifüj tüplerine konuldu, +4°C'de saklandı. İşlem basamakları aşağıdaki sıra ile takip edilmiştir.

1. 1,5 ml'lik deney tüpüne 900 µl cell lysis solüsyonu konulur.
2. 300 µl alt-üst edilmiş kandan cell lysis üzerine konur ve alt üst edilir. 10 dakika oda ısısında bekletilir ve eritrositlerin parçalanması sağlanır.
3. 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilen kanların alt kısmındaki beyaz kan hücrelerinin ve çekirdeklerin olduğu kısma zarar vermeden üst kısım uzaklaştırılır.
4. Dipteki beyaz kitlenin iyice dağılmasını sağladıktan sonra 350 µl nucleï lysis solüsyonu eklenir ve pipetaj yapılır.

5. Visköz bir yapı kazanan karışım 1 saat 37 °C'de tutulur ve genetik materyalin açığa çıkması sağlanır.

6. Karışım içine 1,5 µl RNaz eklenir ve tüpün hafifçe karışması sağlanır, 15 dakika beklenir.

7. Nükleer lizatın üzerine 120 µl protein precipitation solüsyonu eklenir ve vortekslenir. Bu aşamada protein yapıların kümeleşip çökmesi beklenmektedir.

8. 13.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilen tüplerin dip kısmında proteinler yüzeyde ise DNA içerdiğini düşündüğümüz solüsyon bulunmaktadır.

9. Bu kısım alınarak içinde izopropanol bulunan ayrı bir tüpe aktarılır ve alt-üst edilerek DNA'nın görünür olması sağlanır.

10. 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilen DNA üzerindeki izopropanol boşaltılır.

11. DNA üzerine 300 µl % 70'lik etanol eklenir ve tüp alt-üst edilir.

12. 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilen DNA üzerindeki etanol de boşaltılır. 10-20 dakika alkolün uçması sağlanır.

13. Son olarak DNA üzerine DNA rehidration solüsyonu eklenir ve DNA sulandırılarak uzun süre -20 °C'de saklanır.

Kısa süre sonraki çalışmalar için +4°C'deki buzdolabında tutulan kanlarda moleküler analiz işlemine geçildi.

### **3.3.2. Moleküler Analiz**

#### **3.3.2.1. PCR İşlemi**

Çalışmamızda GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmleri için multipleks PCR yöntemi kullanılmıştır. GST'ler; glutatyon (GSH) ile ksenobiyotiklerin reaksiyonlarını katalizleyen enzimler olup, ksenobiyotik metabolizmasında görevlidirler. GSTM1 1p13.3 gen bölgesinde, GSTT1 22qter bölgede lokalize olup, bu genlerin her iki kopyasında da delesyon varsa null alel olarak değerlendirilir ve bu durumda elektrofilik karsinojenlerin detoksifiye edecek olan GST aktivitesi azalır ya da hiç saptanamaz. Genomik DNA spesifik primerler kullanılarak amplifiye edilecektir. Amplifikasyon için aşağıda verilen primer çiftleri kullanılacaktır.

GSTT1 için;

Forward primer: 5'- TT CCT TAC TGG TCC TCA CAT CTC -3'

Reverse primer: 5'- TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA -3'

GSTM1 için;

Forward primer: 5'- GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C -3'

Reverse primer: 5'- GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G -3' (Girisha et al., 2004, Abu Amero et al., 2006)

Spesifik primerler kullanılarak GSTM1 için 219 bp ve GSTT1 için 459 bp PCR ürünü elde edilmiştir. Bir örnek için PCR ortamında kullanılan malzeme ve miktarları şu şekildedir:

- Bidistile Su ..... 13 µl
- 10xPCR Buffer (NH<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)) ..... 3 µl
- 2 mM dNTP mix..... 2 µl
- Primer (Forward) ..... 1 µl
- Primer (Reverse)..... 1 µl
- MgCl<sub>2</sub> ..... 2 µl
- Taq DNA polimeraz ..... 0,2 µl

Çalışılacak örnek sayısına göre miktarlar hesaplandıktan sonra steril ependorf tüpe yukarıdaki sıra ile malzemeler bırakıldı. Karışım vortekslendikten sonra her bireye ait protokol numarasını içeren, 0.2 ml'lik steril ependorf tüplere eşit miktarlarda dağıtıldı. Her tüpe ait olduğu bireyin DNA'sından 4'er µl eklendi. Ependorf tüpleri thermal cyler cihazına yerleştirildi. En iyi sonuç alınan thermal cyler koşulları aşağıdaki şekildedir:



**Tablo 3:** GSTM1 olası polimorfizm bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları.

Initialization step (İlk denatürasyon)	95 °C	5 dakika	
Denaturation step (Denatürasyon)	95 °C	1 dakika	35 döngü
Annealing step (Primer Bağlanması)	57 °C	1 dakika	
Extension step (Sentez, uzama)	72 °C	1 dakika	
Final elongation (Son uzama)	72 °C	7 dakika	

**Tablo 4:** GSTT1 olası polimorfizm bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları.

Initialization step (İlk denatürasyon)	95 °C	5 dakika	
Denaturation step (Denatürasyon)	95 °C	1 dakika	35 döngü
Annealing step (Primer Bağlanması)	57 °C	1 dakika	
Extension step (Sentez, uzama)	72 °C	1 dakika	
Final elongation (Son uzama)	72 °C	7 dakika	

PCR reaksiyonu bittikten sonra ependorf tüpleri thermal cyclerden çıkarıldı. Ve elektroforeze tabi tutuldu.

GSTP1 için çalışmalarda özellikle iki polimorfik bölge üzerinde durulmaktadır. Bunlardan birisi ekson 5 diğeri ekson 6 üzerinde yer almaktadır. Biz çalışmamızda GSTP1 ekson 5 üzerindeki Ile105Val polimorfizmini taradık. İlgili polimorfizm PCR ve RFLP metodları kullanılarak saptanmıştır (Ryberg et al., 1997 Park ve ark. 1999). Ile105Val polimorfizmini taramak için aşağıdaki primer çifti kullanılmıştır.

Forward primer: 5'- ACCCCAGGGCTCTATGGGAA-3'

Reverse primer: 5'- TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3' (0.2 umol)

GSTP1 için;

İlgili primerler ile amplifikasyon sonucunda 176 bp'lik bir ürün oluşmaktadır. Amplifikasyon esnasında aşağıdaki PCR bileşimi kullanılmıştır.

- Bidistile Su ..... 13 µl
- 10xPCR Buffer (NH<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>))..... 3 µl
- 2 mM dNTP mix..... 2 µl
- Primer (Forward) ..... 1 µl
- Primer (Reverse)..... 1 µl
- MgCl<sub>2</sub> ..... 2 µl
- Taq DNA polimeraz ..... 0,2 µl

**Tablo 5:** GSTP1 olası polimorfizm bölgesi PCR reaksiyonu için termal profil şartları.

Initialization step (İlk denatürasyon)	95 °C	2 dakika	
Denaturation step Denatürasyon	94 °C	30 saniye	40 döngü
Annealing step (Primer Bağlanması)	58 °C	30 saniye	
Extension step (Sentez, uzama)	72 °C	30 saniye	
Final elongation (Son uzama)	72 °C	7 Dakika	

### 3.3.2.2. Kesim İşlemi

GST M1 ve T1 enzimleri için herhangi bir kesim enzimi kullanmaksızın sadece bu enzimlerin amplifikasyon ürünlerinin var olup olmasına göre enzim aktivitesi hakkında yorum yapılmaktadır. GSTP1 enzimi için ise BsmAI kesim enzimi kullanılmaktadır.

PCR ürünü BsmAI kesim enzimi ile overnight kesime maruz bırakıldıktan sonra kesim ürünleri elektroforeze tabi tutuldu. Kesim sonucunda 176 bp'lik ampikon ya kesime uğramamakta ya kesime uğrayıp 93 ve 83 bp'lik iki ürün oluşturmakta ya da hem kesilen hem de kesilmeyen ürünler elektroforezde gözlenmektedir.

Buna göre genotipin adlandırılması sırasıyla Ile/Ile, Val/Val yada Ile/Val tarzında olmaktadır.

### **3.3.3. Elektroforez İşlemi:**

Amplifiye edilen gen bölgelerinin uzunluğunu belirlemek için agaroz jel elektroforez tekniği kullanıldı. % 3'lük agaroz jel aşağıdaki prosedüre göre hazırlandı.

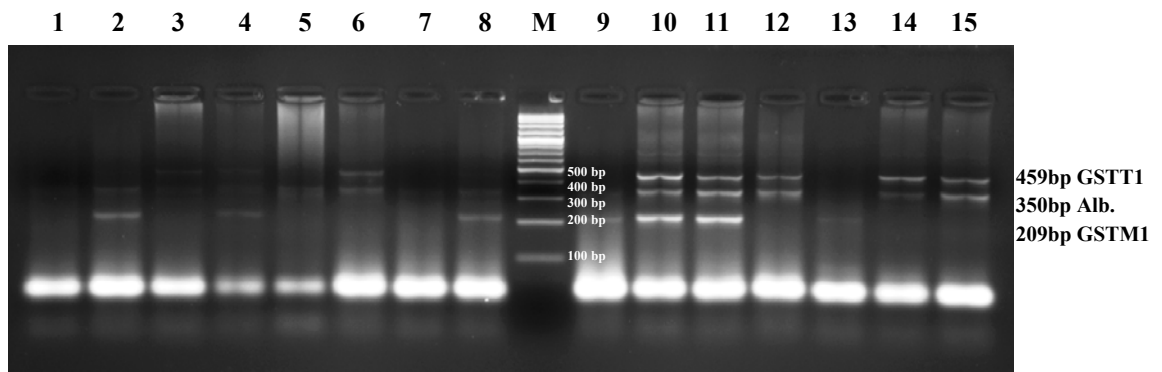
4.2 gr agaroz ve 140 ml 0,5xTBE solüsyonu erlenmayer içine konulup, mikrodalga fırında homojen hale gelmesi için 4 dk ısıtıldı. Daha sonra elektromanyetik karıştırıcıda 200 devir/dk ile yaklaşık 5 dk karıştırıldı. Karıştırma işlemi devam ederken jel içerisine 10 mg/ml'lik Etidyum Bromid 14 µl eklendi. Jel uygun ısıya düşünce tarakları takılı jel kalıbına döküldü. Jel katılaştıktan sonra elektroforez tankına yerleştirildi, elektroforez yürütme tamponu da tanka konulduktan sonra taraklar çıkarıldı. Ependorf tüplerindeki PCR ile amplifiye edilen ve ilgili kesim enzimleri ile kesilen örnekler 3 µl Orange-G ile plate üzerinde karıştırıldıktan sonra jelin kuyucuklarına örnekler sırayla bırakıldı. Kuyucuklardan birine 10 µl AluI-restricted pBR322 DNA marker bırakıldı. Elektroforez tankının kapağı kapatılarak elektroforez cihazı, güç kaynağından 100 volt akım geçecek şekilde ayarlandı ve örnekler 45-60 dakika yürütüldü.

### **3.4. Genotipleme**

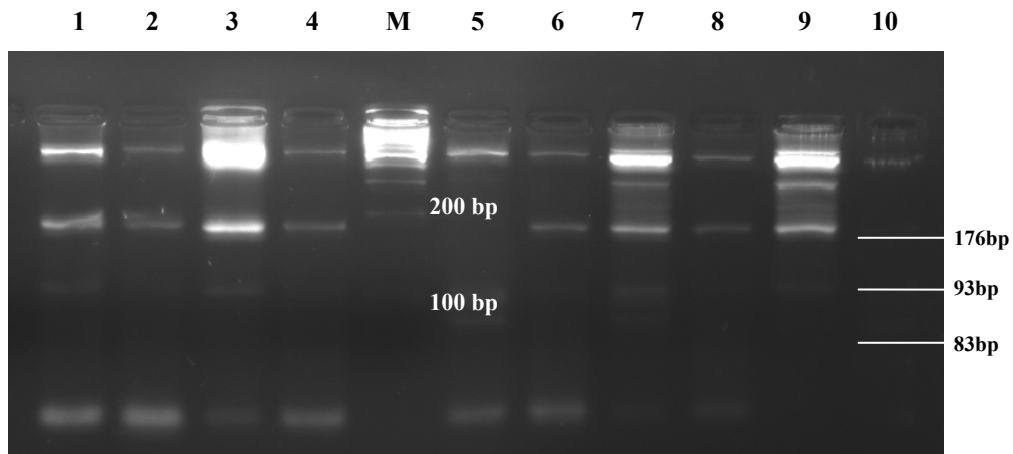
Jelin değerlendirilmesi örneklerin oluşturduğu bantlar ile marker bantları kıyaslanarak yapıldı. GSTT1 için 459 bp, GSTM1 için 209 bp büyüklüğünde iki band elde edildi (Resim 2). Bu iki bandın elektroforezde gözükmesi genotipin sağlam olduğunu yani T wild M yabancı genotipinin olduğunu gösterir. Ancak T wild M null genotipinde sadece 459 bp büyüklüğünde bir band görülür. Yine T null M wild genotipinde de tek band vardır. Ancak bandın büyüklüğü 209 bp'dir. T null M null genotipinde ise homozigot delesyon olduğundan band görülmez.

GSTP1 genotipi değerlendirilirken ise 3 ayrı genotip görülür (Resim 3). Bunlar GSTP1 Ile105Ile (Ile/Ile)(AA), GSTP1 Ile105Val (Ile/Val)(AG), GSTP1 Val105Val (Val/Val)(GG)'dir. GSTP1 Ile/Ile bireylerde normal enzim fonksiyonu

için bulunması gereken doğal genotiptir. GSTP1 gen polimorfizminde 105. pozisyondaki aminoasitte isoleüsin yerine valin aminoasidinin değişimi söz konusu olursa (GSTP1 Ile/Val veya GSTP1 Val/Val) GSTP1 enzim aktivitesi etkilenir (Sobti et al., 2006, Jee et al., 2002). GSTP1 Ile/Val (AG) heterozigot, GSTP1 Val/Val (GG) homozigot polimorfik genotipleri oluşturmaktadır. PCR ürünü kesim sonucunda 176 bp'lik ampikon ya kesime uğramamakta ya kesime uğrayıp 93 ve 83 bp'lik iki ürün oluşturmakta ya da hem kesilen hem de kesilmeyen ürünler elektroforezde gözlenmektedir. Buna göre genotipin adlandırılması sırasıyla Ile/Ile, Val/Val yada Ile/Val tarzında olmaktadır.



**Resim 2:** GSTM1, T1 genleri jel elektroforezi görüntüleri (459 bp; GSTT1, 350 bp; Albumin (internal kontrol), 209 bp; GSTM1 genlerini temsil etmektedir. 2, 8, 9, 13 nolu örnekler GSTM1 pozitif, GSTT1 null delesyonlu, 6, 12, 14, 15 nolu örnekler GSTT1 pozitif GSTM1 null delesyonlu, 10, 11 GSTM1,T1 pozitif, 7 nolu örnek ise GSTM1, T1 null delesyonlu bireyleri göstermektedir).



**Resim 3.** GSTP1 geni jel elektroforezi görüntüsü (GSTP1 Ile105Ile yabanıl tip; (Ile/Ile) (AA) (176 bp), GSTP1 Ile105Val heterozigot; (Ile/Val) (AG) (176, 93, 83 bp), GSTP1 Val105Val homozigot mutant; (Val/Val) (GG) (83, 93 bp)'dir. 7, 9 nolu örnekler heterozigot, 2, 4, 6, 8 yabanıl tip normal, 5 nolu örnek homozigot mutant bireyi göstermektedir).

### 3.5. Sitogenetik Analiz

Sitogenetik analiz yapabilmek için öncelikle 68 I.U. Liquemine Heparin içeren tüplere periferik kan alınır. Alınan kanların 24 saat içinde kültür ortamına ekimi yapılmalıdır. Ekilen kanlar yaklaşık 72 saat kültür ortamında tutulduktan sonra hervest işlemine tabi tutulur. Lam üzerine aktarılan kromozomlar ilgili boyama prosedürleri ile boyandıktan sonra mikroskopik değerlendirme yapılır (Moorhead et al., 1960).

#### 3.5.1. Sitogenetik Değerlendirme Esnasında Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

##### Zenginleştirilmiş Besiyeri:

- RPMI 1640 Medium (Biological Industries, BIO1-106-1B ) 100 ml
  - Fetal Calf Serum (Biological Industries, BIO4-001-1B ) 20 ml
  - Phytohaemagglutinin Solüsyon (Biological Industries, BIO12-006-1H, PHA, 5 cc Apirojen su ile sulandırılır 2,5 ml
  - Penisilin / Streptomisin (Biological Industries, BIO3-031-1B ) 1 ml
  - L- Glutamin (Biological Industries, BIO3-020-1B) 2 ml
- Hazırlanan karışımın pH değeri bakıldığında yaklaşık 7,1 olduğu görüldü.

##### 5 Bromo deoksiüridin (5-BrdU):

Timinin analogu olan 5-BrdU kültür ortamına kültürün hemen başlangıcında konulabildiği gibi 24 veya 48. saatlerde de konulabilmektedir. Hatta bazı kaynaklarda Colcemid eklenmeden 5-7 önce de eklenebileceği ifade edilmektedir (Benn and Tantravahi 2005).  $10^{-2}$  M stok 5-BrdU hazırlamak için 30.7 mg BrdU 10 ml distile su içerisinde çözülür. Mikropor filtre ile sterilize edilen BrdU solüsyonu ışıktan korunarak saklanır.

##### Hipotonik Solüsyon:

0.075 M KCl (Merck, 104936) olacak şekilde 0.56 gr KCl tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü, kullanılacağı saatten en az 1 saat önce hazırlanarak 37 °C'lik etüve konuldu.

**Fiksatif Solüsyonu:**

1 birim glisial asetik asit (Merck, 100056) üzerine 3 birim methanol (Merck, 106008) ilave edilerek iyice karıştırıldı. Karışım kullanılmadan önce ve çalışma aralarında -20 °C’de saklandı.

Her deney aşamasında taze olarak hazırlandı. Bu solüsyonun taze olması içindeki alkolün uçuculuğu açısından önemlidir.

**PBS (Phosphate Buffer Saline) Solüsyonları:**

1 PBS tableti (Amresco, AIE404-100) 100 ml bidistile suda çözüldü. İkinci PBS solüsyonu yine 100 ml’de 1 PBS çözümlenerek hazırlanır. Ancak bu solüsyon işlem öncesinde soğuk olmalıdır.

**Söranson Tamponu:**

*A solüsyonu:* 4.537 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck, 104873) 500 ml bidistile suda çözüldü.

*B solüsyonu:* 5.935 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck, 106586) 500 ml bidistile suda çözüldü.

Balon jöjeye A solüsyonundan alınarak pH 6.8’e gelinceye kadar B solüsyonu eklenerek 2 solüsyon karıştırıldı (Ortalama olarak 53 ml A solüsyonu 47 ml B solüsyonu ile karıştırılarak hazırlanır).

**Giemsa Boya Solüsyonu:**

3 ml Giemsa lösing (Merck, 109204), 97 ml pH 6.8’lik söranson tamponu içine ilave edilerek 100 ml’ye tamamlandı.

**Stok Hoechst 33258 Solüsyonu:**

0,005 gr Hoechst 1 ml PBS veya distile su içinde çözümlenerek stok solüsyon hazırlanır.

**Hoechst Çalışma Solüsyonu:**

Stok Hoechst 1/100 oranında PBS ile dilue edilmek suretiyle çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

### **2XSSC Solüsyonu:**

1,750 gr NaCl ve 0,882 gr  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  100 ml ds içinde çözülür.

### **MacIlvaine Buffer:**

0,2 M sitrik asit ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) ve 0.2 M disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 8/92 oranında birleştirilerek 100 ml pH'ı 7,5 olan buffer hazırlanır.

### **3.5.2. Hücrelerin Kültüre Edilmesi ve Kromozomların Eldesi**

**a)** Steril tek kullanımlık 5 ml'lik enjektör heparinize (Liquemine Roche) edilmek suretiyle yada 68 I.U. LH içeren vakumlu tüpler kullanılarak her olgudan 3-4 ml periferik kan alındı. Alınan kanlar, ağzı kapaklı steril besi ortamına alınan 6'şar ml zenginleştirilmiş besiyeri üzerine 8-10 damla (0,4-0,6 ml) olacak şekilde ekilir. Tüpler hafifçe karıştırıldıktan sonra her tüpün üzerine olgunun adı, soyadı, besi ortamının cinsi ve tarih not edildi. Çalışmamız esnasında hastalarımıza SCE için 1-2 tüpe ekimler yaptık. Daha sonra bu tüpler ağızları sıkıca kapatılarak 37 °C'lik etüve kaldırılarak 72 saat kültüre edildi.

**b)** Kültür süresinin dolmasına 2 saat kala kültür ortamına 10 µg/ml olacak şekilde kolşisin eklenerek hücreler metafaz evresinde durdurulur. Tüpler 72. saatte 1200 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek (Hettich, universal 32R) üst kısımdaki besiyeri dipteki hücrelere zarar vermeksizin ortamdan uzaklaştırılır.

**c)** Hücreler üzerine 0.075 M KCl (Merck, 104936) eklenerek 30 dakika 37 °C'lik etüvde bekletilir. Süre sonunda tüpler tekrar aynı devir ve süre santrifüjlenir ve süpernatant kısmı atılır.

**d)** Hücreler üzerine soğuk fiksatif eklenir. İlk fiksatifte en az bir saat beklenmek şartıyla 3 kez fiksatifle yıkama yapılır. Berraklaşan hücreler belirli bir yükseklikten yıkayıp soğutulmuş lam üzerine düşürülür. Lamalar 37 °C'de 3 gün yaşlandırıldıktan sonra boyama işlemine geçilir.

### **3.5.3. Preparatların Boyanması**

**a)** Preparatlar 5 dakika PBS içinde bekletilir.

**b)** 0,5 µg/ml Hoechst 33258 içinde 10 dakika karanlıkta bekletilir.

**c)** Yavaşça distile suda durulanır.

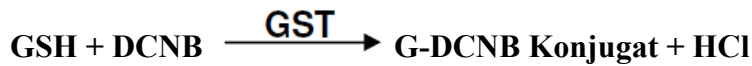
- d) MacII vaine's Buffer içinde 5 kez çalkalanır.
- e) Preratlar petri kabına yerleştirilerek üzerlerine MacII vaine buffer eklenir. 1 saat UV ışık altında bekletilir.
- f) 2xSSC içinde 5 kez çalkalanır.
- g) 2XSSC içinde 60-65 °C'de 45 dakika bekletilir.
- h) Tekrar 2xSSC içinde çalkalanır.
- i) % 5'lik Giemsa boya solüsyonu içinde 6-7 dakika boyanır.
- j) Son olarak preparatlar distile suda durlanır.
- k) Preparatlar bu şekliyle incelenebileceği gibi istenirse daha uzun kullanımlar için Entellan ile kapatılabilmektedir.

#### **3.5.4. Preparatların Mikroskopik Değerlendirilmesi**

Vaka ve kontrollerden elde edilen preparatlar 100X objektifle immersiyon yağı altında Zeiss marka mikroskop (Zeiss Imager A1, Germany) kullanılarak değerlendirildi. Canon marka dijital fotoğraf makinesi (Canon PC1049, Japan) kullanılarak fotoğrafları çekildi ve görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı. Değerlendirilen sahaların kardeş kromatid değişim sayıları belirlenerek her bir birey için en az 30 metafaz plağının değerlendirilmesi yapılmıştır.

#### **3.6. Glutatyon-S-Transferaz Enzim Aktivitesi Tayini**

GST aktivitesi tayini Habig ve arkadaşları (Habig et al., 1974) tarafından tarif edilen yöntemle yapıldı. Yöntemin esası substrat olarak 1,2 dikloro-4-nitrobenzenin (DCNB) kullanıldığı pH 8,0 ortamında glutatyon ile konjugasyonuna dayanır. Reaksiyon sonucunda G-DCNB konjugatı oluşumu, 345 nm'deki absorpsiyonda meydana gelen artış ile izlenmektedir.



#### **Yöntemin Uygulanışı**

1 ml'lik kuvarz spektrofotometre küvetine 75 µl serum, 50 µl GSH ve 600 µl fosfat tamponu ilave edildi ve 25 µl DCNB eklenerek reaksiyon başlatıldı, hemen karıştırılarak G-DCNB konjugatı absorbansındaki artış, suya karşı 3 dakika boyunca



15 saniye aralıklar ile 345 nm'de izlendi. Körün nonenzimatik reaksiyon oranını saptamak için ise küvete serum yerine fosfat tamponu konuldu ve absorbandsaki artış suya karşı 3 dakika boyunca 15 saniye aralıklar ile 345 nm'de izlendi.

### **GST Aktivitesinin Hesaplanması**

Her bir örnek için GST aktivitesi tayini, glutatyon ve DCNB arasındaki konjugasyon reaksiyonu için verilen ekstinksiyon katsayısına göre hazırlanan aşağıdaki formül ile hesaplandı. Serumun protein tayini yapılarak ve seyreltme faktörleri de dikkate alınarak spesifik aktivite U/mg protein cinsinden ifade edildi.

$$U/ml \text{ enzim} = (\Delta A_{345} \text{ nm/dk örnek} - \Delta A_{345} \text{ nm/dk kör})(0,75)(10)/0,0085 \times 0.075)$$

0,75 = Reaksiyon ortamındaki toplam hacim (ml)

10 = seyreltme faktörü

0,0085 =  $\mu$ mol ekstinksiyon katsayısı

0,075 = Enzim hacmi (ml)

### **3.7. İstatistiksel Değerlendirme**

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS sürüm 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler, Kolmogorov-Smirnov normalite testine göre incelenmiş ve normal dağıldığı gözlenmiştir. Varyansların homojen olduğu Levene testi ile belirlenmiştir. Aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma, kategorik değişkenler % olarak ifade edildi. Sürekli değişkenlerin grup karşılaştırılmasında two-tailed Student t-testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise ki-kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların Klinik Özellikleri

KAE grubunda 90 hastanın yaş ortalaması  $52 \pm 1$ (38-69), kontrol grubundaki 91 bireyin ise yaş ortalaması  $51 \pm 2$  (35-68) idi. Gruplar arasında istatistiksel yönden fark yoktu ( $p>0,05$ ). KAE grubundaki bireylerin 48'i (% 53,3) erkek, 42'si (% 46,7) kadın idi; kontrol grubundaki bireylerin 55'i (% 60,4) erkek, 36'ü (% 39,6) kadındı. Cinsiyet yönünden de gruplar arasında fark yoktu ( $p>0,05$ ) (Tablo-6a).

Tüm hastaların KAH risk faktörleri kaydedildi. Gruplar arasında yaş, cinsiyet, hipertansiyon, heredite yönünden istatistikî olarak anlamlı fark yoktu ( $P<0,05$ ) (Tablo-6a). Hastaların demografik özellikleri Tablo-6a'da özetlenmiştir.

**Tablo 6a:** Koroner arter ektazi (KAE) ve normal koroner gruplarının demografik özellikleri

	KAE (n:90)	Normal koroner (n:91)	P değeri
Yaş ortalaması (yıl)	$52,15 \pm 7,66$	$51,21 \pm 6,94$	0,385
Cinsiyet(Erkek/kadın)	48 / 42 (% 53,3 / % 46,7)	55 / 36 (% 60,4 / % 39,6)	0,334
<b>Risk Faktörleri</b>			
Hipertansiyon (Var/Yok)	29 (% 32,2)/61 (% 67,8)	31 (% 34,1)/60 (% 65,9)	0,792
Hiperlipidemi (Var/Yok)	18 (% 20)/72 (% 80)	22 (% 24,2)/69 (% 75,8)	0,498
Diyabetes Mellitus (Var/Yok)	10 (% 11,1)/80 (% 88,9)	10 (% 11)/81 (% 89)	0,979
Heredite (Var/Yok)	19 (% 21,1)/71 (% 78,9)	15 (% 16,5)/76 (% 83,5)	0,425
Sigara içimi (Var/Yok)	14 (% 15,6)/76 (% 84,4)	16 (% 17,6)/75 (% 82,4)	0,714
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	$27,9 \pm 4,2$	$27,5 \pm 4$	0,459
Sistolik TA (mmHg)	$127,1 \pm 16,8$	$123,6 \pm 15,2$	0,152
Diyastolik TA (mmHg)	$77,3 \pm 10,1$	$75,4 \pm 8,8$	0,176

KAE ve Normal koroner gruplarının biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri kaydedildi. Gruplar arasında biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri yönünden istatistikî olarak anlamlı fark yoktu ( $P<0,05$ ) (Tablo-6b).

**Tablo 6b:** KAE ve normal koroner gruplarının biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri

	<b>KAE (n:90)</b>	<b>Normal koroner (n:91)</b>	<b>P değeri</b>
<b>Glukoz (mg/dl)</b>	97,36 ± 9,10	96,3 ± 10,85	0,501
<b>Kreatin (mg/dl)</b>	0,96 ± 0,11	0,93 ± 0,11	0,271
<b>AST (IU/L)</b>	24,28 ± 9,80	24,08 ± 9,62	0,894
<b>ALT (U/L)</b>	22,18 ± 10,05	22,65 ± 16,23	0,815
<b>Total Kolesterol (mg/dl)</b>	186,92 ± 36,13	179,41 ± 35,13	0,216
<b>Trigliserid (mg/dl)</b>	162,09 ± 73,15	157,28 ± 87,71	0,691
<b>HDL (mg/dl)</b>	44,75 ± 8,77	43,7 ± 6,8	0,377
<b>LDL (mg/dl)</b>	106,75 ± 29,91	102,44 ± 28,21	0,323
<b>WBC (K/mm<sup>3</sup>)</b>	7705,54 ± 1913,77	7698,89 ± 1940,89	0,982
<b>HB (g/dl)</b>	13,82 ± 1,51	13,92 ± 1,47	0,900
<b>PLT (K/mm<sup>3</sup>)</b>	254811,41 ± 68402,30	246088,89 ± 83630,98	0,445
<b>Ejeksiyon Fraksiyonu</b>	63,67 ± 3,66	62,80 ± 4,10	0,136

Herbisit maruziyeti olan KAE hastaları ile herbisit maruziyeti olmayan KAE hastalarının KAH risk faktörleri kaydedildi. Gruplar arasında yaş, cinsiyet, hipertansiyon, heredite yönünden istatistiki olarak anlamlı fark yoktu (P<0,05) (Tablo-7a). Hastaların demografik özellikleri Tablo-7a'da özetlenmiştir.

**Tablo 7a:** Herbisit (+) ve Herbisit (-) KAE hastalarının demografik özellikleri

	<b>Herbisit (+) KAE (n:43)</b>	<b>Herbisit (-) KAE (n:47)</b>	<b>P değeri</b>
<b>Yaş ortalaması (yıl)</b>	52,67 ± 6,88	51,68 ± 8,36	0,542
<b>Cinsiyet (Erkek/Kadın)</b>	23 / 20 (% 53,5 / % 46,5)	25 / 22 (% 53,2 / % 46,8)	0,978
<b>Risk Faktörleri</b>			
Hipertansiyon (Var/Yok)	17 (% 39,5)/26 (% 60,5)	12 (% 25,5)/35 (% 74,5)	0,156
Hiperlipidemi (Var/Yok)	9 (% 20,9)/34 (% 79,1)	9 (% 19,1)/38 (% 80,9)	0,833
Diyabetes Mellitus (Var/Yok)	5 (% 11,6)/38 (% 88,4)	5 (% 10,6)/42 (% 89,4)	0,881
Heredite (Var/Yok)	7 (% 16,3)/36 (% 83,7)	12 (% 25,5)/35 (% 74,5)	0,283
Sigara içimi (Var/Yok)	9 (% 20,9)/ 34 (% 79,1)	5 (% 10,6)/ 42 (% 89,4)	0,178
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	27,68 ± 2,88	28,22 ± 5,21	0,358
Sistolik TA (mmHg)	128,77±17,06	125,49 ± 16,55	0,358
Diyastolik TA (mmHg)	76,91 ± 9,13	77,88 ± 10,98	0,675

Herbisit maruziyeti olan KAE hastaları ile herbisit maruziyeti olmayan KAE hastalarının biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri kaydedildi. Gruplar arasında biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri yönünden istatistiki olarak anlamlı fark yoktu ( $P<0,05$ ) (Tablo-7b).

**Tablo 7b:** Herbisit (+) ve Herbisit (-) KAE hastaların biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikleri

	<b>Herbisit (+) KAE (n:43)</b>	<b>Herbisit (-) KAE (n:47)</b>	<b>P değeri</b>
Glukoz	96,93 ± 9,18	97,74 ± 9,110	0,674
Kreatin	0,97 ± 0,21	0,95 ± 0,11	0,657
AST	26,02 ± 11,59	22,68 ± 7,59	0,106
ALT	22,49 ± 10,21	21,89 ± 9,92	0,780
Total Kolesterol	188,52 ± 37,76	183,78 ± 34,88	0,540
Trigliserid	175,93 ± 77,13	149,72 ± 67,83	0,092
HDL	43,52 ± 10,18	45,85 ± 7,22	0,213
LDL	108,92 ± 33,94	104,81 ± 26,01	0,521
WBC	7925,58 ± 1787,66	7504,29 ± 2020,33	0,299
HB	14,03 ± 1,49	13,77 ± 1,52	0,424
PLT	252232,55 ± 55549,56	257170,21 ± 78887,74	0,734
Ejeksiyon Fraksiyonu	63,84 ± 3,91	63,51 ± 3,44	0,675

#### 4.2. Koroner Arter Ektazi Hastalarının Anjiyografik Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 90 KAE hastasının % 23,3'ünde sol ana koroner arterde (LCA), % 76,7'sinde sol ön inen koroner arterde (LAD), % 66,7'sinde sirkumfleks koroner arterde (CX) ve % 58,9'unda sağ koroner arterde (RCA) KAE'si bulunmakta idi. KAE bulunan hastalardan 27'sinde tek damarda tutulum mevcut iken 63 hastada birden fazla damarda (36 (% 40)'i iki damar, 27 (% 30)'u üç damar) KAE vardı. Ektazi tutulum şekline göre % 22,2'sinde fokal, % 77,8'inde diffüz tutulum vardı. KAE hastalarının anjiyografik özellikleri Tablo-8'de gösterilmiştir.

**Tablo 8:** KAE hastalarının anjiyografik karakteristikleri

<b>Ektazi lokalizasyonu</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Sol ana koroner arter	21	(% 23,3)
Sol ön inen koroner arter	69	(% 76,7)
Sirkumfleks koroner arter	60	(% 66,7)
Sağ koroner arter	53	(% 58,9)
<b>Ektatik damar sayısı</b>		
Tek damar	27	(% 30)
Çok damar	63	(% 70)
İki damar	36	(% 40)
Üç damar	27	(% 30 )
<b>Ektazik tutulum şekli</b>		
Fokal	20	(% 22,2)
Diffüz	70	(% 77,8 )

#### 4.3. Glutatyon S-Transferaz GSTM1 ve GSTT1 Polimorfizm Genotipleri

GSTM1 polimorfizmi genotip açısından incelendiğinde KAE grubunda 43 (% 47,8) olguda homozigot delesyon (null genotip); 47 (% 52,2) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. 91 bireyden oluşan kontrol grubunda ise 26 (% 28,6) bireyde homozigot delesyon (null genotip); 65 (% 71,4) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. (Tablo-9). İki grup genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında KAE grubunda anlamlı olarak homozigot delesyon (null genotip) daha yüksek oranda tespit edildi ( $p=0,008$ ). (Tablo-9).

**Tablo 9:** GSTM1 gen polimorfizminin genotip frekansları

	<b>KAE</b>		<b>Normal Koronerler</b>		<b>P</b>
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>*1/*1</b>	47	52,2	65	71,4	0,008 $\chi^2=7,076$ sd=1
<b>*0/*0</b>	43	47,8	26	28,6	

\*1/\*1: Homozigot yabancı tip, \*0/\*0: Homozigot delesyon (null delesyon). KAE: koroner arter ektazisi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

GSTT1 polimorfizmi genotip açısından incelendiğinde KAE grubunda 23 (% 25,6) olguda homozigot delesyon (null genotip); 67 (% 74,4) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. 91 bireyden oluşan kontrol grubunda ise 10 (% 11) bireyde homozigot delesyon (null genotip); 81 (% 89) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. (Tablo-10). İki grup genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında KAE grubunda anlamlı olarak homozigot delesyon (null genotip) daha yüksek oranda tespit edildi ( $p=0,01$ ). (Tablo-10).

**Tablo 10:** GSTT1 gen polimorfizminin genotip frekansları.

	KAE		Normal Koronerler		P
	N	%	N	%	
<b>*1/*1</b>	67	74,4	81	89	0,011 $\chi^2 =6,440$ sd=1
<b>*0/*0</b>	23	25,6	10	11	

\*1/\*1: Homozigot yabancı tip, \*0/\*0: Homozigot delesyon (null delesyon). KAE: koroner arter ektazisi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

#### 4.4. KAE'de Herbisit Maruziyeti ile GSTM1 ve GSTT1 Genotip Dağılımları Arasındaki İlişki

KAE grubunda herbisit maruziyeti olanlar ile olmayan gruplar GSTM1 polimorfizmine ait genotipler açısından incelendiğinde herbisit maruziyeti olan KAE grubunda 35 (% 81,4) olguda homozigot delesyon (null genotip); 8 (% 18,6) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. 47 bireyden oluşan herbisit maruziyeti olmayan KAE grubunda ise 8 (% 17) bireyde homozigot delesyon (null genotip); 39 (% 83) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi (Tablo-11). İki grup genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında herbisit maruziyeti olan KAE grubunda GSTM1 geninde anlamlı olarak homozigot delesyon (null genotip) daha yüksek oranda elde edildi ( $p<0,001$ ). (Tablo-11).

**Tablo 11:** GSTM1 gen polimorfizminin genotip frekansları

	Herbisit (+) KAE (n:43)		Herbisit (-) KAE (47)		P
	N	%	N	%	
*1/*1	8	18,6	39	83	P≤0,001 $\chi^2=37,29$ sd=1
*0/*0	35	81,4	8	17	

\*1/\*1: Homozigot wild tip, \*0/\*0: Homozigot delesyon (null delesyon). KAE: koroner arter ektazisi, p: Herbisit (+) KAE ile Herbisit (-) KAE arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

KAE grubunda herbisit maruziyeti olanlar ile olmayan gruplar GSTT1 polimorfizmine ait genotipler açısından incelendiğinde herbisit maruziyeti olan KAE grubunda 18 (% 41,9) olguda homozigot delesyon (null genotip); 25 (% 58,1) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. 47 bireyden oluşan herbisit maruziyeti olmayan KAE grubunda ise 5 (% 10,6) bireyde homozigot delesyon (null genotip); 42 (% 89,4) olguda yabancı tip genotip (her iki alelin bulunması) tespit edildi. (Tablo-12). İki grup genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında herbisit maruziyeti olan KAE'nin herbisit maruziyetli grupta GSTT1 geninde anlamlı olarak homozigot delesyon (null genotip) daha yüksek oranda elde edildi ( $p<0,001$ ) (Tablo-12).

**Tablo 12:** KAE grubunda GSTT1 gen polimorfizminin genotip frekansları

	Herbisit (+) KAE (n:43)		Herbisit (-) KAE (n:47)		P değeri
	N	%	N	%	
*1/*1	25	58,1	42	89,4	0,001
*0/*0	18	41,9	5	10,6	

\*1/\*1: Homozigot yabancı tip, \*0/\*0: Homozigot delesyon (null delesyon). KAE: koroner ektazi, p: Herbisit (+) KAE ile Herbisit (-) KAE arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir. (Çalışmada  $p<0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildiğinden dolayı).

#### 4.5. Kardeş Kromatid Değişimi

KAE ve kontrol grubu kardeş kromatid değişimi açısından incelendiğinde KAE grubunda SCE değeri  $6,55 \pm 1,84$  olarak tespit edildi. 91 bireyden oluşan kontrol grubunda ise SCE değeri  $5,11 \pm 1,93$  olarak tespit edildi. (Tablo-13). SCE değeri KAE grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( $p<0,001$ ) (Tablo-13).

**Tablo 13:** KAE ve normal koronerlerin (kontrol) kardeş kromatid değişimi frekansları

	<b>KAE (n:90)</b>	<b>Normal Koronerler (n:91)</b>	<b>P</b>
SCE	6,55 ± 1,84	5,11 ± 1,93	P < 0,001

SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, KAE: koroner ektazi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

KAE grubunda herbisit maruziyeti olanlar ile olmayan gruplar SCE açısından incelendiğinde herbisit maruziyeti olan 43 bireyden oluşan KAE grubunda SCE değeri  $7,22 \pm 2,12$  tespit edildi. 47 bireyden oluşan herbisit maruziyeti olmayan KAE grubunda ise SCE değeri  $5,93 \pm 1,27$  tespit edildi (Tablo-14). İki grup SCE miktarlarına göre karşılaştırıldığında herbisit maruziyeti olan KAE alt grubunda anlamlı olarak SCE miktarı daha yüksek oranda tespit edildi ( $p=0,001$ ) (Tablo-14).

**Tablo 14:** KAE’de herbisit maruziyeti ile SCE arasındaki ilişki

	<b>Herbisit (+) KAE (n:43)</b>	<b>Herbisit (-) KAE (n:47)</b>	<b>P</b>
SCE	$7,22 \pm 2,12$	$5,93 \pm 1,27$	0,001

SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, KAE: Koroner Ektazi, p: Herbisit (+) KAE ile Herbisit (-) KAE arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir. (Çalışmada  $p<0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildiğinden dolayı).

#### 4.6. Glutasyon S-Transferaz GSTP1 Polimorfizm Genotipleri

GSTP1 geni polimorfizminin genotip açısından incelendiğinde KAE grubunda 13 (% 14,4) olguda GG genotipi; 36 (% 40) olguda GA genotipi; 41 (% 45,6) olguda AA genotipi tespit edildi. 46 bireyden oluşan kontrol (normal koroner) grubunda ise 1 (% 2,2) birey GG genotipi, 12 (% 26,1) birey GA genotipi, 33 (% 71,7) birey AA genotipinde bulundu (Tablo-15).

Her iki grup genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında GG genotipleri yani homozigot mutasyon KAE grubunda anlamlı olarak daha yüksek oranda tespit edilmiştir ( $P=0,026$ ) (Tablo 15). AA genotipi yani homozigot normal (wild) genotip beklendiği şekilde normal koroner grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( $P=0,004$ ) (Tablo 15).



**Tablo 15:** GSTP1 gen polimorfizminin genotip frekansları

	<b>KAE (n:90)</b>		<b>Normal Koronerler (n:46)</b>		<b>P</b>
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	
<b>GG Genotipi (Var/Yok)</b>	13/77	14,4/85,6	1/45	2,2/87,8	0,026
<b>GA genotipi (Var/Yok)</b>	36/54	40/60	12/34	26,1/73,9	0,108
<b>AA Genotipi (Var/Yok)</b>	41/49	45,6/64,4	33/13	71,7/28,3	0,004

KAE: koroner ektazi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

**Tablo 16:** KAE ve normal koroner (kontrol) grupların dominant modele göre genotip dağılımları

		<b>KAE</b>		<b>Normal Koroner</b>		<b>P</b>
		<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>Dominant Model</b>	<b>GG+GA genotipi (+/-)</b>	49/41	54,4/45,6	13/33	28,3/71,7	0,004
	<b>AA genotipi (+/-)</b>	41/49	45,6/54,4	33/13	71,7/28,3	

KAE: koroner arter ektazisi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

**Tablo 17:** KAE ve normal koroner (kontrol) grupların resesif modele göre genotip dağılımları

		<b>KAE</b>		<b>Normal Koroner</b>		<b>P</b>
		<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>Dominant Model</b>	<b>GG genotipi (+/-)</b>	13/77	14,4/85,6	1/45	2,2/97,8	0,026
	<b>GA+AA genotipi (+/-)</b>	77/13	85,6/14,4	45/1	97,8/2,2	

KAE: koroner arter ektazisi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

#### 4. 7. Glutasyon S-Transferaz Enzim Miktarı Analizleri

**Tablo 18:** KAE ve normal koroner gruplarının GST enzim miktarları

	<b>KAE</b>	<b>Normal Koroner</b>	<b>P değeri</b>
<b>GST enzim miktarı</b>	0,018	0,010	p<0,05

KAE: koroner arter ektazisi, p: KAE ile normal koronerler arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir. Enzim miktarı Enzim Ünite/mililitre olarak verilmiştir. (Çalışmada p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildiğinden dolayı).

#### 4.8. GSTM1 Gen Polimorfizmi ve Kardeş Kromatid Değişimi

Çalışma gruplarının toplamında GSTM1 gen polimorfizmi ve Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) arasındaki ilişki incelendiğinde GSTM1 homozigot delesyon (null genotip; 0/0) grubunda SCE değeri  $6,84 \pm 2,04$  tespit edildi. 112 bireyden oluşan GSTM1 homozigot normal (wild) genotip (1/1) grubunda ise SCE değeri  $5,20 \pm 1,72$  tespit edildi. (Tablo-19). SCE değeri GSTM1 homozigot delesyon (null;0/0) grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( $p<0,001$ ). (Tablo-19).

**Tablo 19:** GSTM1 gen polimorfizmi ile kardeş kromatid değişimi (SCE) arasındaki ilişki

	<b>GSTM1 Homozigot delesyon (null; 0/0)</b> (n:69)	<b>GSTM1 Homozigot normal (wild type) genotip (1/1)</b> (n:112)	<b>P Değeri</b>
<b>SCE</b>	$6,84 \pm 2,04$	$5,20 \pm 1,72$	P<0,001

SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, p: GSTM1 (0/0) genotipi ile GSTM1 (1/1) genotipleri arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir.

#### 4.9. GSTT1 Gen Polimorfizmi ve Kardeş Kromatid Değişimi

Çalışma gruplarının toplamında GSTT1 gen polimorfizmi ve Kardeş Kromatid Değişimi arasındaki ilişki incelendiğinde GSTT1 homozigot delesyon (null; 0/0) grubunda SCE değeri  $6,81 \pm 2,37$  tespit edildi. 148 bireyden oluşan GSTT1 Homozigot normal (wild type) genotip (1/1) grubunda ise SCE değeri  $5,61 \pm 1,86$  olarak tespit edildi. (Tablo-20). SCE değeri GSTT1 homozigot delesyon (null) (0/0) grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( $p=0,002$ ). (Tablo-20).

**Tablo 20:** GSTT1 gen polimorfizmi ile kardeş kromatid değişimi (SCE) arasındaki ilişki

	<b>GSTT1 Homozigot delesyon (null; 0/0)</b> (n:33)	<b>GSTT1 Homozigot normal (wild) genotip (1/1)</b> (n:148)	<b>P</b>
<b>SCE</b>	6,81 ± 2,3	5,61 ± 1,8	0,002

SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, p: GSTT1 (0/0) genotipi ile GSTT1 (1/1) genotipleri arasındaki anlamlılık değerlerini ifade etmektedir (Çalışmada  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildiğinden dolayı).

## 5. TARTIŞMA

Bütün canlı organizmalar oksidatif stres ve ksenobiyotiklere karşı glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferazları kapsayan bir antioksidan koruyucu sistem ve detoksifikasyon içeren gelişmiş koruyucu mekanizmalara sahiptir (Burdon 1999).

Glutatyon S-transferaz (GST) enzim sistemi, birçok ksenobiyotik ve endojenik maddenin biyotransformasyonu ve detoksifikasyonunu katalizleyen çok fonksiyonlu bir enzim ailesinden oluşmuştur. GST'ler, ksenobiyotikler ve elektrofilik bileşiklerin toksik etkilerini ortadan kaldıran, hücrelerdeki makromoleküllerin (DNA, RNA ve protein) alkillenmelerini engelleyen önemli bir enzim grubudur.

Bu enzimler genel olarak kimyasal karsinojenler, çevresel kirleticiler, pestisidler, herbisidler antikanser ilaçlar ve antitümör ajanları detoksifiye etmenin yanında oksidatif stres esnasında sekonder metabolitler olarak meydana gelen endojen  $\alpha$ ,  $\beta$  doymamış aldehitler, kinonlar, epoksidler ve hidroperoksidleri inaktive eder. Ayrıca lökotrienlerin, prostaglandinlerin, testosteron ve progesteronun biyosentezinde ve tirozin degradasyonunda rol alır. Bu enzimler redükte glutatyon (GSH) ile endojen ve eksojen toksik bileşiklerin konjugasyonunu katalizler. Bu bileşiklerin parçalanarak suda daha fazla çözünebilen, daha az toksik ve daha kolay vücuttan atılabilir bileşikler haline getirilmesini sağlarlar. (Young et al., 2006). Detoksifikasyon vücut için yabancı bileşiklerin (ksenobiyotiklerin) hücreden uzaklaştırılması için gerekli birkaç reaksiyonu kapsayan bir prosestir. Bu ksenobiyotiklerden en önemlileri; ilaçlar, kimyasal kirleticiler, poliklorlu bifeniller, herbisitler ve insektisidlerdir. En az 30 farklı enzimin görev aldığı bu proses faz I ve faz II olarak adlandırılan iki aşamada gerçekleşir (Robert et al., 2004).

Detoksifikasyon mekanizmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genlerdeki genetik polimorfizmin karsinojenlerin detoksifikasyon etkinliğinde bireysel farklılıklara sebep olduğu ve bu durumun özellikle kanser de dahil bir çok kardiyolojik ve sistemik hastalık ile yakından ilişkili olduğu ortaya konmuştur.

GST'lerin insanlarda 5 tipi bildirilmiştir. Bunlar alpha (A), mu (M), pi (P), theta (T) ve zeta (Z)'dir (Singh et al., 2008). Bu grupların da alt tipleri

bulunmaktadır. (A1-A4, M1-M5, P1, T1-T2 ve Z1) Bunlar arasında çok sayıda polimorfizm bildirilen tipler M1, M3, P1, T1, T2 ve Z1'dir (Lee et al., 2004).

GSTM1 benzopiren ve aflotoksin gibi kanserojen polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) detoksifikasyonundan sorumludur (Singh et al., 2008, Uedaa et al., 2005, Rebbeck 1997, Chen et al., 1999). GSTM1 geni 1p13.3 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır. Bu genle ilgili olarak GSTM1-a, GSTM1-b ve GSTM1-0 şeklinde üç farklı alel gösterilmiştir (Rebbeck 1997). GSTM1-0 aleli delesyonludur, null alel olarak adlandırılır ve dominant etki gösterir (Rebbeck 1997, Sobti et al., 2006) GSTM1 null aleli enzim aktivitesi göstermez (Au 2004, Rebbeck 1997). Diğer iki alel enzimde değişikliğe neden olmamaktadır (Rebbeck 1997). GSTM1 null alellinde sitogenetik hasar gözükmemektedir (Singh et al., 2008).

GSTT1 1,3 butadien, monohalometanları, etilen oksit gibi sigara içimi sonucu ortaya çıkan ve havada bulunan çevresel çok sayıda potansiyel kanserojenlerin detoksifikasyonunda rol oynar (Singh et al., 2008, Sobti et al., 2006). GSTT1 geni 22q11.2 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır. Bu genle ilgili GSTT1-1 ve GSTT1-0 iki alel gösterilmiştir. GSTT1-0 aleli delesyonludur ve null alel olarak adlandırılır ve homozigot etki gösterir. GSTT1 null alelinde enzim aktivitesi görülmez (Rebbeck 1997). GSTM1 ve GSTT1 aktivitesinin yokluğu (null alel) bu genlerin homozigot olarak delesyona uğramasından kaynaklanmaktadır GSTT1 null alelinde sitogenetik hasar gözükmemektedir (Singh et al., 2008).

GSTP1 geni 11q13,1 kromozomu üzerinde tanımlanmıştır (Jee et al., 2002). GSTP1 üç genotip halinde bulunmakta olup bunlar GSTP1 Ile105Ile (Ile/Ile)(AA), GSTP1 Ile105Val (Ile/Val)(AG), GSTP1 Val105Val (Val/Val)(GG)'dir. GSTP1 Ile/Ile bireylerde normal enzim fonksiyonu için bulunması gereken doğal genotiptir. GSTP1 gen polimorfizminde 105. pozisyondaki aminoasitte isoleüsin yerine valin aminoasidinin değişimi söz konusu olursa (GSTP1 Ile/Val veya GSTP1 Val/Val) GSTP1 enzim aktivitesi etkilenir (Sobti et al., 2006, Jee et al., 2002). GSTP1 Ile/Val (AG) heterozigot, GSTP1 Val/Val (GG) homozigot polimorfik genotipleri oluşturmaktadır.

Bireyler arasında görülen bazı kanser türlerine yatkınlığın artması veya azalmasının temelinde yatan nedenin ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimlerin gösterdiği genetik polimorfizmin olabileceği ileri sürülmüştür

(Malats et al., 2000, Kim et al., 2000, Reszka et al., 2006). Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda kanser riski ile ksenobiyotik metabolizma enzim polimorfizmleri arasında önemli ilişkiler gösterilmiş ve tüm bulgular kanser etyolojisinde genetiğin rolünü vurgulamıştır (Reszka et al., 2006).

GST gen polimorfizmleri akciğer, karaciğer, mesane, meme, kolorektal, mide, larinks, ve cilt kanseri gibi bir çok kanserde risk faktörü olarak araştırılmıştır (Lee et al., 2004). GSTM1 ve GSTT1 null alellerinin (non fonksiyonel) mesane ve akciğer kanseri için artmış riskle birlikte olduğu bildirilmiştir (Kim et al., 2000, Lee et al., 2004).

GSTM1 ve GSTT1 genlerindeki polimorfizmler enzim aktivitesinin azalmasına özellikle her iki gendeki homozigot delesyonlar enzimin tamamen aktivitesini kaybetmesine neden olmaktadır. Bu da sigara ile ilişkili kanser ve koroner arter hastalıklarının oluşumuna zemin hazırlamakta, özellikle sigara içenlerde koroner arter hastalığının gelişimine katkıda bulunmaktadır (Zhong et al., 1991, Tamer ve ark., 2004).

Hayvanlarla yapılan bir çalışmada da sigaradaki kimyasalların GST enzimini azalttığı ve aterosklerotik plak oluşumunu uyardığı bildirilmiştir (Penn and Snyder 1996).

GST'ler özellikle sigara tütününde bulunan kanserojenlerin (monohalometanlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, etilen oksit) detoksifikasyonunda önemli rol oynarlar. GST gen delesyonunda GST aktivite yokluğuna bağlı sigara içimi sonucu ortaya çıkan kanserojenler detoksifiye edilemez ve bunun sonucunda akciğer, serviks ve diğer sigaraya bağlı kanserlerde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Singh et al., 2008, Ueda et al., 2005 ).

GST polimorfizmleri kardiyolojik hastalıklarda da değerlendirilmiştir. GSTT1 ve GSTM1 genlerindeki delesyonlar GST enziminin aktivitesini azaltmakta, özellikle sigara içenlerde koroner arter hastalığının gelişimine katkıda bulunduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Abu-Amero et al, 2006, Tamer ve ark., 2004, Van Schooten et al., 1998, Girisha et al., 2004). Yine GSTM1 ve GSTT1 genindeki null genotipinin KAH'nın ya da akut miyokard infarktüs (AMİ)'ün risk faktörü olduğu da bildirilmiştir (Wilson et al., 2003).

Son yıllarda Murgie ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada periferik kan lenfositlerindeki mikronükleus (MN) değerlerinin ve GSTM1 ve T1 gen polimorfizmlerinin kardiyovasküler hastalıklardaki (CVD=KVH) ölüm riskine etkisi değerlendirilmek istenmiştir. Çalışmada 39 KVH hastası ve 67 kontrol vakası kullanılmış ve MN değeri KVD grubunda belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur. Ancak GSTT1 null genotip sıklığı KVH grubunda daha az görülmüştür. Çalışma sonucunda MN sıklığının KVH riskini önceden haber veren uygun bir sitogenetik parametre olduğuna ve GSTT1 pozitif genotip sıklığının da kardiyovasküler hastalıklardan ölüm riskini etkilediğine karar verilmiştir. (Murgia et al., 2007). Gelişmiş ülkelerde KVD ve kanser ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Bu tip kronik dejeneratif hastalıklarda oksidatif stres ve DNA hasarı gibi ortak risk faktörleri bulunmaktadır (WHO, World Health Organization, [www.who.int/](http://www.who.int/), Mortality Database. Trosko and Chan 1980, De Flora et al., 1996, Ross R. 1999).

DNA hasarı kanserde bazı onkogenleri aktive edip veya tümör süpresör genleri inaktive edip, genetik instabiliteye neden olurken, kardiyovasküler hastalarda endotelial hasara tepki olarak intimaldeki düz kas hücrelerinin aşırı proliferasyonuna neden olarak aterosklerotik plak oluşumunu tetiklemektedir. (Andreassi and Botto 2003, Benditt and Benditt 1973, Schooten et al., 1998). KVH vakalarında DNA hasarı ve sitogenetik hasarın olduğu çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir. (Izzotti et al., 2001, Botto et al., 2001, Flora et al., 1997, Masetti et al., 2003). Masetti ve arkadaşları MN sıklığı, GST genotipi ve KVH bağlantısını gösterir ilk çalışmayı yapmışlardır (Masetti et al., 2003).

308 KAH ve 122 sağlıklı birey ile çalışan araştırmacılar grupları arasında GST null genotip açısından farklılık bulamamışlardır. Ancak GST null genotipli olup sigara içenler GST pozitif genotipli olup sigara içmeyenlerden daha fazla koroner arter hastalığı riskine sahiptirler. MN seviyesi sigara içen null genotiplilerde, yine sigara içen GST pozitif genotiplilere göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmada GST null genotipin sigaranın KAH üzerindeki etkisini güçlendirdiği yorumu yapılmıştır. Çalışma sigara içen null delesyonlu bireylerin sigara içmeyen ve her iki geni de sağlam olanlara göre KAH olma olasılığının 4 kat yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Çalışmanın en önemli vurgusu null delesyonlu sigara içicilerinin genleri sağlam olan sigara içicilerinden daha şiddetli anjiyografik bulgulara sahip olmasıdır.

Bir epidemiyolojik çalışmada GSTM1 null genotipe sahip bireylerin KAH görülme ihtimalinin daha yüksek olduğu belirtilirken (Li et al., 2000), diğer bir çalışmada GSTM1 null genotipe sahip bireylerin anlamlı olarak azalmış akut kalp krizi riskinin olduğu belirtilmiştir (Wilson et al., 2000).

De Weert ve meslektaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada ise; karotid intima media kalınlığının 2 yıllık takip sonucunda GSTM1 null genotipe sahip sigara içenlerde GSTM1 geni olan sigara içicilerine göre belirgin şekilde daha fazla arttığını gözlemlemişlerdir (Weert et al., 2000). Wang ve arkadaşları GSTM1 null genotipi KAH'ın şiddetini etkileyen bir ön parametre olarak yorumlamaktadırlar (Wang et al., 2002). GSTT1 geninin bulunması KAH ve alt ekstremiter arter hastalıkları riskinin artışı ile bağlantılıdır. Bu durum bazı araştırmacılar tarafından GSTT1 proteinlerinin sigara içindeki bir takım kimyasalları daha toksik formlara çevirmekte ve bu da ateroskleroz riskini arttırmakta şeklinde yorumlanmaktadır (Li et al., 2000, Li et al., 2001). Gerçekten GSTT'ler elektrofil süpürücü gibi bilirse de bazen metabolik aktivatör gibi davranıp; hücre ve DNA için zararlı ara metabolitler üretebilmektedir (Landi 2004).

Sitogenetik çalışmalara bakacak olursak; GSTM1 ve T1 null genotipe sahip bireylerden yapılan kan kültürlerinde bir takım genotoksik ajana karşı hassasiyetin arttığı lenfositlerdeki kromozomal ve oksidatif DNA hasarının arttığı gözlenmiştir (Norppa 1997, Dusinska et al., 2001). Hatta GSTM1 null genotipli bireylerin aterosklerotik lezyonlarından alınan düz kas hücrelerinde artan DNA hasarı tespit edilmiştir (Izzotti et al., 2001). Yine bir diğer çalışmada, aterosklerozlu hastalarda GSTM1 null genotipli sigara içicilerinin yine sigara içen ancak GSTM1 genine sahip bireylere göre lenfositlerinde yüksek sıklıkta kromozomal aberasyon olduğu saptanmıştır (Salama et al., 2002). Masetti ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma GST null genotip ve artan DNA hasarını göstermesi açısından önemli olmakla birlikte; GST null genotipin koroner arter hastalığında somatik DNA hasarının birikimine katkıda bulunduğu hipotezini desteklemesi açısından da faydalı bir çalışma olmuştur.

Aterosklerotik koroner arter hastalığı, çevresel faktörler ile predispose genlerin etkileşimi ile oluşan multifaktöriyel bir işlemdir. Son zamanlarda



ksenobiyotiklerce oluşturulan DNA hasarının erken faz aterogeneizde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. DNA hasarı arterlerin intimasındaki düz kas hücrelerinin proliferasyonuna neden olmaktadır. Bu durum Benditt tarafından monoklonal teori olarak tanımlanmaktadır. (Benditt and Benditt 1973). Anjiyografi yapılan 400 hastanın 299 tanesi koroner ateroskleroz ve 101 tanesi de kontrol grubu olarak tasnif edilen bir çalışmada, GSTM1 ve T1 gen polimorfizmlerinin koroner ateroskleroz ile anlamlı bağlantısının olmadığı görülmüştür. (Bazo et al., 2011). Benzer şekilde Park ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada GSTT1 genotipi ile karotid aterosklerozlu Koreli hastalar arasında bağlantı görülmemiştir. (Park et al., 2004). Girisha ve arkadaşlarının Hindistan popülasyonunda yaptıkları çalışmada da GSTM1 genotipi ile KAH arasında bağlantı bulunmadığı ifade edilmiştir (Girisha et al., 2004).

Ancak Abu-Amero ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada GST null genotipinin sigara faktörüne bağlı olmaksızın KAH risk faktörü olduğu (Abu-Amero et al., 2006), bazı araştırmacılar ise GST genleri ile KAH'nın sadece sigara içenlerde bağlantılı olduğu (Salama et al., 2002, Manfredi et al., 2007) veya bazı çalışmalarda sigara içenlerde içmeyenlerle kıyaslanlandığında bir bağlantı olduğu gözlenmiştir (Wilson et al., 2000).

Yine sigara içmenin kan damarları ve kalpte DNA değişikliklerine yol açarak KAH'na neden olduğunu savunan bir çalışmada polimorfik GST genlerinin KAH ile bağlantılı olup olmadığı değerlendirilmiştir. Ardışık olarak alınan 222 sigara içen vakanın değerlendirmesi sonucunda 169 KAH, 53 sağlıklı birey tespit edilip çalışma grupları belirlenmiştir. GSTM1 null genotip sıklığı KAH grubunda anlamlı olmasa da yüksek bulunmuştur (% 58,6'ya karşın % 45,3). GSTT1 null genotip ise KAH grubunda istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur (% 43,8'e karşın % 24,5). GSTM1 ve T1 null genotipli bireylerde ise anlamlı olacak şekilde daha yüksek stenozlu damar bulunur ve KAH riski artmıştır. Bulgular GST null genotipe sahip bireylerin sigara kullanmaları durumunda KAH açısından yüksek risk altında olduklarını göstermesi ve gen-çevre etkileşiminin hastalık oluşumu üzerindeki etkisini göstermesi açılarından orijinal bir çalışmadır. (Manfredi et al., 2007).

İfade edilen çalışmalarda KVH ile GST'lerin direkt ilişkisine bakılırken; KVH etyolojisinde rol oynayan bir takım faktörler ile GST'lerin ilişkisinin incelendiği çalışmalar da mevcuttur. GST genlerinin KVH risk faktörlerinden, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara, alkol ile ilişkisinin incelendiği literatürler bulunmaktadır. Hipertansiyonun patomekanizmasında; çok farklı yolların etkili olduğu bilinmektedir. Başlıca; elektrolit dengesinin sağlanmasında görevli genlerdeki defektler (Tobin et al., 2008, Newhouse et al., 2005, Tobin et al., 2005, Sayed-Tabatabaei et al., 2006, Staessen and Bianchi 2005), vasküler yapı ve fonksiyonda görevli genlerdeki defektler (Graham et al., 2007) ile oksidatif stres ile alakalı genlerdeki defektler hipertansiyonu etkileyebilmektedir. GST enzimlerinden özellikle GSTM sınıfı, serbest radikallerin detoksifikasyonunda görevlidir. M sınıfı genler oksidatif strese karşı koruyucudur ve azalan GSTM1 ekspresyonunun hipertansiyon ile bağlantılı olduğu literatürlerde ifade edilmiştir (Aitman et al., 2008, McBride et al., 2003, McBride et al., 2005). GST enzimleri vasküler düz kas hücreleri ve endotel hücreleri gibi farklı orjinli hücre tiplerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. (Kerr et al. 1999, Hamilton et al., 2001, Miller et al., 2003). Farklı çalışmalar GSTM1 ve T1 genlerinin farklı bulunuş durumlarının hipertansiyon ile etkisini farklı değerlendirmişlerdir (Marinho et al., 2007, Saadat et al., 2004, Capoluongo et al., 2009). Kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda etkili diğer durumlar olan kolesterol, trigliserid seviyeleri ve diyabet ile GST enzim gen polimorfizmleri ve enzim seviyeleri arasındaki bağlantı literatürlerde belirtilmiştir (Gannage-Yared et al., 1998, Macial et al., 2009, Wang et al., 2006).

Daha önce de ifade edildiği gibi koroner damarların bir bölümünün komşu normal koroner damar çapına göre tıkaçıcı lezyon olmaksızın 1,5-2 kat genişlemesi koroner arter ektazi (KAE) veya anevrizmal koroner arter hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Bu genişleme iki kattan daha fazla olursa koroner arter anevrizması olarak tanımlanmaktadır (Swaye et al. 1983, Falsetti and Carroll 1976). Koroner arter ektazi ve anevrizmaları koroner anomalilerinin nadir formlarıdır ve konjenital veya kazanılmış kökenli olabilirler (Swanton et al., 1978).

Çalışmamızda GSTM1, T1 ve P1 polimorfizmleri KAE vakalarında değerlendirilmiştir. Çalışmamız kapsamında 90 KAE vakası ile 91 kontrol vakası değerlendirilmiştir. Gruplar arasında demografik özellikler (yaş, cinsiyet) ve risk

faktörleri (hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet, heredite ve sigara kullanımı) yönünden istatistiki açıdan anlamlı farklılıklar bulunmamaktadır.

Ayrıca gruplar arasında biyokimyasal (Glukoz, kreatin, AST, ALT, total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL, WBC, HB, PLT) ve ekokardiyografik özellikler (ejeksiyon fraksiyonu) açısından da istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Gruplarımızdan KAE vakalarının herbisit maruziyet açısından değerlendirmesi sonucu 43 tanesinin herbisit maruziyetli, 47 tanesinin herbisit maruziyetsiz olduğu görülmüştür. Herbisit maruziyetli KAE grubu ve maruziyetsiz grup arasında da demografik, biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikler açısından fark görülmemiştir.

GSTM1 null genotip oranının KAE grubunda kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,008$ ).

GSTT1 null genotip oranının da KAE grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p=0,01$ ).

KAE grubunun herbisit maruziyetli ve maruziyetsiz kısımları GSTM1 ve T1 gen polimorfizmleri yönünden değerlendirilmiştir. Herbisit maruziyetli olan KAE grubu herbisit maruziyeti olmayan KAE grubu ile kıyaslandığında GSTM1 null genotip frekansının maruziyetli grupta fazla olduğu bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Aynı şekilde GSTT1 null genotip oranı da maruziyetli grupta daha yüksektir ( $p=0,001$ ).

Kardeş kromatid değişim (KKD) sıklığı açısından değerlendirildiğinde ise; KKD oranının KAE grubunda kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ). Yine KKD sayıları herbisit maruziyetli grupta maruziyetsiz gruptan daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,001$ ).

GSTP1 gen polimorfizmi açısından gruplar incelendiğinde ise AA genotipin yani homozigot normal (wild tip) genotipin normal koroner arter grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ( $p=0,004$ ).

GST enzimi biyokimyasal olarak değerlendirildiğinde KAE grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek enzimatik aktivite gözlenmiştir.

Yapılan literatür taramalarında, GST gen polimorfizmlerinin koroner arter ektazi vakaları ile ilişkisine bakılmadığı görülmüştür. Çalışmamız kapsamında

GSTM1 ve T1 null genotip frekansının KAE grubunda yüksek olduğu tespit edilmiştir. Manfredi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da GSTT1 null genotipinin ve GSTM1ve T1 null genotiplerinin birlikte bulunmasının KAH ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu görülmüştür. Ancak GSTM1 null genotipi, yine KAH grubunda daha yüksek görülmesine karşın anlamlılık tespit edilmemiştir (Manfredi et al., 2007).

Martin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da GSTM1 ve T1 null genotiplerinin koroner arter hastalarında (KAH) yüksek sıklıkta görüldüğü ifade edilmiştir (Martin et al., 2009).

Masetti ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise; GST null genotip sıklığının KAH ve KAH olmayan gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği tespit edilirken; sigara içen ve GSTM1, T1 null genotipine sahip bireylerin sigara içmeyenlere göre daha yüksek KAH yakalanma riskinin olduğu görülmüştür. Sigara içmeyip GSTM1 ve T1 null genotipine sahip bireylerde KAH gelişme riski 0,66 iken; sigara içen GSTM1ve T1 null genotiplilerde bu oran 1,5'a yükselmektedir. Ayrıca sigara içen ve GSTM1 ve T1 null genotipe sahip bireylerin daha fazla stenozlu damara sahip olup daha ağır tablolarda olduğu görülmüştür. Çalışmada mikronükleus (MN) seviyesi de sigara içen ve GSTM1 ve T1 null genotipli olanlarda sigara içip genleri mevcut olanlardan daha yüksek bulunmuştur (Masetti et al., 2003). Çalışmamız kapsamında da MN testi gibi bir sitotoksisite testi olan KKD sıklığı gruplar arasında karşılaştırılmış ve KAE grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Murgie ve arkadaşlarının 2007'de yaptıkları çalışmada ise; GSTT1 null genotip sıklığının kardiyovasküler hastalık (KVH) grubunda daha az görüldüğü tespit edilmiştir. Yani ifade edilen yukarıdaki çalışmaların aksine GSTT1 pozitif genotip KVH grubunda daha yüksektir. Ayrıca yüksek MN sıklığına sahip bireylerin daha fazla KVH riskine sahip olduğu ve MN testinin erken dönemde KVH ölüm riskini gösterebilecek bir sitogenetik biyomarker olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmaların yanısıra GSTM1 ve T1 null genotipinin aterosklerotik koroner arter hastalığında anlamlı omadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Bazo et al., 2011).

Çalışmaların sonuçları arasındaki farklılığın sebepleri arasında; çalışma gruplarının sayısal heterojenitesi, çalışmanın yapıldığı bölge, tanı kriterlerinin farklı olması ve laboratuvar hataları gibi problemler sayılabilmektedir. Bunların yanısıra

çalışmamız daha önce yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu ile aynı yönde sonuçlar göstermiştir. KAE vakalarında GST gen polimorfizmlerini ilk kez tarayan bir çalışma olması durumuyla da orijinal bir çalışma olmuştur. Ayrıca yöremizde lokal olarak daha fazla görülen KAE hastalığının gerek bölgemize has yoğun herbisit maruziyeti ile arttığı ve GST gen delesyonları olması durumunda da bu durumun daha da şiddetlendiği çalışmamızın çıkarımları arasındadır. GST genleri açısından delesyonlu bireylerin tarımla uğraşmaları durumunda daha dikkatli çalışmalarının, kardiyolojik hastalıklardan korunmalarında bir önlem oluşturacağı da ifade etmemiz gereken diğer önemli bir husustur.

## ÖZET

### **Koroner Arter Ektazilerinin Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) ve Detoksifikasyon Enzim Gen Polimorfizmleri Yönünden Değerlendirilmesi**

Koroner arter ektazisi (KAE), koroner arterlerin lokal veya genel anevrizmal genişlemeleridir. Çalışmamızda, Koroner Arter Ektazi (KAE) vakalarında detoksifikasyon enzimlerinden Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim ailesinin GSTM1, T1, P1 genlerindeki polimorfizmlerin analizi amaçlanmıştır. Ayrıca bu vakaların Kardeş Kromatid Değişim (KKD) sayıları ile GST enzim seviyeleri biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız KAE tanısı almış 90 vaka ile bunlarla yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 91 kontrol bireyi ile gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonları yapılan çalışma gruplarında PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) metodu kullanılarak polimorfizmler analiz edildi. Ayrıca heparinize halde alınan kanlarda KKD sıklığını değerlendirmek için kültürler oluşturuldu ve oluşturulan preparatlar değerlendirildi. KAE ve kontrol grubundan elde edilen serumlarda ise biyokimyasal olarak GST enzim seviyesi analiz edildi. Çalışma grubu ve kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, risk faktörleri, biyokimyasal ve ekokardiyografik özellikler açısından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). GSTM1, T1, P1 gen polimorfizm düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde KAE vaka grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Yine KKD sıklığının ve GST enzim miktarının KAE vaka grubunda kontrol grubu ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ayrıca KAE vaka grubu herbisit maruziyeti açısından gruplandırılmıştır. Herbisit maruziyetli grupta maruziyetsiz olanlar ile kıyaslandığında GSTM1, T1 ve P1 gen polimorfizm düzeylerin ve KKD değerlerinin ve GST enzim seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Çalışmamızda elde edilen verilerin, bölgemizde tarımla uğraşan ve herbisite maruz kalan bireylerin GST gen polimorfizmleri bulunması durumunda, ilaçlara karşı daha dikkatli olmaya yönlendirmede kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamız KAE'li vakalarda GST gen polimorfizmlerini tarayan ilk çalışmadır.

**Anahtar sözcükler:** Koroner Arter Ektazisi, Glutasyon S-Transferaz gen polimorfizmi, Kardeş Kromatid Değişimi, RFLP

## ABSTRACT

### **Evaluation of Coronary Artery Ectasia via Sister Chromosome Exchange (SCE) and Gene Polymorphisms of Detoxification Enzymes**

Coronary artery ectasia (CAE) is defined as local or generalized aneurysmal dilatation of the coronary arteries. The aim of this study was to analyze gene polymorphisms of enzyme family of Glutathione S-Transferase GSTM1, T1, P1 of detoxification enzymes in cases with coronary artery ectasia (CAE) as well as the level of GST enzyme and Sister Chromatid Exchange (SCE) frequency were evaluated.

Our study was carried out in a total of 90 cases diagnosed with CAE and a total of 91 population-matched healthy controls in respect to age and genders. After DNA isolation, polymorphisms were analyzed using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) methods. In addition, to evaluate the frequency of SCE, the cell cultures were employed and preparations were examined. The levels of GST enzymes were analyzed biochemically in serums obtained from subjects.

No significant differences were obtained in terms of age, genders, risk factors, biochemical parameters and echocardiographic characteristics between study and control groups ( $p > 0,05$ ).

The levels of GSTM1, T1, P1 polymorphisms were statistically higher in CAE cases than controls ( $p < 0,05$ ). The frequency of SCE and GST enzyme levels were higher in CAE cases than controls ( $p < 0,05$ ). In our study CAE group was also divided into subgroups in respect to herbicide exposure. GSTM1, T1, P1 gene polymorphisms, SCE frequency and levels of GST enzymes were higher in herbicide affected group.

We think the data obtained in this study can be used to direct people who have deletions in GST genes to avoid chemicals and herbicide exposure. To our knowledge this is the first study examining the polymorphisms encoding GST enzymes polymorphisms in cases with CAE.

**Keywords:** Coronary artery ectasia, gene polymorphism of Glutathione S-Transferase, Sister Chromatid Exchange, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

## KAYNAKLAR

Abu-Amero KK, Al-Boudari OM, Mohamed GH, Dzimiri N. T null and M null genotypes of the glutathione S-transferase gene are risk factor for CAD independent of smoking. *BMC Med Genet* 2006;7:38.

Abu-Amero KK, Al-Boudari OM, Mohamed GH, Dzimiri N. T null and M null genotypes of the glutathione S-transferase gene are risk factor for CAD independent of smoking. *BMC Med Genet*, 2006;7(38):1-7.

Adiloglu AK, Can R, Nazli C, et al. Ectasia and severe atherosclerosis: relationships with Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and inflammatory markers. *Tex Heart Inst J* 2005;32:21-27.

Aintablian A, Hamby RI, Hoffman I, Kramer RJ. Coronary ectasia: incidence and results of coronary bypass surgery. *Am Heart J* 1978;96:309-315.

Aitman TJ, Critser JK, Cuppen E, Dominiczak A, Fernandez-Suarez XM, Flint J, Gauguier D, Geurts AM, Gould M, Harris PC, Holmdahl R, Hubner N, Izsvák Z, Jacob HJ, Kuramoto T, Kwitek AE, Marrone A, Mashimo T, Moreno C, Mullins J, Mullins L, Olsson T, Pravenec M, Riley L, Saar K, Serikawa T, Shull JD, Szpirer C, Twigger SN, Voigt B, Worley K. Progress and prospects in rat genetics: a community view. *Nat Genet* 2008;40:516-522.

Akçay S, Türker Y, Özaydın M, Yücel H, Altınbaş A. Frequency of coronary artery ectasia among patients undergoing cardiac catheterization. *Anadolu Kardiyol Derg* 2010;10(2):191.

Akyürek Ö, Berkalp B, Sayın T, Dinçer İ, Kervancıoğlu C, Oral D. İzole koroner arter ektazisinde azalmış koroner arter rezervi. *MN Kardiyoloji Dergisi* 2001;8:161-167.

Alarcon GV, Zamora J, Garcia SS, Rodriguez-Perez JM, Cardoso G, Posadas-Romero C. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) insertion/deletion polymorphism in Mexican patients with coronary artery disease. Association with the disease but not lipid levels. *Experimental and Molecular Pathology* 2006;81:131-135.

Altınbaş A, Nazlı C, Kınay O, Ergene O, Gedikli Ö, Özaydın M, Doğan A, Günay G. Predictors of exercise induced myocardial ischemia in patients with isolated coronary ectesia. *The Int J of Cardiovasc Imaging* 2004;20:3-17.



Anderson PW, Zhang XY, Tian J, et al. Insulin and angiotensin II are additive in stimulating TGF-beta 1 and matrix mRNAs in mesangial cells. *Kidney Int* 1996;50:745-753.

Andesson C, Söderström M, Mannervik B. Activation and inhibition of microsomal glutathione transferase from mouse liver. *Biochem J* 1988;249:819-823.

Andreassi MG, Botto N. DNA damage as a new emerging risk factor in atherosclerosis. *Trends Cardiovasc. Med.* 2003;13:270-275.

Antoniadis AP, Chatzizisis YS, Giannoglou GD. Pathogenetic mechanisms of coronary ectasia. *Int J Cardiol* 2008;130(3):335-343.

Aqel RA, Zoghbi GJ, Iskandrian A. Spontaneous coronary artery dissection, aneurysms, and pseudoaneurysms: a review. *Echocardiography* 2004;21(2):175-182.

Arias IM, Jacoby WB. Glutathione: Metabolism and Function. *Kroc. Found. Series* 1976;6:335.

Arno G, Kaski JC, Smith DA, Akiyu JP, Hughes SE, Baboonian C. Matrix metalloproteinase-9 expression is associated with the presence of Chlamydia pneumoniae in human coronary atherosclerotic plaques. *Heart* 2005;91:521-525.

Au WW. Life style, environmental and genetic susceptibility to cervical cancer. *Toxicology* 2004;198:117-120.

Awasthi YC, Dao DD, Saneto RP. Interrelationship between anionic and cationic forms of GST of human liver. *Biochem J* 1980;191:1-10.

Bazo AP, Salvadori D, Salvadori RAF, Sodre LP, Silva GN, Camargo EA, Ribeiro LR, Salvadori DMF. DNA repair gene polymorphism is associated with the genetic basis of atherosclerotic coronary artery disease. *Cardiovascular Pathology* 2011;20:e9-e15.

Befeler B, Aranda MJ, Embi A, Mullin FL, El-Sherif N, Lazzara R. Coronary artery aneurysms: study of the etiology, clinical course and effect on left ventricular function and prognosis. *Am J Med* 1977;62(4):597-607.

Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc Nat. Acad Sci U.S.A.* 1973;70:1753-1756.

Benn PA, Tantravahi U. Chromosome staining and banding techniques. 2005; p117-119.

Bentzon JF, Pasterkamp G, Falk E. Expansive remodeling is a response of the plaque-related vessel wall in aortic roots of apoE-deficient mice: an experiment of nature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:257-262.

Berkoff HA, Rowe GG. Atherosclerotic ulcerative disease and associated aneurysms of the coronary arteries. *Am Heart J* 1975;90(2):153-158.

Bermúdez P, Palop EL, Martínez-Luengas RL et al. Coronary ectasia: prevalence, and clinical and angiographic characteristics. *Revista Espanola De Cardiologia* 2003;56:473-479.

Bescond AB, Augier T, Chareyre C, Charpiot P, Garçon D. Homocysteine-induced elastolysis in arterial media: activation of MMP2. *Neth J Med* 1998;58:56-57.

Board PG. Biochemical genetics of glutathione S transferase in man. *Am J Hum Genet* 1981;33:36-43.

Booth J, Boyland E, Sims P. An enzyme from rat liver catalysing conjugations with glutathione. *Biochem. J.* 1961;79:516-524.

Botto N, Rizza A, Colombo MG, Mazzone AM, Manfredi S, Masetti S, Clerico A, Biagini A, Andreassi MG. Evidence for DNA damage in patients with coronary artery disease. *Mutat Res* 2001;493:23-30.

Boyer TD. The Glutathione S-transferases: An Update. *Hepatology* 1989;9(3):486-96.

Boyland E, Chasseaud LF. The role of glutathione and glutathione transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzym* 1969;32:173-219.

Burdon RH. Genes and the environment. *T.J. International Ltd* 1999;Chapter 5:69-74.

Camejo G. The interaction of lipids and lipoproteins with the intercellular matrix of arterial tissue: its possible role in atherogenesis. *Adv Lipid Res* 1982;19:1-53.

Capoluongo E, Onder G, Concolino P, Russo A, Santonocito C, Bernabei R, Zuppi C, Ameglio F, Landi F. GSTM1-null polymorphism as possible risk marker for hypertension: Results from the aging and longevity study in the Sirente Geographic Area (iLSIRENTE study) *Clinica Chimica Acta* 2009;399:92-96.

Carrell TW, Burnand KG, Wells GM, Clements JM, Smith A. Stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are overexpressed in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 2002;105:477-782.

Chan DW, Sell S. Tumor Markers. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry 2th Edition Ed: Burtis CA, Ashwood ER. 1994:897-927. W. B. Saunders Company, Philadelphia.

Chasseaud LF. *Adv. Cancer Res.* 1979;29:175.

Chatzizisis YS, Coskun AU, Jonas M, Edelman ER, Feldman CL, Stone PH. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol* 2007a;49:2379-2393.

Chatzizisis YS, Coskun AU, Jonas M, Edelman ER, Stone PH, Feldman CL. Risk stratification of individual coronary lesions using local endothelial shear stress: a new paradigm for managing coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 2007b;22:552-564.

Chatzizisis YS, Jonas M, Coskun AU, et al. Prediction of the localization of high-risk coronary atherosclerotic plaques on the basis of low endothelial shear stress: an intravascular ultrasound and histopathology natural history study. *Circulation* 2008;117:993-1002.

Chen C, Madeleine MM, Weiss NS, Daling RJ. Glutathione S-transferase M1 genotypes and the risk of squamous carcinoma of the cervix: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol* 1999;150:568-572.

Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries. *Am J Pathol* 2004;164:243-251.

Chrissoheris MP, Donohue TJ, Young RS, Ghantous A. Coronary artery aneurysms. *Cardiol Rev* 2008;16(3):116-123.

Cipollone F, Mezzetti A, Fazia ML, et al. Association between 5-lipoxygenase expression and plaque instability in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1665-1670.

Collins MJ, Borges AJ, Singh G, et al. A giant coronary artery aneurysm in the right coronary artery. *Cardiovasc Pathol* 2006;15:150-152.

Çakır Ş, Yamanel Ş. Böceklerde İnsektisitlere Direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi 2005;6(1): 21-29.

Dajani AS, Taubert KA, Takahashi M, Bierman FZ, Freed MD, Ferrieri P, Gerber M, Shulman ST, Karchmer AW, Wilson W. Guidelines for long-term management of patients with Kawasaki disease. Report from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young. *American Heart Association Circulation* 1994;89(2):916-922.

Davidson MH. Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol* 2006;98:27i-33i.

Dawson J, Cockerill GW, Choke E, et al. Aortic aneurysm secrete interleukin-6 into the circulation. *J Vasc Surg* 2007;45:350-356.

De Flora S, Izzotti A, Randerath K, Randerath E, Bartsch H, Nair J, Balansky R, Van Schooten F, Degan P, Fronza G, Walsh D, Lewtas J. DNA adducts and chronic degenerative disease. Pathogenetic relevance and implications in preventive medicine. *Mutat Res* 1996;366:197-238.

De Flora S, Izzotti A, Walsh D, Degan P, Petrilli GL, Lewtas J. Molecular epidemiology of atherosclerosis. *FASEB J* 1997;11:1021-1031.

Delles C, McBride MW, Padmanabhan S, Dominiczak AF. The genetics of cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab* 2008;19(9):309-316.

Demopoulos VP, Olympios CD, Fakiolas CN, Pissimissis EG, Economides NM, Adamopoulou E, Foussas SG, Cokkinos DV. The natural history of aneurysmal coronary artery disease. *Heart* 1997;78(2):136-141.

Doğan A, Tüzün N, Türker Y, Akçay Y, Kaya S, Özyayın M. Matrix metalloproteinases and inflammatory markers in coronary artery ectasia: their relationship to severity of coronary artery ectasia. *Coronary artery disease* 2008;19:559-563.

Dollery C, McEwan J, Henney A. Matrix metalloproteinases and cardiovascular diseases. *Circ Res* 1995;77:863-868.

Dollery CM, Owen CA, Sukhova GK, Krettek A, Shapiro SD, Libby P. Neutrophil elastase in human atherosclerotic plaques: production by macrophages. *Circulation* 2003;107:2829-2836.

Dusinska M, Ficek A, Horska A, Raslova K, Petrovska H, Vallova B, Drlickova M, Wood SG, Stupakova A, Gasparovic J, Bobek P, Nagyova A, Kovacikova Z, Blazicek P, Liegebhel U, Collins AR. Glutathione S-transferase polymorphisms influence the level of oxidative DNA damage and antioxidant protection in humans. *Mutat Res* 2001;482:47-55.

Dwyer JH, Allayee H, Dwyer KM, et al. Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N Engl J Med* 2004;350:29-37.

Ekmekçi A, Konaç E, Önen H. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical J* 2008;21(3):282-295.

Falsetti HL, Carroll RJ. Coronary artery aneurysm. A review of the literature with a report of 11 new cases. *Chest* 1976;69(5):630-636.

Faulder CG, Hirrel PA, Hume R, Strange RC. Studies of the development of basic, neutral and acidic isoenzymes of glutathione S-transferase in human liver, adrenal, kidney and spleen. *Biochem J* 1987;241:221-228.

Friedman JM, Dill FJ, Hayden MR. Medical Genetics. ABD: Harwal Publishing; 1976.

Gannage-Yared MH, Khneisser I, Salem N, Gouyette A, Loiselet J, Halaby G, Massade L. Blood and leukocyte glutathione and glutathione S-transferase: relationship to cholesterolemia in healthy volunteers. *Ann Biol Clin* 1998;56(3):321-327.

Giannoglou GD, Antoniadis AP, Chatzizisis YS, Damvopoulou E, Parcharidis GE, Louridas GE. Prevalence of ectasia in human coronary arteries in patients in northern Greece referred for coronary angiography. *Am J Cardiol* 2006;98(3):314-318.

Girisha KM, Gilmour A, Mastana S, Singh VP, Sinha N, Tewari S, et al. T1 and M1 polymorphisms in glutathione S-transferase gene and coronary artery disease in North Indian populations. *Indian J Med Sci* 2004;58:520-526.

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987;316:1371-1375.

Graham D, McBride MW, Gaasenbeek M, Gilday K, Beattie E, Miller WH, McClure JD, Polke JM, Montezano A, Touyz RM, Dominiczak AF. Candidate genes that determine response to salt in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat: congenic analysis. *Hypertension* 2007;50:1134-1141.

Gulec S, Atmaca Y, Kilickap M, Akyurek O, Aras O, Oral D. Angiographic assessment of myocardial perfusion in patients with isolated coronary artery ectasia. *Am J Cardiol* 2003;91(8):996-999.

Gussenhoven EJ, Frietman PA, The SH, van Suylen RJ, van Egmond FC, Lancee CT, et al. Assessment of medial thinning in atherosclerosis by intravascular ultrasound. *Am J Cardiol* 1991;68(17):1625-1632.

Habig WH, Pabst JM, Jakoby WB. The first step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974;249:5654-5657.

Hamaoka K, Onouchi Z, Kamiya Y, Sakata K. Evaluation of coronary flow velocity dynamics and flow reserve in patients with Kawasaki disease by means of a Doppler guide wire. *J Am Coll Cardiol* 1998;31(4):833-840.

Hamilton CA, Brosnan MJ, McIntyre M, Graham D, Dominiczak AF. Superoxide excess in hypertension and ageing: a common cause of endothelial dysfunction. *Hypertension* 2001;37:529-534.

Hartnell GG, Parnell BM, Pridie RB. Coronary artery ectasia. Its prevalence and clinical significance in 4993 patients. *Br Heart J* 1985;54(4):392-395.

Hsu LI, Chen WP, Yang TY, Chen YH, Lo WC, Wang YH, Liao YT, Hsueh YM, Chiou HY, Wu MM, Chen CJ. Genetic polymorphisms in glutathione S-transferase (GST) superfamily and risk of arsenic-induced urothelial carcinoma in residents of southwestern Taiwan. *J Biomed Sci* 2011;18:51.

Ilija R, Kafri C, Carmel S, Goldfarb B, Gueron M, Battler A. Angiographic follow-up of coronary artery ectasia. *Cardiology* 1995;86(5):388-390.

Izzotti A, Cartiglia C, Lewtas J, De Flora S. Increased DNA alterations in atherosclerotic lesions of individuals lacking the GSTM1 genotype. *FASEB J* 2001;15:752-757.

Jee SH, Miller RE, Guallar E, Singh VK, Appel LJ, Kalg MJ. The effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Am J Hypertension* 2002;15:691-696.

Kajinami K, Kasashimas S, Oda Y, Koizumi J, Katsuda S, Mabuchi H. Coronary ectasia in familial hypercholesterolemia: histopathologic study regarding matrix metalloproteinases. *Mod Pathol* 1999;12:1174-1180

Katoh T, Inatomi H, Kim H, Yang M, Matsumoto T, Kawamoto T. Effects of Glutathione S-Transferase (GST) M1 and GSTT1 genotypes on urothelial cancer risk. *Cancer Lett* 1998;132:147-152.

Kence M. The Ecological Genetics Of Malathion Resistance In House Fly *Musca domestica*. PhD Thesis, METU, Ankara.1988.

Kerr S, Brosnan MJ, McIntyre M, Reid JL, Dominiczak AF, Hamilton CA. Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension: the role of endothelial nitric oxide synthase and superoxide dismutase isoforms. *Hypertension* 1999;33:1353-1358.

Kim JW, Lee JG, Park YG, Kim KS, Kim IK, Sohn YW, Min HK, Lee JM, Namkoong SE. Combined analysis of germline polymorphisms of p553, GSTM1, T1, CYP1A1, and CYP2E1. *Am Cancer Society* 2000;88:2082-2091.

Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- $\alpha$  and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998;98:300-307.

Kosar F, Sincer I, Aksoy Y, Ozerol I. Elevated plasma homocysteine levels in patients with isolated coronary artery ectasia. *Coron Artery Dis* 2006;17:23-27.

Kruger D, Stierle U, Herrmann G, Simon R, Sheikhzadeh A. Exercise-induced myocardial ischemia in isolated coronary artery ectasias and aneurysms ("dilated coronopathy"). *J Am Coll Cardiol* 1999 Nov 1;34(5):1461-1470.

Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutat Res* 2004;63:247-283.

Lee SA, Kim JW, Roh JW, Choi JY, Lee KM, Yoo KY, et al. Genetic polymorphisms of GSTM1, p21, p53 and HPV infection with cervical cancer in Korean women. *Gynecol Oncol* 2004;93:14-18.

Li JJ, Li Z, Li J. Is any link between inflammation and coronary artery ectasia? *Medical Hypotheses* 2007;69:678-683.

Li R, Boerwinkle E, Olshan AF, Chambless LE, Pankow JS, Tyroler HA, Bray M, Pittman GS, Bell DA, Heiss G. Glutathione S-transferase genotype as a susceptibility factor in smoking-related coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;149:451-462.

Li R, Folsom AR, Sharrett AR, Couper D, Bray M, Tyroler HA. Interaction of the glutathione S-transferase genes and cigarette smoking on risk of lower extremity arterial disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* 2011;54:729-738.

Liu J, Sukhova GK, Yang JT, et al. Cathepsin L expression and regulation in human abdominal aortic aneurysm, atherosclerosis, and vascular cells. *Atherosclerosis* 2006;184:302-311.

Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009;30: 42-59.

Mabuchi H, Michishita I, Sakai Y, Sakai T, Ikawa T, Genda A, et al. Coronary ectasia in a homozygous patient with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1986;59(1):43-46.

Macial SS, Pereira AC, Silva GJJ, Rodrigues MV, Mill JG, Krieger JE. Association between glutathione S-transferase polymorphisms and triglycerides and HDL-cholesterol. 2009;206:204-208.

Maehara A, Mintz GS, Ahmed JM, Fuchs S, Castagna MT, Pichard AD, Satler LF, Waksman R, Suddath WO, Kent KM, Weissman NJ. An intravascular ultrasound classification of angiographic coronary artery aneurysms. *Am J Cardiol* 2001;88(4):365-370.

Malats N, Camus Radon AM, Nyberg F, Ahrens W et al. Lung cancer risk in nonsmokers and GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2000;9:827-833.

Manfredi S, Federici C, Picano E, Botto N, Rizza A, Andreassi MG. GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 detoxification gene polymorphisms and susceptibility to smoking related coronary artery disease: a case only study. *Mutat Res* 2007;621:106-112.



Manginas A, Cokkinos DV. Coronary artery ectasias: imaging, functional assessment and clinical implications. *Eur Heart J* 2006;27(9):1026-1031.

Mannervik B. The isoenzymes of glutathione transferase. *Adv Enzymol* 1985;57:357-417.

Marinho C, Alho I, Arduino D, Falcao LM, Nogueira JB, Bicho M. GST M1/T1 and MTHFR polymorphisms as risk factors for hypertension. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007;353:344-350.

Markis JE, Joffe CD, Cohn PF, Feen DJ, Herman MV, Gorlin R. Clinical significance of coronary arterial ectasia. *Am J Cardiol* 1976 Feb;37(2):217-222.

Martinet W, Knaapen MW, De Mayerv GR, Herman AG, Kockx MM. Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 2002;106:927-932.

Masetti S, Botto N, Manfredi S, Colombo MG, Rizza A, Vassale C, Clerico A, Biagini A, Andreassi MG. Interactive effect of the GST genes and cigarette smoking on occurrence and severity of coronary artery risk. *J Mol Med* 2003;81:488-494.

Mason DP, Kenagy RD, Hasenstab D, et al. Matrix metalloproteinase-9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery. *Circ Res* 1999;85:1179-1185.

McBride MW, Carr JF, Graham D, Anderson HN, et al. Microarray analysis of rat chromosome 2 congenic strains. *Hypertension* 2003;41:847-853.

McBride MW, Brosnan JM, Mathers J, et al. Reduction of Gstm1 expression in the stroke-prone spontaneously hypertension rat contributes to increased oxidative stress. *Hypertension* 2005;45:786-792.

Miller EA, Pankow JS, Millikan RC, Bray MS, Ballantyne CM, Bell DA, Heiss G, Li R. Glutathione S-transferase genotypes, smoking and their association with markers inflammation, hemostasis and endothelial function: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* 2003;171:256-272.

Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613-616.

Murgia E, Maggini V, Barale R, Rossi AM. Micronuclei, genetic polymorphisms and cardiovascular disease mortality in a nested case-control study in Italy. *Mutation Research* 2007;621:113-118.

National Heart, Lung, and Blood Institute Coronary Artery Surgery Study. A multicenter comparison of the effects of randomized medical and surgical treatment of mildly symptomatic patients with coronary artery disease, and a registry of consecutive patients undergoing coronary angiography. *Circulation* 1981;63:11-81.

Newhouse SJ, Wallace C, Dobson R, Mein C, Pembroke J, Farrall M, Clayton D, Brown M, Samani N, Dominiczak A, Connell JM, Webster J, Lathrop GM, Caulfield M, Munroe PB. Haplotypes of the WNK1 gene associate with blood pressure variation in a severely hypertensive population from the British Genetics of Hypertension study. *Hum Mol Genet* 2005;14:1805-1814.

Norppa H. Cytogenetic markers of susceptibility: influence of polymorphic carcinogen-metabolizing enzymes. *Environ Health Perspect* 1997;105:829-835.

Nyamu P, Ajit MS, Joseph PK, Venkitachalam L, Sugirtham NA. The prevalence and clinical profile of angiographic coronary ectasia. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2003;11(2):122-126.

Onat T, Emerk K. Temel Biyokimya, Saray Medikal Yayıncılık, 1996 İzmir.

Özaydın M, Kahraman H, Varol E, Aslan SM, Doğan A, Altınbaş A. Herbisidlere maruz kalma ile koroner arter ektazisi arasındaki ilişki. *SDÜ Tıp Fak Derg* 2007;14:13-16.

Packard M, Wechsler HF. Aneurysm of coronary arteries. *Arch Intern Med* 1929;43:1-14.

Paik DC, Ramey WG, Dillon J, Tilson MD. The nitrite/elastin reaction: implications for in vivo degenerative effects. *Connect Tissue Res* 1997;36:241-251.

Park JH, El-Sohemy A, Cornelis MC, Kim HA, Kim SY, Bae SC. Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 gene polymorphisms and carotid atherosclerosis in Korean patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2004;24:157-163.

Passarge M, Passarge E. Color Atlas of Genetics. TMP, New York. 1995.

Penn A, Snyder CA. Butadiene inhalation accelerates arteriosclerotic plaque development in cockerels. *Toxicology* 1996;113:351-354.

Plapp FW. The genetic basis of insecticide resistance in the house fly: Evidence that a single locus plays a major role in metabolic resistance to insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 1984;22(2):194-201.

Prohaska JR, Ganther HE. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1977;76:437.

Puchalski RP, Fahl EE. Expression of Recombinant Glutathione S-Transferases: II. Ya, or Yb1 Confers Resistance to Alkylating Agents. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:2443-2447.

Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, Husain S, Arora S, Gilligan DM, Panza JA, Cannon RO. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1995;95(4):1747.

Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS. Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest* 1996;98:2572-2579.

Rath S, Har-Zahav Y, Battler A, Agranat O, Rotstein Z, Rabinowitz B, Neufeld HN. Fate of nonobstructive aneurysmatic coronary artery disease: Angiographic and clinical follow-up report. *American Heart Journal* 1985;109:785-791.

Rebbeck R. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6:733-743.

Reszka E, Wasowicz W, Gromadzimska J. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolising enzymes, diet and cancer susceptibility. *British Journal of Nutrition* 2006;96:609-619.

Robert, K.M., Daryl, K.G., Peter, A.M. and Wictor, W.R., Harper'ın Biyokimyası, Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Nurten Dikmen, Prof. Dr. Tuncay Özgünen, 2004. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.

Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999;138:419-420.

Ryberg D, Skaug V, Hewer A, Phillips DH, Harries LW, Wolf CR, Ogreid D, Ulvik A, Vu P, Haugen A. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their

significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* 1997;18(7):1285-1289.

Saadat M, Bahaoddini A, Mohabatkar H. Polimorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1 modulate blood pressure of individuals chronically exposed to natural sour gas containing sulfur compounds. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004;316:749-752.

Sadr-Ameli M, Sharifi M. The natural history of ectatic coronary artery disease. *Iranian Heart J* 2001;2:12-16.

Salama SA, Au WW, Hunter GC, Sheahan RG, Badary OA, Abdel-Naim AB, et al. Polymorphic metabolizing genes and susceptibility to atherosclerosis among cigarette smokers. *Environ Mol Mut* 2002;40:153-160.

Savino M, Parisi Q, Biondi-Zoccai GG, Pristipino C, Cianflone D, Crea F. New insights into molecular mechanisms of diffuse coronary ectasiae: a possible role for VEGF. *Int J Cardiol* 2006;106(3):307-312.

Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. *Cir. Res* 2006;98:1123-1133.

Schneiderman J, Bordin GM, Engelberg I, et al. Expression of fibrinolytic genes in atherosclerotic abdominal aortic aneurysm wall. A possible mechanism for aneurysm expansion. *J Clin Invest* 1995;96:639-645.

Sharma SN, Kaul U, Sharma S, Wasir HS, Manchanda SC, Bahl VK, Talwar KK, Rajani M, Bhatia ML. Coronary arteriographic profile in young and old Indian patients with ischaemic heart disease: a comparative study. *Indian Heart J* 1990;42(5):365-369.

Sheehan D, Meade D, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of nonmammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 2001;360:1-16.

Sing CF, Haviland MB, Reilly SL. Genetic architecture of common multifactorial diseases. *Ciba Found Symp* 1996;197:211-229.

Singh BM, Mehta JL. Interactions between the renin-angiotensin system and dyslipidemia: relevance in the therapy of hypertension and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2003;163:1296-1304.

Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B. Association of GSTM1, GSTT1 and GSTM3 gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:303e1-303e6.

Singh VS, Ansari GAS, Awasthi CY. Anion-Exchange High-Performance Liquid Chromatography of Glutathione S-Transferases, Separation of Minor Isoenzymes of Human Erythrocyte, Heart and Lung. *Journal of Chromatography* 1986;361:337-345.

Sobti RC, Kaur S, Kaur P, Singh J, Gupta I, Jain V, Nakahara A. Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India. *Cancer Gen Cyto* 2006;166:117-123.

Sorrell VL, Davis MJ, Bove AA. Current knowledge and significance of coronary artery ectasia: a chronologic review of the literature, recommendations for treatment, possible etiologies, and future considerations. *Clin Cardiol* 1998;21(3):157-160.

Sorrell VL, Davis MJ, Bove AA. Origins of coronary artery ectasia. *Lancet* 1996;347(8995):136-137.

Staessen JA, Bianchi G. Adducin and hypertension. *Pharmacogenomics* 2005;6:665-669.

Stajduhar KC, Laird JR, Rogan KM, Wortham DC. Coronary arterial ectasia: increased prevalence in patients with abdominal aortic aneurysm as compared to occlusive atherosclerotic peripheral vascular disease. *Am Heart J* 1993;125(1):86-92.

Sudhir K, Ports TA, Amidon TM, Goldgerger JJ, Brushan V, Kane JP, Yock P, Malloy MJ. Increased prevalence of coronary ectasia in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1995;91:1375-1380.

Swanton RH, Lea Thomas M, Coltarte DJ, Jenkins BS, Webb-Peploe MM, Williams BT. Coronary artery ectasia, a variant of occlusive coronary arteriosclerosis. *Br Heart J* 1978;40:393-400.

Swaye PS, Fisher LD, Litwin P, Vignola PA, Judkins MP, Kemp HG, Mudd JG, Gosselin AJ. Aneurysmal coronary artery disease. *Circulation* 1983;67(1):134-8.

Tamaki H, Kumagai H, Tochikura T. Purification and Properties of Glutathione Transferase from *Issatchenkia orientalis*. *Journal of Bacteriology* 1989;171 (2):1173-1177.

Tamer L, Ercan B, Camsari A, Yildirim H, Cicek D, Sucu N, et al. Glutathione S transferase gene polymorphism as a susceptibility factor in smoking-related coronary artery disease. *Basic Res Cardiol* 2004;99:223-229.

Tengiz I, Ertuğrul E, Aliyev E, Sekuri C, Duman C, Altuhlu I. Elevated levels of MMP-3 in patients coronary aneurysm: a case control study. *Curr Cont Trails Cardiovasc Med* 2004;5:1-6.

Tobin MD, Raleigh SM, Newhouse S, Braund P, Bodycote C, Ogleby J, Cross D, Gracey J, Hayes S, Smith T, Ridge C, Caulfield M, Sheehan NA, Munroe PB, Burton PR, Samani NJ. Association of WNK1 gene polymorphisms and haplotypes with ambulatory blood pressure in the general population. *Circulation* 2005;112:3423-3429.

Tobin MD, Tomaszewski M, Braund PS, Hajat C, Raleigh SM, Palmer TM, Caulfield M, Burton PR, Samani NJ. Common variants in genes underlying monogenic hypertension and hypotension and blood pressure in the general population. *Hypertension* 2008;51:1658–1664.

Tokgozoglu L, Ergene O, Kinay O, et al. Plasma interleukin-6 levels are increased in coronary artery ectasia. *Acta Cardiol* 2004;59:515–519.

Trosko J, Chan C. An integrative hypothesis linking cancer, diabetes and atherosclerosis: the role of mutations and epigenetic changes. *Med Hypoth* 1980;6:455-468.

Tunick PA, Slater J, Kronzon I, Glassman E. Discrete atherosclerotic coronary artery aneurysms: a study of 20 patients. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:279–282.

Turhan H, Erbay AR, Yasar AS, Aksoy Y, Bicer A, Yetkin G, Yetkin E. Plasma soluble adhesion molecules; intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 and E-selectin levels in patients with isolated coronary artery ectasia. *Coron Artery Dis* 2005;16(1):45-50.

Turhan H, Erbay AR, Yasar AS, et al. Comparison of C-reactive protein levels in patients with coronary artery ectasia versus patients with obstructive coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2004;94:1303–1306.

Turhan H, Yetkin E. Coronary artery ectasia: is it a destructive inflammatory lesion of the vascular wall? *Int.J Cardiol* 2007;118:241.

Türkmen M, Bitigen A, Esen A. Coronary artery ectasia: Review. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006;26:68-72.

Uedaa M, Hungb YC, Teraia Y, Saitoc J, Nunobikid O, Nodad S, Ueki M. Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol* 2005;96:736-740.

Unemori EN, Ferrara N, Bauer EA, Amento EP. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 1992;153:557-562.

Uyarel H, Okmen E, Tartan Z, Kasikcioglu H, Dayi SU, Karabulut A, et al. The role of angiotensin converting enzyme genotype in coronary artery ectasia. *Int Heart J* 2005;46(1):89-96.

Van Schooten FJ, Hirvonen A, Maas LM, De Mol BA, Kleinjans JC, Bell DA, Durrer JD: Putative susceptibility markers of coronary artery disease: association between VDR genotype, smoking, and aromatic DNA adduct levels in human right atrial tissue. *Faseb J* 1998;12(13):1409-1417.

Vander Jagt LD, Hunsaker AL, Garcia BK, Royer ER. Isolation and Characterization of Multiple Glutathione S-Transferase from Human Liver. *Evidence For Unique Heme-Binding Sites* 1985;260 (21):11603-11610.

Wart FG, Kok FJ, Smilde TJ, Hijmans A, Wollersheim H, Stalenhoef AF. Effect of glutathione S-transferase M1 genotype on progression of atherosclerosis in lifelong male smokers. *Atherosclerosis* 2001;158:227-231.

Wang G, Zhang L, Li Q. Genetic polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and NQO1 genes and diabetes mellitus risk in Chinese population. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006;341:310-313.

Wang XL, Greco M, Sim AS, Duarte N, Wang J, Wilcken DE. Glutathione S-transferase mu1 deficiency, cigarette smoking and coronary artery disease. *J Cardiovasc Risk* 2002;9:25-31.

Watson MA, Stewart RK, Smith, GBJ, Massey TE, Bell DA. Human glutathione S-transferase P1 polymorphism: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* 1998;19: 275-280

WHO, World Health Organization, [www.who.int/](http://www.who.int/), Mortality Database

Wilson MH, Grant PJ, Kain K, Warner DP, Wild CP: Association between the risk of coronary artery disease in South Asians and a deletion polymorphism in glutathione S-transferase M1. *Biomarkers* 2003;8(1):43-50.

[www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2952](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2952) (Erişim tarihi: 23.04.2012).

[www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTM1](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTM1) (Erişim tarihi: 23.04.2012).

[www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTP1](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTP1) (Erişim tarihi: 23.04.2012).

[www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTT1](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTT1) (Erişim tarihi: 23.04.2012).

[www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-36617/h/d-6-obezite-ve-kardiyovaskueler.pdf](http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-36617/h/d-6-obezite-ve-kardiyovaskueler.pdf) (Erişim tarihi: 23.04.2012).

[www.nature.com/onc/journal/v22/n47/fig\\_tab/1206940f1.html](http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/fig_tab/1206940f1.html), Erişim tarihi: 13 Ağustos 2012.

Yamanaka O, Hobbs RE. Coronary artery anomalies in 126,595 patients undergoing coronary arteriography. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1990;21(1):28-40.

Yetkin E, Waltenberger J. Novel insights into an old controversy: is coronary artery ectasia a variant of coronary atherosclerosis? *Clin Res Cardiol* 2007;96(6):331-339.

Yılmaz H, Sayar N, Yılmaz M, Tangürek B, Çakmak N, Gürkan U, Gül M, şimşek D, Bolca O. Coronary artery ectasia: clinical and angiographical evaluation. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2008;36(8):530-535.

Yılmaz H, Tayyareci G, Sayar N, Gurkan U, Tangurek B, Asilturk R, Ozer N, Aksoy S, Simsek D, Yilmaz M, Engin O, Cagil A. Plasma soluble adhesion molecule levels in coronary artery ectasia. *Cardiology* 2006;105(3):176-181.

Yoon Y, Song J, Hong SH, Kim JQ. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease. *Clin Chem* 2000;46(10):1626-1630.

Young L, Seo JS, Jung SQ, Kim IC, Lee JS. Molecular cloning and characterization of h-class glutathione S-transferase (GST-T) from the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus* and biochemical comparisons with a-class



glutathione S-transferase (GST-A); *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006;346:1053-1061

Zhao L, Moos MP, Grabner R, et al. The 5-lipoxygenase pathway promotes pathogenesis of hyperlipidemia-dependent aortic aneurysm. *Nat Med* 2004;10:966-973.

Zhong S, Howie AF, Ketterer B, Taylor J, Hayes JD, Beckett GJ, Wathen CG, Wolf CR, Spurr NK. Glutathione S-transferase mu locus: use of genotyping and phenotyping assays to assess association with lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1991;12(9):1533-1537.

## **EKLER**

**EK 1: Çalışmanın Etik Kurul Onay Formu**

## **EK 2: SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Destek Protokolü**

## ÖZGEÇMİŞ

### Genel Bilgiler:

**Adı soyadı:** Ayşe YİĞİT  
**Doğum yeri ve yılı:** Serik, 1981  
**Yabancı dili:** İngilizce (ÜDS: 72,5)  
**Mail Adresi:** altunbasakay@hotmail.com

### Öğrenim Durumu:

**Lisans:** 1999-2003 Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta  
**Yüksek Lisans:** 2003-2006 Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Isparta  
**Doktora:** 2006-2012 Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Isparta

### Görevler:

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi 2004-2012.

## ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Antalya ili Serik ilçesinde doğdum. İlköğrenimimi Serik Cumhuriyet İlköğretim okulunda, lise eğitimimi Serik Süper Lisesinde tamamladım. 1999 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde lisans eğitimine başladım ve 2003 yılında mezun oldum. 2003 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlayıp 2006 yılında Tıbbi Biyoloji ve Genetik Uzmanı oldum. 2006 yılında aynı bölümde doktora eğitimime başladıktan sonra 2012 yılında tamamladım.

Aynı zamanda 2004 yılından itibaren Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim. Yabancı dilim İngilizce olup, iyi düzeyde İngilizce bilmekteyim.