

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİTRAL VALV PROLAPSUSU (MVP) GÖZLENEN
OLGULARDA BETA-1 ADRENERJİK RESEPTÖR ($ADR\beta_1$),
BETA-2 ADRENERJİK RESEPTÖR ($ADR\beta_2$) VE G_s -
PROTEİNİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif AĞATEKİN

İZMİR

2007

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİTRAL VALV PROLAPSUSU (MVP) GÖZLENEN
OLGULARDA BETA-1 ADRENERJİK RESEPTÖR ($ADR\beta_1$),
BETA-2 ADRENERJİK RESEPTÖR ($ADR\beta_2$) VE G_s -
PROTEİNİ GEN POLİMORFİZMLERİNİN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif AĞATEKİN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Zuhur EROĞLU

İZMİR

2007

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : Yard. Doç. Dr. Zuhâl Eroğlu

(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Nejat Topçuoğlu

Üye : Doç. Dr. Can HASDEMİR

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 15.08.07

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman yanımda olan, her konuda destek veren ve tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Zuhal Eroğlu' na,

Yüksek lisans eğitimim boyunca gösterdiği ilgi ve destekten ötürü Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Nejat Topçuoğlu' na,

Çalışmamın istatistiksel analiz aşamasında bilgi ve birikimlerini benimle paylaşıp yardımını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Cumhuriyet Gündüz' e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın Yrd. Doç. Dr. Buket Kosova' ya,

Tez çalışmam için gerekli hasta grubunu temin edip, çalışmayı özveriyle takip eden, her zaman desteklerini hissettiğim Sayın Doç. Dr. Can Hasdemir ve Dr. Cem Ulucan' a,

Çalışmamın her aşamasıyla ilgilenip göstermiş oldukları yardım ve destekten ötürü Sayın Araş. Gör. Vildan Bozok Çetintaş ve Sayın Araş. Gör. Aslı Tetik' e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve tez çalışmamda desteklerini her zaman hissettiğim, Sayın Araş. Gör. Nur Selvi, Sayın Arş. Gör. Çığır Biray ve Sayın Araş. Gör. Burçin Tezcanlı' ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca paylaştığımız her şey için Sayın Araş. Gör. Duygu Aygüneş' e,

Tez çalışmam süresince yardımını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Ali Şahin Küçükbaşlan' a,

Anabilim dalımızın diğer tüm çalışanlarına,

Beni büyük bir özveriyle bugünlere getiren, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim sevgili aileme,

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, beni her konuda yüreklendiren, tez çalışmam boyunca büyük sabır ve anlayışla desteğini esirgemeyen, sevgisini her zaman hissettiğim nişanlım Engin Meriç' e,

TEŞEKKÜR EDİYORUM.

İZMİR 2007

Elif Ağatekin

İÇİNDEKİLER

1. BÖLÜM	
1.1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.2. GENEL BİLGİLER	3
1.2.1. KALP KAPAK HASTALIKLARI	5
1.2.1.1 KALP KAPAK HASTALIKLARI TİPLERİ	8
1.2.1.2 KALP KAPAK HASTALIKLARI TANI YÖNTEMLERİ	12
1.2.1.2.1 Elektrokardiyografi.....	13
1.2.1.2.2 Göğüs Radyografisi.....	13
1.2.1.2.3 Ekokardiyografi.....	13
1.2.1.2.4 Kalp Kateterizasyonu.....	14
1.2.2 MİTRAL VALV PROLAPSUSU	14
1.2.2.1 EPİDEMİYOLOJİ	15
1.2.2.2 ETİYOLOJİ	16
1.2.2.3 PATOGENEZİ	18
1.2.2.4 KLİNİK BULGULAR VE TANI	19
1.2.2.4.1 Ekokardiyografi.....	21
1.2.2.4.2 Elektrokardiyografi.....	21
1.2.2.4.3 Miyokard Perfüzyon Sintigrafisi.....	22
1.2.2.4.4 Kardiyak Kateterizasyon.....	22
1.2.2.5 TEDAVİ	22
1.2.3 POLİMORFİZMLER	24
1.2.3.1 TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ	25
1.2.4 ADRENERJİK RESEPTÖRLER	27
1.2.4.1 ALFA ADRENERJİK RESEPTÖRLER	28
1.2.4.2 BETA ADRENERJİK RESEPTÖRLER	31
1.2.4.2.1 Beta-1 Adrenerjik Reseptörü.....	33
1.2.4.2.1.1 Beta-1 Adrenerjik reseptörü (ADRB1) Ser49Gly Polimorfizmi.....	34
1.2.4.2.1.2 Beta-1 Adrenerjik Reseptörü (ADRB1) Gly389Arg Polimorfizmi.....	36
1.2.4.2.2 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü.....	38
1.2.4.2.2.1 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Arg16Gly Polimorfizmi.....	40
1.2.4.2.2.2 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Gln27Glu Polimorfizmi.....	40
1.2.4.2.2.3 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Ile164Thr Polimorfizmi.....	41
1.2.5 G-PROTEİNİ (Guanine Nucleotide Binding Protein)	42
1.2.5.1 GNB3 Geni	44
1.2.5.1.1 GNB3 Geni C825T Polimorfizmi.....	45
1.2.6. ADRβ1, ADRβ2 ve GNB3 POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER	46
1.2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu / Restriksiyon Enzimi Uzunluk Polimorfizmi	46
1.2.6.1.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	46
1.2.6.1.2 Restriksiyon Enzimi Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	48
1.2.6.2. LIGHTCYCLER SİSTEMİ	49

2. BÖLÜM	
2.1. GEREÇ VE YÖNTEM	53
2.1.1. KONTROL VE ÇALIŞMA GRUBU	53
2.1.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ	53
2.1.2.1 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri Esnasında Kullanılan Cihazlar	54
2.1.2.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri Esnasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	55
2.1.2.3 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri Esnasında Kullanılan Hazır Kitler	55
2.1.2.4 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri Esnasında Kullanılan Primerler	56
2.1.2.4.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti	56
2.1.2.4.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti	57
2.1.2.4.3 ADR β 2 Arg16Gly ve Gln27Glu Polimorfizmleri Analizinde Kullanılan Primer Çifti	57
2.1.2.4.4 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti	58
2.1.2.4.5 GNB3 C825T Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti	58
2.1.3 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİ İÇİN ÇALIŞMA PROTOKOLLERİ	59
2.1.3.1 DNA İZOLASYON AŞAMALARI	59
2.1.3.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİ İÇİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)	61
2.1.3.2.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	61
2.1.3.2.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	62
2.1.3.2.3 ADR β 2 Arg16Gly ve Gln27Glu Polimorfizmleri İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	63
2.1.3.2.4 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	64
2.1.3.2.5 GNB3 C825T Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	65
2.1.3.3 PCR SONRASI %2' lik ve %3' lük AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ	66
2.1.3.4 RESTRİKSİYON ENZİM KESİMİ İLE POLİMORFİZM ANALİZİ	66
2.1.3.4.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi	66
2.1.3.4.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi	68
2.1.3.4.3 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi	69

2.1.3.4.4 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi.....	71
2.1.3.4.5 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi.....	72
2.1.3.4.6 GNB3 C825T Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi.....	74
2.1.4 KULLANILAN KİMYASAL ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANIŞI.....	76
2.1.4.1 Etidyum Bromid Hazırlanması.....	76
2.1.4.2 dNTP Hazırlanması.....	76
2.1.4.3 TAE (Tris-Asetat-EDTA) Tamponu.....	76
2.1.4.4 % 2' lik ve % 3' lük Agaroz Jel Hazırlama.....	77
2.1.5 İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	77
2.1.5.1 Ki-Kare Testi.....	78
2.1.5.2 Regresyon Analiz Testi.....	78
3. BÖLÜM	
3.1 BULGULAR.....	79
3.1.1 KONTROL VE ÇALIŞMA GRUPLARININ GENEL ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ve İSTATİSTİKSEL ANALİZLERİ.....	79
3.1.1.1 Kontrol Grubu.....	79
3.1.1.2 Çalışma Grubu.....	79
3.1.1.2.1 Çalışma Grubunda Mitral Kapak Kalınlığı ve Çöküş Miktarının Yaşa Göre Dağılımı.....	81
3.1.2 ADRβ1, ADRβ2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİNİN GENOTİP VE HAPLOTİP ANALİZLERİ.....	83
3.1.2.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmine Ait Bulgular.....	83
3.1.2.1.1 Kontrol Grubu.....	83
3.1.2.1.2 Çalışma Grubu.....	84
3.1.2.1.3 İstatistiksel Analiz.....	88
3.1.2.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmine Ait Bulgular.....	89
3.1.2.2.1 Kontrol Grubu.....	90
3.1.2.2.2 Çalışma Grubu.....	90
3.1.2.2.3 İstatistiksel Analiz.....	94
3.1.2.3 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmine Ait Bulgular.....	94
3.1.2.3.1 Kontrol Grubu.....	95
3.1.2.3.2 Çalışma Grubu.....	95
3.1.2.3.3 İstatistiksel Analiz.....	100
3.1.2.4 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmine Ait Bulgular.....	100
3.1.2.4.1 Kontrol Grubu.....	101
3.1.2.4.2 Çalışma Grubu.....	101
3.1.2.4.3 İstatistiksel Analiz.....	106
3.1.2.5 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmine Ait Bulgular.....	106
3.1.2.5.1 Kontrol Grubu.....	107
3.1.2.5.2 Çalışma Grubu.....	107
3.1.2.5.3 İstatistiksel Analiz.....	112
3.1.2.6 GNB3 C825T Polimorfizmine Ait Bulgular.....	113
3.1.2.6.1 Kontrol Grubu.....	114
3.1.2.6.2 Çalışma Grubu.....	114
3.1.2.6.3 İstatistiksel Analiz.....	118

3.1.3 KONTROL VE ÇALIŞMA GRUPLARININ ADRβ1 ve ADRβ2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN BİLEŞİK HAPLOTİP ANALİZLERİ.....	119
3.1.3.1 ADRβ1 Ser49Gly ve Gly389Arg Polimorfizmlerinin Bileşik Haplotip Analizi.....	119
3.1.3.1.1 Kontrol Grubu.....	119
3.1.3.1.2 Çalışma Grubu.....	119
3.1.3.1.3 İstatistiksel Analiz.....	120
3.1.3.2 ADRβ2 Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr Polimorfizmlerinin Bileşik Haplotip Analizi.....	121
3.1.3.2.1 Kontrol Grubu.....	121
3.1.3.2.2 Çalışma Grubu.....	121
3.1.3.2.3 İstatistiksel Analiz.....	123
3.1.4 Kontrol Grubu ile İlgili Veriler ve Polimorfizm Analiz Sonuçları...	124
3.1.5 Çalışma Grubu İle İlgili Veriler ve Polimorfizm Analiz Sonuçları..	126
4. BÖLÜM	
4.1 TARTIŞMA.....	127
5. BÖLÜM	
5.1 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	136
6. BÖLÜM	
6.1 ÖZET.....	139
6.2 ABSTRACT.....	141
7. BÖLÜM	
7.1 YARARLANILAN KAYNAKLAR.....	143
7.2 KISALTMALAR.....	151
7.3 ÖZGEÇMİŞ.....	153

1. BÖLÜM

1.1 GİRİŞ VE AMAÇ

Genel popülasyonun yaklaşık % 2–4' ünde birçok semptomla ilişkili olarak ortaya çıkan Mitral Valv Prolapsusu (MVP), kalbin sol kulakçığı ile sol karıncığı arasında yer alan mitral kapağın iki yaprakçığından birisinin veya her ikisinin normalden daha kalın, gevşek ve yumuşak olması nedeniyle, kalbin kasılması sırasında sol kulakçığa doğru sarkması olarak tanımlanan yaygın bir kalp kapak hastalığıdır (38). Klinik olarak her ne kadar benign (iyi huylu) olarak değerlendirilse de; mitral kaçak (regurjitasyon), atrial fibrilasyon, kalp krizi ve hatta ani ölüme neden olabilmektedir (34).

Penetransı cinsiyete ve yaşa bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, özellikle 20–40 yaş arası kadınlarda daha sıklıkla rastlanan doğumsal bir anomali olup otozomal dominant kalıtım göstermektedir (34).

Mitral valv prolapsusu (MVP) tedavisinde, genellikle beta-bloker grubu ilaçlar kullanılmakta ancak ileri derece kapak yetmezliklerinde düzeltici ameliyat veya kapak değişimini gerektiren cerrahi müdahaleler uygulanmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarla, hastalığın ortaya çıkışı, gelişimi ve ilerlemesinde etkili olan genetik ve moleküler mekanizmalar açığa çıkarılmaya çalışılmış ve genomda meydana gelen bazı mutasyon ve polimorfizmlerin hastalık üzerindeki etkileri incelenmiştir (4, 25).

MVP tedavisinde kullanılan beta-bloker grubu ilaçlar beta adrenerjik reseptör moleküllerini hedef alırlar. Bu moleküller hücre dışı amino terminalleri ve hücre içi karboksi terminalleri olan transmembran proteinlerdir.

β 1, β 2 ve β 3 olmak üzere 3 alt tipi tanımlanmıştır (14) . Bu alt tipler arasında hem sayıca hem de fonksiyonel olarak kalpte en baskın olan tip β 1-adrenerjik reseptörüdür.

Adrenerjik reseptörler, Guanin bağlanan düzenleyici protein olan G-proteini ile birleşen bir reseptör ailesidir. Hücre içi sinyal iletiminde önemli aracı molekül olan G-proteini ile eşleşerek, ikincil habercilerden olan siklik AMP' nin (cAMP) sentez ve salınmasını kontrol ederek, değişik fizyolojik olayları düzenlerler. Bu reseptörlerin uyarılması ile artan cAMP; kalp atım sayısı, impuls iletim hızı ve kontraktilitede artışa neden olmaktadır.

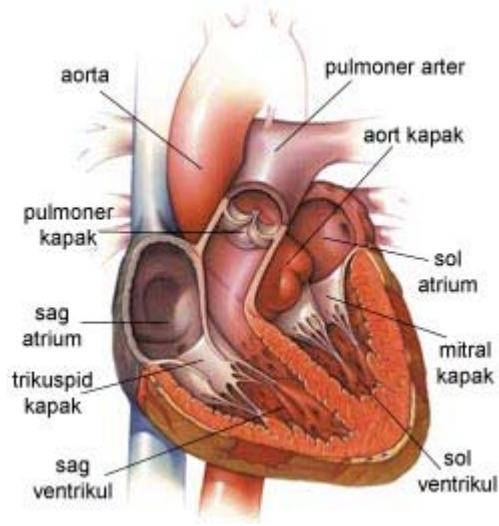
Kalpte önemli fonksiyona sahip olan, beta adrenerjik reseptörleri kodlayan genlerde ortaya çıkan bazı spesifik polimorfizmler; taşikardi, aritmi, kalp krizi ve hatta ani ölüm gibi bir çok kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde etkili olan genetik risk faktörleri olarak tanımlanmaktadır. Yapılan araştırmalarla, beta adrenerjik reseptörlerin ekspresyonlarını, reseptörlerin kardiyovasküler veya metabolik fonksiyonlarını etkileyebilen birçok polimorfizm tanımlanmıştır. Bu polimorfizmler arasında; en sıklıkla β 1 adrenerjik reseptörünü kodlayan ADR β 1 geninde; Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri, β 2 adrenerjik reseptörünü kodlayan ADR β 2 geninde; Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmleri ve reseptör fonksiyonunda birinci derecede öneme sahip Gs-proteinini kodlayan GNB3 geninde; C825T polimorfizmlerinin fonksiyonel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda, ADR β 1' de Ser49Gly, Gly389Arg polimorfizmleri, ADR β 2' de Arg16Gly, Gln27Glu, Ile164Thr polimorfizmleri ve GNB3 geninde C825T

polimorfizmlerinin MVP gelişiminde bir risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır.

1.2 GENEL BİLGİLER

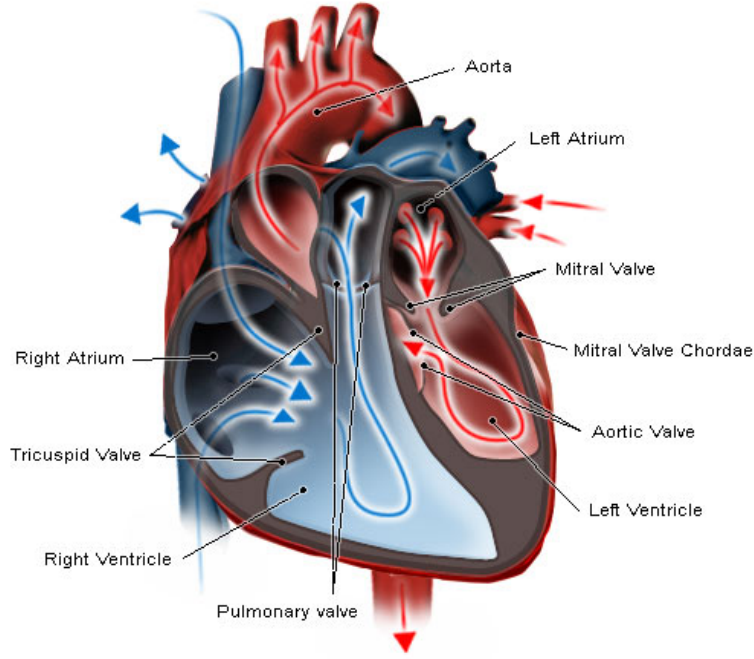
Kalbimiz, vücudumuzun canlılık ve işlevlerini sürdürebilmesi için gereksinim duyduğu besin maddeleri ve oksijen içeren kanı, tüm doku ve organlara pompalayan en hayati organımızdır. Birbirinden kaslarla ayrılmış, iki kulakçık (sağ ve sol atriyum) ve iki karıncık (sağ ve sol ventrikül) olmak üzere, dört odacıktan oluşmaktadır. Kalbimiz atriyumlar yoluyla kendisine gelen kanı, kasılarak büyük damarlara göndermektedir. Bu damarlar sol ventrikül için aort, sağ ventrikül için akciğer atardamarıdır (pulmoner arter) (42).

Kan, vücutta olduğu gibi kalp içinde de hep ileriye doğru hareket etmeli, geriye kaçmamalıdır. Kalbimizdeki bu tek yönlü kan akımını sağlayan yapılar kalp kapaklarıdır. Kalbimizde, akciğere kirli kanı pompalayan sağ karıncığın ve vücudumuza temiz kanı pompalayan sol karıncığın giriş ve çıkışlarını kontrol eden dört adet kapak bulunur. Bu kapaklardan sol karıncığın girişindeki kapağa **mitral kapak**, çıkışındaki kapağa **aort kapağı**, sağ karıncığın girişindeki kapağa **triküspit kapak**, çıkışındaki kapağa ise **pulmoner kapak** adı verilmektedir (45) (Şekil 1).



Şekil 1: Kalbin Dört Odacığı ve Kapakların Yerleşimi

Toplardamarlar aracılığıyla kalbe gelen kanın, ilk toplandığı bölüm sağ atriyumdur. Sağ atriyumdan kan, triküspit kapak aracılığıyla sağ ventriküle geçer ve sağ ventrikül bu kanı pulmoner kapak aracılığıyla temizlenmek üzere akciğerlere gönderir. Burada karbondioksitten temizlenip, oksijenlenen kan, kalbin sol tarafında bulunan sol atrium bölümüne gelir. Buradan mitral kapak aracılığıyla sol ventriküle, oradan da aort kapağı aracılığıyla, en büyük atardamarımız olan aorta gönderilerek, tüm dokulara ulaştırılır (Şekil 2). Böylece kalp, gevşeme ve kasılma hareketleri yaparak kanı sürekli ileriye doğru pompalamaktadır (42).



Şekil 2: Bir kalp döngüsü boyunca izlenen yol

Temel görevi kan akımının rahatça ve yalnızca doğru yönde ilerlemesini sağlamak olan kalp kapaklarının, romatizmal ateş, doğumsal defektler veya kireçlenme gibi nedenlerle yapı ve işlevleri bozulabilmektedir. Bu nedenlerle kalp kapaklarının yapı ve fonksiyonlarının bozulması sonucu oluşan kalp hastalıklarına genel olarak **kalp kapak hastalıkları** denmektedir (45).

1.2.1 KALP KAPAK HASTALIKLARI

Tüm dünyada ölümlerin % 1–2' sini oluşturan kalp kapak hastalıkları, özellikle ülkemizin bulunduğu coğrafyada gerek yaşam kalitesine gerekse de yaşamın kendisine karşı ciddi bir tehdit boyutunda varlığını sürdürmektedir. Kimi zaman koroner kalp hastalıklarına eşlik eden kalp kapak hastalıkları, hastalığın ilerlemesine ve kalp yetmezlikleri, kalp atışlarında düzensizlikler

(ritim bozuklukları) gibi ciddi yakınmaların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (87).

Kalp kapak hastalıkları; romatizmal ateş, enfektif endokardit, hipertansiyon, kalp kası bozuklukları (kardiyomiyopati), fibrokalsifik dejenerasyon, aort anevrizmalar, tümörler ve bazı ilaçlar gibi pek çok nedene bağlı olarak gelişebilmektedir (54).

Kalp kapak hastalıklarının nedenleri arasında en önemlisi; çocukluk çağında, boğazda yerleşerek üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan, özel bir tipteki mikroorganizmalara (A grubu streptokoklar) karşı vücudun savunma mekanizmasının yanlış bir yola girerek vücudun kendi organlarından en başta kalp olmak üzere böbrekler, beyin ve eklemler gibi diğer organlara da zarar vermesi ile ortaya çıkan romatizmal ateştir. Romatizmal kalp kapak hastalığı olarak da adlandırılan bu grup hastalıklar, kalp kapak ameliyatlarının en önde gelen nedenlerinden biridir (87).

İleri yaşlarda özellikle kalbin sol tarafında yer alan kapakların (mitral kapak ve aort kapağı) etkilendiği kireçlenmelere bağlı oluşan kalp kapak hastalıkları ve kalbi besleyen koroner damarlardaki tıkanmalar sonucunda özellikle mitral kapağın çalışmasını sağlayan kasların hasarlanması nedeniyle gelişen mitral yetmezlikler, kalp kapak hastalıklarının önemli diğer sebepleri arasındadır. Bunlardan başka doğumsal kalp hastalıkları ise kalp kapak hastalıklarına neden olan ayrıcalıklı başka bir gruptur (87). Yorgunluk, çarpıntı, nefes darlığı, bacaklarda şişlik, emboli (pıhtı atması) ve ritim problemleri kalp kapak hastalıklarının en önemli klinik belirtileridir (54).

Sebebi, oluşum mekanizması ne şekilde olursa olsun kalp kapak hastalıklarında üç tip bozukluk ortaya çıkar. Birinci tipte; kapakların açılımı kısıtlanmaktadır. Kapak açılmadığından darlık oluşur ve normalde geçmesi gereken kan miktarından az bir kısım ileri doğru geçebilmektedir. Kapak darlığına bağlı olarak yeterli miktarda kan ileriye geçemediğinden kan basıncında düşme (hipotansiyon), çocuklarda gelişme geriliği, erişkinlerde nefes darlığı, çabuk yorulma yakınmaları, bazen de göğüs ağrıları oluşabilmektedir. İleri akamayan kan ve sıvılar kimi zaman akciğerde kimi zaman ise çevre organlarda birikerek nefes darlığı, ayaklarda ödem, şişme gibi tablolara yol açar. Kapak darlıklarındaki bulgular oluşum mekanizmasına da bağlı olarak erken dönemde ortaya çıkar (87).

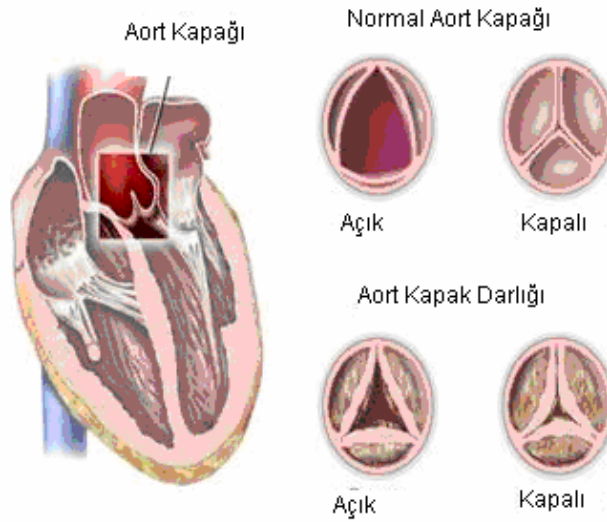
İkinci tipteki kalp kapak hastalıkları; kapakların açılımında değil kapanmalardaki bozukluk ile oluşur. Kapakların asıl görevleri olan kanın hep ileri doğru akışındaki aksamalar, kapakların tam kapanamaması sonucu oluşur ve kapak kaçakları meydana gelir. Eğer kaçak fazla ise dokular yine yeterli miktarda kana kavuşamaz ve kan basıncı düşmeye başlar. Öte yandan ileri doğru gidemeyen kan, kalp boşlukları içinde birikir ve burada artan basınç, hacim artışı ile kalp kaslarını gererek büyütür ve zaman içinde de kalbin pompalayabilme yani kasılıp gevşeme özelliğine zarar verir. Bu durum, kalp kapak hastalıkları zemininde gelişen kalp yetmezliklerinin oluşum nedenidir. Kalp kapak kaçakları özellikle yavaş seyirli ise uzun süre belirgin şikayet oluşturmazlar. Belirgin yakınmalar ancak kalbin çalışmasındaki bozukluk artık iyileşmez dereceye geldiğinde ortaya çıkar. Bu yüzden kalp kapak kaçaklarına bağlı gelişen hastalıklar, kapak darlıklarına göre daha tolere edilebilen ancak sinsi ilerleyen rahatsızlıklardır (33).

En sık rastlanan, hem kapağın açılması hem de kapanmasında kısıtlanmanın meydana geldiği tip, üçüncü tip kalp kapak hastalıklarını oluşturmaktadır (87).

1.2.1.1 KALP KAPAK HASTALIKLARI TİPLERİ

A. AORT KAPAK HASTALIKLARI

Aort Kapak Darlığı: Bu hastalık, romatizmal ateş, ileri yaşa bağlı dejenerasyon (kalsifikasyon) ve konjenital anomaliler (biküspit aort kapağı) gibi nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan bir rahatsızlıktır (16) (Şekil 3).

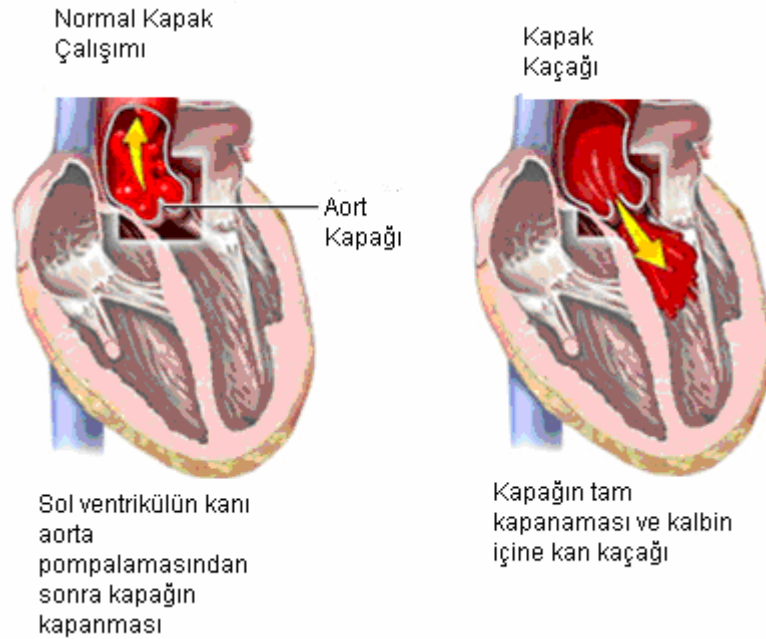


Şekil 3: Romatizmal Ateşe Bağlı Aort Darlığı

Aort darlığı 65–74 yaşları arasındaki kişilerin % 20'sinde, 84 yaşın üzerindeki kişilerin % 48'inde görülür. Benzer şekilde aort darlığının prevalansı da yaşın ilerlemesi ile birlikte artar (75, 51). Bu daralma, kapakçığın tamamen açılmasını engelleyerek kalpten aorta ve vücudun diğer bölümlerine normal kan akışını önleyerek anjina, senkop ve konjestif kalp yetmezliği gibi septomlarının gelişmesine neden olabilmektedir.

Ekokardiyografi, tanıyı koymak için temel yöntemdir (16). Tedavi, semptomların varlığı ya da yokluğu ile belirlenir. Aort kapağının değişimi semptomatik hastalar için tek etkili tedavi şeklidir, asemptomatik hastalarda ise endokardit profilaksisi uygulanır.

Aort Kapak Yetmezliği: En sık olarak enfektif endokardit, aort diseksiyonları, marfan sendromu gibi bağ dokusu hastalıkları ayrıca travma ve sistemik hipertansiyon sonucu ortaya çıkan hastalık grubunu oluşturmaktadır (8, 61, 62). Aort kapak darlığından farklı olarak; kanın kalpten çıkışında kısıtlama olmamakta, kapakçıkların tam olarak kapanamaması sonucunda kanın bir kısmı geriye kaçmaktadır (Şekil 4). Genel prevalans erkeklerde % 13, kadınlarda % 8,5'dur (73). Tanı genellikle ekokardiyografi ile konur. Başlangıçta tıbbi stabilizasyon döneminden sonra cerrahi tedavi kesin bir tedavi şeklidir (16).

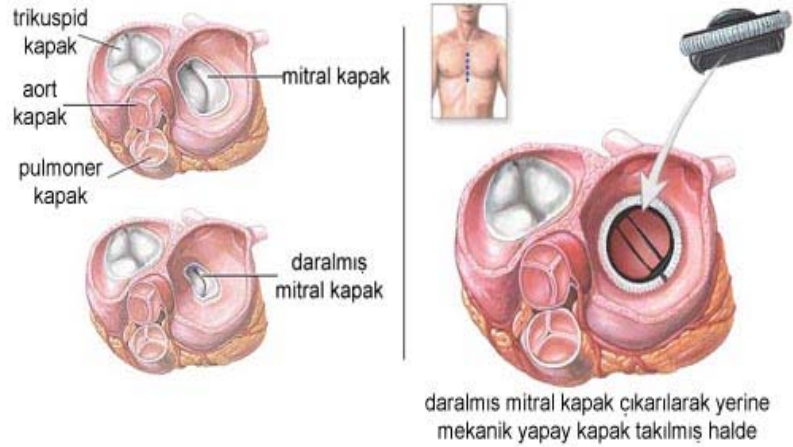


Şekil 4: Aort Kapak Yetmezliği (Aortik Kaçak)

B. MİTRAL KAPAK HASTALIKLARI

Mitral Kapak Darlığı: Gelişmekte olan ülkelerde görülen kalp kapak hastalıklarının çoğu hala romatizmal ateşe bağlı gelişen kapak bozuklukları ile ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde de akut romatizmal ateşin en sık etkilediği kapak mitral kapaktır. Mitral kapaktaki hasarın, A grubu hemolitik streptokokların enfeksiyon sonrasında kalp arasında M protein antijeninin tutulumuna bağlı olarak bir otoimmün reaksiyon geliştiği düşünülmektedir (5, 76). Akciğerlerden gelen kanın mitral kapak aracılığı ile kalbin sol atriumundan sol ventriküle geçişinde problem olmaktadır. Sağlıklı erişkinlerde mitral kapak açıklığı 4–5 cm²'dir. Mitral darlıkta kapak açıklığı azaldıkça, sol atriyumdan sol ventriküle geçiş rahat olamayacağı için her iki boşluk arasında basınç farkı oluşmakta ve bu fark, sol ventrikül diyastolik basıncına eklenerek, sol atriyumun genişlemesine ve pulmoner konjesyona yol açmaktadır. Darlık derecesi arttıkça sol ventriküle gelen kan akımının azalması, sol ventrikül çıktısının azalmasına ve buna bağlı olarak nefes darlığı, çarpıntı, ritim bozuklukları, emboli ve kalp yetmezliği gibi rahatsızlıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ekokardiyografi tanı ve izlenmede çoğu hasta için yeterli bir yöntemdir (82).

Romatizmal ateş atakları her iki cinsiyette yaklaşık aynı oranda görülmele beraber, kadınlarda mitral darlığa 2–3 kat daha sıklıkla rastlanmaktadır (82). Mitral kapak darlığının açık kalp ameliyatı ile tedavisinde, mekanik veya biyoprotez kapak değişimi (replasman) yapılmaktadır (Şekil 5).



Şekil 5: *Mitral Kapak Darlığı*

Mitral Kapak Yetmezliği: Mitral kapak; mitral annulus, ön ve arka yaprakçıklar, kordalar ve papiller kaslardan meydana gelir. Bu anatomik yapılardan bir veya bir kaçının bozulması fonksiyon kaybına ve mitral yetmezliğe neden olmaktadır (83).

Romatizmal kalp hastalığı, enfektif endokardit (EE), kollajen doku hastalıkları, kardiyomyopatiler ve iskemik kalp hastalıkları mitral yetmezliğin (MY) oluşma nedenleri arasında olan hastalıklardır. Mitral valv prolapsusu (MVP) da mitral yetmezliğin diğer bir nedeni olarak kabul edilmektedir. Özellikle gelişmiş ülkelerde romatizmal etiyolojili mitral yetmezliğin azalması sebebi ile MVP, mitral yetmezliğin önemli bir nedeni olmaya başlamıştır (83).

Mitral yetmezlik (MY), mitral darlığın (MD) aksine erkeklerde daha sıklıkla görülmektedir. Mitral yetmezlik, sol ventrikül üzerinde, eksentrik sol ventrikül hipertrofinin gelişmesi ile kompanse edilen bir hacim yükü oluşturmaktadır. Bu mekanizma, hastaların yıllarca kompanse kalmasını sağlamasına rağmen, sonuçta oluşan uzun süreli ve ciddi hemodinamik yük sol ventrikül disfonksiyonuna neden olmaktadır. Yetmezliğin nedeni ve klinik

belirtilerine göre uygulanan medikal tedavi veya zamanında uygun şekilde yapılmış kapak değişimi hastaların normal bir yaşam sürmelerine olanak sağlamaktadır. (16)

C. DİĞER KAPAK HASTALIKLARI

Diğer kapak hastalıklarından olan trikuspid ve pulmoner kapak hastalıkları çok nadir olarak tek başına bulunmakla birlikte genellikle aort ve mitral kapak hastalıklarına eşlik eden hastalıklar grubunda yer almaktadırlar. Bu hastalıkların tedavileri, eşlik ettikleri hastalıklara göre yönlendirilmektedir.

Multivalvüler hastalıkta klinik tablo tutulan her bir kapağın tutulum şiddetine göre değişiklik göstermektedir. Kapak patolojileri eşit şiddette olduğunda proksimal kapağa ait bulgular, klinik tabloya hâkim olmakta ve proksimal lezyon distal lezyonu maskeleymektedir. Örneğin triküs pit yetmezlik mitral kapak hastalığı ile birlikte görüldüğünde mitral kapağa ait semptomlar baskın olarak görülmektedir. Benzer şekilde mitral ve aort kapağın birlikte tutulumlarında mitral kapağa ait bulgular klinik tabloyu oluşturmaktadır (56, 58).

1.2.1.2 KALP KAPAK HASTALIKLARI TANI YÖNTEMLERİ

Kalp kapakçıklarındaki darlık ve/veya yetmezlikler, hekimin stetoskopla muayenesinde 'üfürüm' dediğimiz dinleme bulgusu ile belirlenmektedir. Kapak hastalığı şüphesi uyandıran bir üfürümün ya da şikâyetin varlığında uygulanan temel ileri derecedeki tanı yöntemleri; elektrokardiyografi (EKG), göğüs radyografisi, ekokardiyografi (EKO) ve kalp kateterizasyonudur (45).

1.2.1.2.1 Elektrokardiyografi (EKG)

Kalbin alışması sinüs düğümünden çıkan elektrik uyarıları ile olmaktadır. Normalde dakikada 60-80 defa çıkan bu uyarılarla önce sağ ve sol kulakçık kasılmakta ve içindeki kan karıncıklara boşaltılmakta daha sonra ise (belli bir gecikmeden sonra) karıncıklar kasılarak kulakıklardan gelen kan aorta ve akciğer atardamarına (pulmoner arter) pompalanmaktadır. Kalpte oluşan bu elektrik akımlarının kâğıda yazdırılma işlemine elektrokardiyografi (EKG, elektro, elektrokardiyogram) denmektedir (30).

EKG, kalbin özellikle ritmi, damar hastalıkları, kalp krizi ve kalp kasının kalınlaşmaları hakkında önemli bilgiler verir. EKG; basit olması, hasta açısından zahmetsiz olması, her yerde uygulanabilir ve ucuz olması nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (30).

1.2.1.2.2 Göğüs Radyografisi

Kalpte değişik biçimlerde büyüme ve akciğerlerde sıvı birikiminin olup olmadığını göstermektedir (45).

1.2.1.2.3 Ekokardiyografi (EKO)

Bir ultrason yöntemi olan ekokardiyografi, yüksek frekanslı ses dalgalarının kullanılmasıyla gerçekleştirilen bir görüntüleme sistemidir. Kalp kapaklarının biçimi, hareketleri, açılımlarının yeterli olup olmadığı ayrıca kalp boşluklarında büyüme, kalınlaşmanın olup olmadığının anlaşılmasını mümkün kılmaktadır (45).

Stetoskopla muayene, elektrokardiyografi ve göğüs radyografisi ile elde edilen bulgular kapak hastalığı şüphesi uyandırdığında, tanıyı kesinleştiren temel yöntemdir (45).

1.2.1.2.4 Kalp Kateterizasyonu

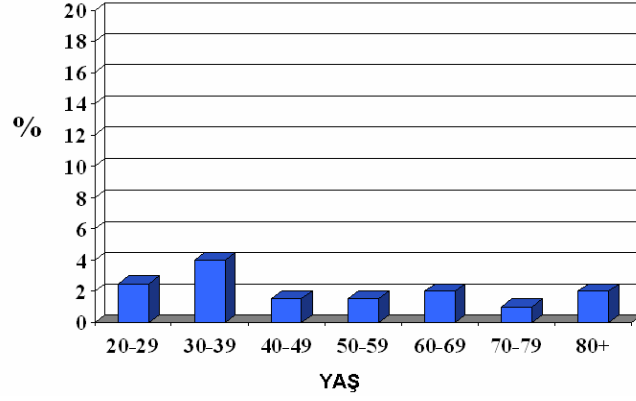
Pek çok hastada gerekmemekle birlikte diğer yöntemler yeterince bilgi vermediğinde ya da cerrahi tedavi gündeme geldiğinde, lokal anestezi uygulanarak yapılan bir tetkiktir. Kateter adı verilen ince plastik bir tüp, kasık ya da koldaki büyük damarlara yerleştirilerek, delikli ucu kalbe kadar iletilir ve hem kalbin içerisindeki basıncın ölçülmesine hem de bir kimyasal madde verilerek kalp boşluklarının görüntülenmesine olanak tanır. Bu işlem ile kan akımının doğru yönde ilerleyip ilerlemediği, kapaklarda yetersizlik olup olmadığı, kalbin pompalama işlevinin yeterli olup olmadığı belirlenebilmektedir (45).

1.2.2 MİTRAL VALV PROLAPSUSU (MVP)

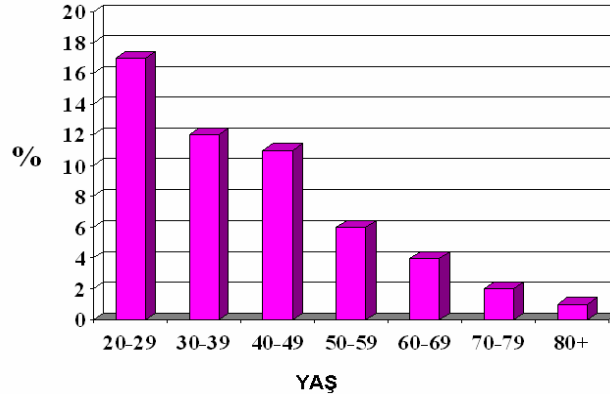
Mitral valv prolapsusu (MVP); mitral kapak yapraklarının, sistolde sol atriyum içine doğru anormal bir şekilde yer değiştirmesidir (27). Kalp kapağı hastalıklarının en sık rastlanan formudur ve populasyonun % 2-6'sında görülür (26, 35). 1960'lı yıllarda, ilk defa Barlow tarafından, genellikle kliklerle ilişkili geç sistolik üfürümlerin mitral orijini ortaya çıkarılmış, daha sonra bu durum Criley tarafından mitral kapak prolapsusu olarak adlandırılmıştır (38). Ayrıca Barlow sendromu, sistolik klik-üfürüm sendromu, miksomatöz mitral kapak sendromu, floppy kapak sendromu gibi isimlerle de anılmaktadır (6).

1.2.2.1 EPİDEMİYOLOJİ

Mitral valv prolapsusu (MVP), gelişmiş ülkelerde erişkinlerin % 2-6'sını etkileyen kalp kapaklarında en sık görülen yapısal bozukluk olup, özellikle 20–40 yaş arası kadınlarda erkeklerden daha sıklıkla gözlenmektedir (26, 35) (Şekil 6, 7). Bu hastalar genel popülasyonla karşılaştırıldığında, enfektif endokardit, mitral yetmezlik, yaşamı tehdit eden aritmi ve ani kardiyak ölüm gibi ciddi komplikasyon riski taşıdıkları ve kardiyovasküler mortalite ve morbiditede artışa neden oldukları belirtilmektedir (2, 55, 72).



Şekil 6: MVP'nin Erkeklerdeki Ekokardiyografik İnsidansı



Şekil 7: MVP'nin Kadınlardaki Ekokardiyografik İnsidansı

MVP komplikasyon riskinin ancak 45 yaşın üzerindeki erkek cinsiyetinde arttığı saptanmıştır (93, 92). Ortalama 75 yaşındaki erkeklerde MVP' ye ait komplikasyonlar % 5–10 iken, aynı yaştaki kadınlarda bu oran % 2–5 olarak bulunmuştur (57).

Yeni yapılan çalışmalarda; hastaların 6 yıldan fazla takibi sonucu, MVP' nin en ciddi ve aynı zamanda en nadir görülen komplikasyonu olan ani kardiyak ölüm riskinin, % 1–2,5 olduğu bildirilmiştir (57). Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl yaklaşık olarak 4000 kişi MVP' ye sekonder oluşan ani kardiyak ölüm nedeniyle kaybedilmektedir (37).

1.2.2.2 ETİYOLOJİ

Mitral valv prolapsusu etiyolojik olarak sınıflandırıldığında; **primer** (idiyopatik) ve **sekonder MVP** olarak iki ana başlık altında toplanmaktadır (87) (Tablo 1).

Tablo 1: MVP Etiyolojik Sınıflandırılması

Primer	Sekonder
Ailesel	Koroner Arter Hastalıkları
Ailesel olmayan	Romatizmal Kalp Hastalığı
Marfan Sendromu	Hipertrofik Kardiyomiyopati
Diğer Bağ Dokusu Hastalıkları	Pulmoner hipertansiyon
	Atriyal septal defekt
	Dehidratasyon
	Flail mitral kapak yaprakçıkları
	Normal Varyantlar (hatalı oskültasyon, ekokardiyografik kalp hastalığı)

MVP'nin primer formunda kapakçıklarda kalınlaşma ve mikroskobik olarak tespit edilen miksomatöz bağ dokusu proliferasyonu mevcuttur (55). Primer MVP' nin sıklıkla sporadik olarak oluştuğu ancak ailesel formunun, penetransının değişken olduğu ve otozomal dominant geçiş gösterdiği ortaya konmuştur (25). MVP patogenezinde rol alan genleri tanımlamaya yönelik ilk çalışma,1999 yılında, Disse ve ark. tarafından yürütülmüş ve otozomal dominant MVP için, kromozom 16p11.2-p12.1 lokusunda yer alan **MMVP1** (miksomatöz mitral valv prolapsusu) geni keşfedilmiştir (30). 2003 yılında ise MVP'nin kromozomal lokalizasyonunu belirlemek için yapılan linkaj çalışmaları sonucu; kromozom 11p15.4' de yerleşmiş olan **MMVP2** geni tanımlanmıştır (81).Ancak bugüne kadar MVP hastalarında henüz anlamlı bir kromozomal anormallik tanımlanamamıştır (55).

Primer MVP, hemen her zaman eşlik ettiği Marfan Sendromu, Ehlers-Danlos Sendromu, Psödoksantoma Elastikum ve Osteogenezis İmperfekta gibi bazı kalıtsal bağ dokusu hastalıklarında artan sıklıkta gözlenmektedir (42, 45, 54).

Marfan Sendromu'ndaki MVP prevalansı güncel ekokardiyografi kriterleri ile %91 olarak saptanmıştır. Ehlers-Danlos sendromu olan hastalarda daha önce yapılan M-code EKO çalışmalarında % 33 ve % 60 gibi yüksek sıklıkta MVP görülmesine rağmen Dolan ve ark. nın iki boyutlu ekokardiyografi ile yaptıkları çalışmada bu oran %6 olarak tespit edilmiştir. İnsülin bağımlı diyabet, tiroid bezinin otoimmün hastalıkları ve Behçet hastalığı gibi bazı endokrin bozukluklarında da MVP sıklığının arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (48).

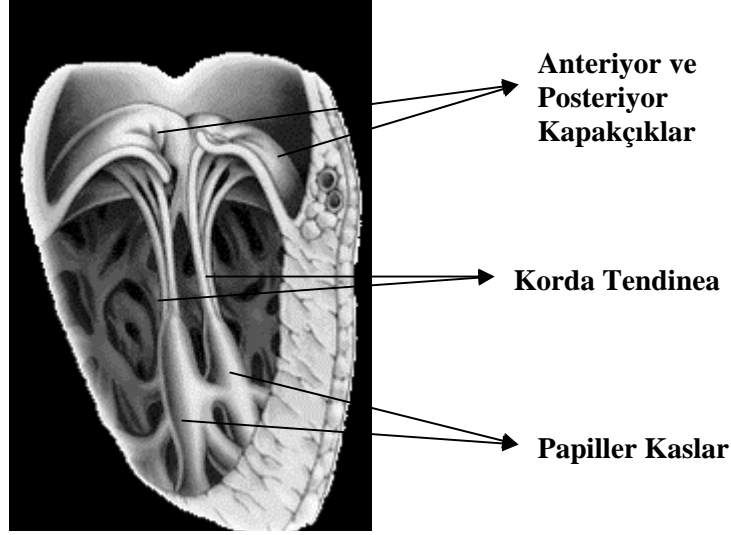
Hipertrofik kardiyomiyopati, atriyal septal defektler, pulmoner hipertansiyon ve dehidratasyon gibi nedenler de mitral kapak ile sol ventrikül arasındaki oranı bozarak MVP gelişimine neden olabilmekte, bu da sekonder MVP olarak isimlendirilmektedir (55).

1.2.2.3 PATOGENEZİ

Mitral kapak aparatı; mitral kapakçıklar, kordalar, papiller kaslar ve mitral annulustan oluşmaktadır. Bu anatomik yapılardan bir veya daha fazlasındaki herhangi bir anormallik mitral kapakta fonksiyon kaybına yol açabilmektedir (81).

Mitral prolapsusda kapağa ait patolojik değişiklikler genel olarak miksomatöz proliferasyon ve kollajen dejenerasyonuna bağlı olarak gelişmektedir (6). Kapakçık kalınlığında artma olarak bilinen **miksomatöz proliferasyon**, hastalıkla birlikte görülen en yaygın ve en önemli bulgudur (81).

Normal kapak dokusu, içte **atriyalis** tabaka, ortada **spongiosa** ve dışta **fibrosa** 'dan oluşmaktadır. Atriyalis elastik fibrillerden ve fibrosa kollajenden, spongiosa ise proteoglikan ve serbest kollajenden meydana gelmektedir. Histopatolojik olarak miksomatöz proliferasyonu, proteoglikanların birikimi ile spongiosanın genişlemesi, kollajen yapısında azalma ve elastinin parçalanması ile oluşmaktadır. Miksomatöz bağ dokusundaki bu artış kapakçıkların temel yapısını zayıflatarak yumuşak ve gevşek bir hal almasına neden olmaktadır. (Şekil 8) (81).



Şekil 8: MVP' de Mitral Kapağın Anatomisi

Miksomatöz proliferasyon en sık MVP nedeni olmakla beraber, miksomatöz proliferasyon bulunmayan normal kapaklarda dahi prolapsus görülebilmektedir. Kapağın normal fonksiyonu, mitral kapak aparatı ile sol ventrikül boşluğu arasındaki orana bağlıdır. Sol ventrikül boşluğundaki küçülme gibi olaylar bu oranı bozacak nedenlerden miksomatöz dejenerasyon olmadan da prolapsusa yol açabilir. Herhangi bir MVP bulgusu olmayan kadınlarda, diüretik kullanımı sonucu gelişen dehidratasyon, sol ventrikül boşluk genişliğini azaltarak ekokardiyografik olarak prolapsusa neden olabilmektedir (48). Aynı mekanizma ile atriyal septal defektli hastalarda sol ventrikül hacminin azalmasına bağlı olarak da MVP görülebilmektedir (81).

1.2.2.4 KLİNİK BULGULAR VE TANI

MVP tanısı, çoğunlukla asemptomatik hastalarda kardiyak oskültasyon ile tesadüfen yada prolapsus komplikasyonlarının ortaya çıkması sonucu yapılan ekokardiyografi ile konulur. Atipik göğüs ağrısı, çarpıntı, dispne

(nefes darlığı), senkop ve anksiyete sık görülen MVP semptomlarıdır. Bu semptomlar ile bunlara eşlik eden, düşük kan basıncı ve elektrokardiyografi (EKG)'deki repolarizasyon anomalileri de genel olarak "mitral valv prolapsus sendromu" olarak adlandırılır (38).

MVP hastalarında en sık görülen yakınmalardan biri olan çarpıntının kaynağı, genellikle ventriküler prematür atımlar olup, farklı supraventriküler aritmiler de sıklıkla görülebilmekte bunun yanında bazı hastalarda da ventriküler taşikardiler oluşabilmektedir. MVP hastalarının en sık yakınmalarından bir diğeri göğüs ağrısıdır. Çoğu hastada bu ağrı atipik olup beraberinde iskemik kalp hastalığı taşımaz. Göğüs ağrısının etiolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, mitral kapakçıkların prolapsus sonucunda papiller kaslardaki ve sol ventrikül duvarında oluşan gerilimin artışı nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu hastalarda, bu şikâyetlerin yanında nöropsikiyatrik yakınmalar, panik ataklar ve bariz manik-depresif sendromlar da görülebilmektedir (55).

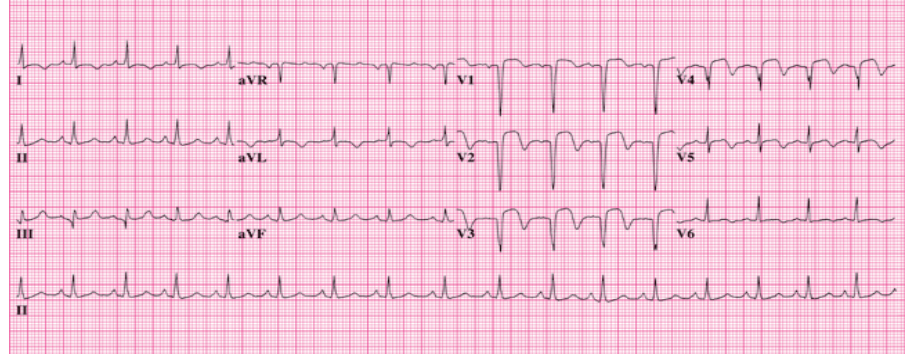
MVP' li hastalar genellikle zayıf ve astenik yapıdaki kimseler olup göğüs iskelet anomalileri (skolyoz, düz sırt sendromu, pektus ekskavatum, göğüsün antero-posterior çapında daralma) ve daha çok Marfan sendromunda görülen tipik araknodaktili bulguları görülebilmektedir (81).

Hastalığın klasik oskültasyon bulgusu; mid-sistolik kliktir. Kısa süreli ve yüksek-frekanslı bir ses olan sistolik klik, birinci sestten 0.14 saniye sonra duyulmaktadır. Sistol sırasında sol atriyumun için prolabe olan mitral kapakçıkların ani gerilmesine bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir (84). Mid-sistolik kliği takiben sıklıkla geç-sistolik bir üfürüm duyulur ve üfürüm

genellikle orta ile yüksek frekanslıdır. Hem mid-sistolik klik, hem de geç sistolik üfürüm varsa ve fiziksel manevralarla zaman ve yoğunluk olarak uygun şekilde değişiyorsa, MVP tanısı fizik muayene ile doğru bir şekilde konabilir. Daha az spesifik oskültasyon bulgularına rastlandığı durumlarda ise MVP'nin ekokardiyografik olarak onaylanması istenir (16).

1.2.2.4.1 Ekokardiyografi: Mitral kapağın anatomisi ve fonksiyonunu görüntüleyebilmesi nedeniyle ekokardiyografi (EKO), MVP' i saptamak ve özellikleri belirlemek için en sık kullanılan, en ideal non-invazif yöntemdir (16). Günümüzde iki-boyutlu ekokardiyografide, MVP tanısı parasternal uzun eksen görüntüsünde, mitral kapakçıklardan biri veya her ikisinin, sol atriyum içine 2mm' den fazla yer değiştirmesi ile konur. Ayrıca kapakçık kalınlığının ≥ 5 mm olduğu durumda MVP tanısı çok daha kesindir. Yapılan çalışmalar sonucu MVP' deki olumsuz sonuçlar ile kapakçık kalınlığı arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. İlerleyen mitral yetmezlik, spontan korda rüptürü, nörolojik olaylar, infektif endokardit (İE) ve ani kardiyak ölümü gibi komplikasyonları olan kişilerde sıklıkla kapakçık kalınlığı ≥ 5 mm olarak görülmektedir (81).

1.2.2.4.2 Elektrokardiyografi: MVP hastalarının EKG' si genellikle normaldir. En sık görülen anormallik inferior derivasyonlarda ST-T değişikliği ve T dalga inversiyonudur. Bunların yanında, Q dalgaları, uzamış QT intervalleri, belirgin U dalgaları ve ileti defektleri gibi çok çeşitli EKG anormallikleri ve aritmiler görülebilmektedir (Şekil 9) (86). MVP hastalarında bildirilen kanıtlanmış aritmi insidansı % 40 ile % 75 arasında yüksek bir değerdedir (55).



Şekil 9: MVP olgularında EKG Anomalileri

1.2.2.4.3 Miyokard Perfüzyon Sintigrafisi: MVP hastalarında eş zamanlı miyokard iskemisi bulunup bulunmadığının belirlenmesi için egzersiz EKG' sine yandaş olarak talyum veya teknesyum ile miyokard perfüzyon görüntülemesinin yapılması önerilir. Çünkü özellikle kadınlarda daha fazla olmak üzere egzersiz EKG, MVP' li hastalarda yanlış pozitif sonuç verebilmektedir (55, 81).

1.2.2.4.4 Kardiyak Kateterizasyon: Kardiyak kateterizasyon MVP' nin bir tanı tekniği olarak nadiren kullanılmaktadır. MVP' li hastalarda invazif hemodinamik ve anjiyografik değerlendirmeye gerek duyulmadan EKO ile gerekli olan kriterler elde edilebilmektedir. Anjiyografi ve ventrikülografi ise mitral yetersizliğin derecesini belirlemek ve koroner arter hastalığını dışlamak için kullanılmaktadır (81).

1.2.2.5 TEDAVİ

Prolapsusun hafif formlarında hafif semptom ve bulguları taşıyan, EKG' de aritmi gözlenmeyen, mitral yetmezlik (MY) bulunmayan ve asemptomatik olan hastalarda prognoz benigndir. Bu hastaların 3–5 yıllık aralar ile ekokardiyografik takibi yeterlidir.

Sinüs taşikardi veya hafif aritmilerin eşlik ettiği çarpıntı, baş dönmesi, göğüs ağrısı, anksiyete, yorgunluk ve bayılma hikâyesi olan MVP hastalarına beta bloker tedavileri uygulanmaktadır. Beloc, concor, nortan, lopresor vb. gibi beta blocker grubu ilaçlar, kardiyak nodal dokuda lokalize olan beta adrenerjik reseptörlere bağlanarak, bu reseptörlerin norepinefrin ve epinefrine bağlanmasını bloke eden ilaçlardır. Reseptörlere bağlanma, öncelikle simpatetik adrenerjik sinirlerden salınan norepinefrine bağlanma ve kanda dolaşan epinefrin ve norepinefrine bağlanma şeklinde olmaktadır. Beta blokerlar, beta adrenerjik reseptörlere bağlanan normal ligand ile bağlanma bölgesi için yarışır, kalp hızı - kan basıncı ikilisini düşürüp, kontraktilite ve vazokonstriksiyonu azaltırlar (18).

Mitral prolapsusda kapaklar kolaylıkla iltihaplanabilmektedir. İnfektif endokardit olarak isimlendirilen kapak iltihabı riski, MVP' lilerde 3–8 kat artmakta ve kapağa zarar verip hastalığın şiddetli seyretmesine neden olmaktadır. İnfektif endokarditin önlenmesi antibiyotik tedavisi ile mümkün olmaktadır (24).

Şiddetli mitral yetmezlik (MY) ve/veya sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu olan hastalara kardiyak kateterizasyon incelemesi yapılarak mitral kapak cerrahisi için değerlendirilir. Ciddi yetmezlik bulunan ve kalınlaşmış doku artışı gözlenen hastalarda mitral kapak değiştirilmesinden ziyade operasyon mortalitesinin düşük olması ve uzun dönemli mükemmel sonuçlar vermesi açısından daha çok onarım yoluna gidilmektedir (55).

1.2.3 POLİMORFİZMLER

Genetik materyalimizi oluşturan DNA (deoksiribo nükleik asit) molekülü, **gen** adı verilen ve belirli bir özelliği kodlayan birçok birim içermektedir. Kalıtımın işlevsel birimi olan genler, DNA' nın kimyasal yapıtaşları olan nükleotidlerin (A, T, G ve C) doğrusal dizisinden oluşmaktadırlar (22).

Bir geni oluşturan nükleotid dizisi (baz dizisi), genetik ifadenin son ürünü olan proteinlerin kimyasal doğasını (amino asit kompozisyonu) kodlamaktadır. Bireyin kalıtsal özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlayan nükleotid dizileri; yani genetik şifre, genellikle fiziksel ya da kimyasal dış etkenlerin (X ışını, [radyasyon](#), ultraviyole, bazı [ilaç](#) ve kimyasal maddeler, ani sıcaklık değişimleri, v.b) uyarısıyla, bazen de kendiliğinden ortaya çıkan değişiklikler sonucu bozulabilmektedir. Yeni kuşaklara aktarılacak olan kalıtsal bilgide birdenbire ortaya çıkan ve süreklilik kazanan bu değişikliklere **mutasyon** adı verilmektedir (22).

İnsan genomundaki baz dizisi değişiklikleri olarak tanımlanan mutasyonlar, bir gen bölgesinin dışında oluşabildiği gibi, gen bölgesinin içinde de meydana gelebilmekte ve aminoasit sırasını ve/veya kodlanan proteinin yapısını değiştirebilmektedir. Yapısı değişen bir proteinin fonksiyonu da bozulacağından, sonuçta klinik bulgu veren hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Marfan sendromu, kistik fibrozis, nörofibromatozis gibi genetik hastalıklar çeşitli mutasyonlar sonucu oluşan hastalıklara örnek olarak verilebilmektedir. Mutasyonların toplumda görülme sıklığı % 1' den daha azdır (79).

DNA baz dizisindeki değişiklikler, her zaman ciddi bir hastalığa neden olmadan, çoğu zaman bir popölasyondaki genetik varyasyonları oluşturabilmektedir. Eğer belirli bir genetik varyasyon, bir toplumda % 1'den daha sıklıkla görülüyorsa o zaman **polimorfizm**' den söz edilmektedir. Mutasyonlar hastalık nedeni olabilirken; polimorfizmler hastalık nedeni olmayan ve hastalığa yatkınlık oluşturabilen nükleotid değişiklikleri olarak tanımlanırlar.

1.2.3.1 TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ

Polimorfizmler, tek baz değişimi sonucu oluşuyorsa tek nükleotid polimorfizmi (**single nucleotide polymorphisms, SNP**) olarak isimlendirilir ve genom dizisindeki Adenin (A), Timin (T), Guanin (G) ve Sitozin (C) bazlarından birisinin değişmesiyle meydana gelirler. Örneğin; AAGGCTAA dizisinin **A**IGGCTAA dizisi şekline dönüşmesi ile bir SNP oluşur. Varyasyonun SNP olarak değerlendirilebilmesi için, o SNP' nin popölasyonda en az % 1 oranında görülmesi gerekmektedir (69, 76). İnsanlar arasındaki genetik farklılıkların % 90' ını oluşturan SNP' ler genomda yaklaşık her bin bazda bir meydana gelmektedir (76). İnsan haploit genomunun 3 milyar bazdan oluştuğu düşünülecek olursa, yaklaşık her bin bazda bir meydana gelen total SNP sayısının, 3 milyon civarında olduğu hesaplanabilmektedir. Genelde her 3 SNP' den ikisi C/T bazlarının değişimini içermektedir.

Genomda meydana gelen SNP' lerin yaklaşık olarak yarısı protein kodlama bölgesinde meydana gelmekte ve insanlar arasında kalıtsal varyasyonların sebebi olarak değerlendirilmektedir. Fonksiyonel bir SNP, bir proteinin aminoasit dizisini veya ekspresyonunu değiştirerek, kişinin davranış

özelliklerini, hastalığa yatkınlığını, dayanıklılığını ve tedaviye verdiği yanıtı modifiye edebilmektedir.

DNA dizisindeki farklılıklar; bakteri, virüs, toksinler, kimyasal madde ve ilaçlar gibi çevresel etkenlere ve ayrıca hastalıklara karşı bireysel yanıtta farklılıkların oluşmasına neden olabilmektedir. Bu yüzden SNP'lerin belirlenmesi, biyomedikal araştırmalarda ve farmakolojik ürünlerin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır. SNP'lerin evrim süresince stabil kalması yani kuşaklar arası geçişte fazla değişmemeleri, populasyon çalışmalarının kolay izlenmesini sağlamaktadır.

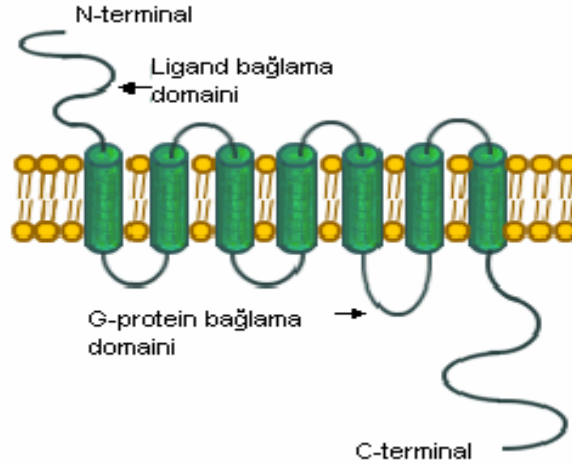
İnsan genomunun SNP haritasının çıkarılması konusunda dünyada çok sayıda grup çalışmaktadır. Bu gruplar arasında en önemli olanlar, SNP Konsorsiyumu (TSC Project) ve International HapMap Project (www.hapmap.org) gruplarıdır. SNP Konsorsiyumu, Şubat 1999' da insan genomunda eşit dağılım gösteren ~300,000 SNP' nin tanımlanması ve "fikri mülkiyet" sınırlaması olmaksızın bilginin halka aktarılmasını sağlamak amacı ile kurulmuş bir organizasyondur. Hedefi iki yıl içerisinde 300,000 SNP' yi tanımlamak olan bu konsorsiyum, 2001 yılı sonunda yayımladıkları bir raporla 1.4 milyon SNP' yi belirlediklerini açıklamışlardır (67). 2003 yılında ise HapMap projesi ile 2,8 milyon SNP' nin tanımlandığı bildirilmiştir.

SNP haritalarının tanımlanmasının kanser, diyabet, vasküler hastalıklar gibi poligenik kalıtım gösteren pek çok hastalığın çözümlenmesinde yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

SNP' ler genellikle hastalık gelişimine neden olmamakta ancak belirli hastalıkların gelişmesine yatkınlık kazandırabilmektedirler. Örneğin; kardiyovasküler hastalıklara yatkınlık, folat metabolizmasında etkili olan MTHFR (Metilentetrahidrofolat Redüktaz) genindeki C677T polimorfizmi ile ilişkilendirilmektedir. Bu tek nükleotid polimorfizmi, MTHFR geninin N-terminal katalitik bölgesinde 4. ekzonda 677. nükleotid olan Sitozinin (C) Timine (T) değişimi sonucu gelişmektedir. Bu polimorfizm MTHFR aktivitesini azaltmakta, bu da 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya ve bunun sonucu olarak da homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazma homosistein seviyesinde artışa neden olmaktadır. MTHFR' ın C677T polimorfizmi açısından T alleleline sahip bireylerin, kardiyovasküler hastalıkların gelişmesine daha yatkın oldukları belirtilmektedir (28, 47, 49).

1.2.4 ADRENERJİK RESEPTÖRLER

Adrenal medulla ve simpatik sinir sonlarından salgılanan epinefrin (adrenalin), norepinefrin (noradrenalin) ve dopamin v.b katekolaminler; tüm vücutta hücre membranlarında yer alan aynı reseptör ailesine bağlanarak etki göstermektedirler. Adrenerjik reseptörler olarak isimlendirilen bu reseptörler, membranı geçen 7 domaine sahip olan ve hücre dışı amino terminalleri ile hücre içi karboksi terminaller içeren transmembran proteinleridir (Şekil 10). Ayrıca hücre içi sinyal iletiminde önemli bir aracı molekül olan G proteini (Guanin bağlanan düzenleyici protein) ile eşleşen reseptörlerin bir sınıfını oluştururlar (80).



Şekil 10: Adrenerjik Reseptörlerin Moleküler Yapısı

Adrenerjik reseptörler, katekolamin grubundan özellikle adrenalin ve noradrenaline bağlanarak aktive olurlar. Birçok farklı hücre tipinde bulunan adrenerjik reseptörler, ikincil habercilerin sentez ve salınmasını kontrol ederek değişik fizyolojik olayları düzenlerler. Simpatik sinir sisteminin regülasyonunda önemli rol oynadıkları gibi birçok hastalığın, özellikle kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkmasına da neden olurlar (39).

Adrenerjik reseptörler, alfa (α) ve beta (β) olmak üzere 2 ana alt grupta incelenirler.

1.2.4.1 ALFA ADRENERJİK RESEPTÖRLER (ADRA)

Periferel simpatik sinir uçlarındaki α -adrenerjik reseptörler, anatomik lokalizasyonuna göre α_1 ve α_2 olmak üzere 2 ana alt gruba ayrılırlar. Vasküler, ekstrasvasküler düz kaslarda ve epikardiyal koroner arterlerde bulunan α_1 -adrenerjik reseptörler (ADRA1), postsinaptik yerleşimli olup kontraksiyondan

sorumludurlar. α_1 -adrenerjik reseptörlerin uyarılması ile periferik, mezenterik ve renal damarlarda vazokontraksiyonlar görülmektedir (41).

Vasküler düz kaslardaki α_1 -adrenerjik reseptörler, nörotransmitter salınımına yanıtta fonksiyonel bir görev üstlenmektedirler. Epinefrin ve norepinefrin nörotransmitterlerinin her ikisine de bağlanabilme özelliğine sahip olmalarına rağmen, norepinefrine daha yüksek afinite gösterirler. Ekstravasküler düz kaslardaki α_1 -adrenerjik reseptörler ise hepatik glikogenolizis ve potasyum salınımına neden olmakta ve ayrıca kalpte pozitif inotropik etkiye aracılık etmektedir (41).

α_1 -adrenerjik reseptörlerinin (ADRA1) alfa-1A (α_{1a}), -1B (α_{1b}) ve -1D (α_{1d}) olmak üzere 3 alt tipi bulunmakta ve bunlar yerleşimleri, uzunlukları ve ekzon sayıları farklı olan ADRA1A, ADRA1B ve ADRA1D genleri tarafından kodlanmaktadır (40) (Tablo 2).

Tablo 2: ADRA1A, ADRA1B ve ADRA1D Genlerinin Genel Özelliklerinin Sınıflandırılması

Gen	ADRA1A	ADRA1B	ADRA1D
Lokalizasyonu	8p21.2	5q33.3	20p13
Uzunluğu	3,03 kb	56,2 kb	27,8 kb
Ekzon Sayısı	1	2	2

α_2 -adrenerjik reseptörler (ADRA2); hem presnaptik hem de postsinaptik membranda yerleşim gösterirler. Presnaptik α_2 -adrenerjik reseptörler, noradrenalin (norepinefrin) salınımını inhibe ederek, noradrenalin salınımını kontrol altında tutmayı amaçlayan negatif feedback mekanizmasında önemli bir reseptör olarak fonksiyon görürler. Postsinaptik

α_2 -adrenerjik reseptörler, karaciğer hücrelerinde, trombositlerde ve kan damarlarının düz kaslarında yerleşmişlerdir. Bu reseptörlerin aktivasyonu, trombosit agregasyonuna ve kan damarlarında daralmaya neden olmaktadır (41).

ADRA2' nin, α_{2a} , α_{2b} ve α_{2c} olmak üzere oldukça homolog 3 alt tipi bulunmaktadır. Bunlar yerleşimi, uzunluğu ve ekzon sayısı farklı olan genler tarafından kodlanmaktadır α_{2a} alt tipi ADRA2A, α_{2b} alt tipi ADRA2B, α_{2c} alt tipi ise ADRA2C genleri tarafından kodlanmaktadır (Tablo 3) (40).

Tablo 3: ADRA2A, ADRA2B ve ADRA2C Genlerinin Genel Özelliklerinin Sınıflandırılması

Gen	ADRA2A	ADRA2B	ADRA2C
Lokalizasyonu	10q25.2	2q11.2	4p16.2
Uzunluğu	3,6 kb	3,2 kb	1,9 kb
Ekzon Sayısı	1	2	1

Tüm α -adrenerjik reseptörler sinyal iletim mekanizmalarında G-proteinini kullanırlar ancak aralarındaki farklılıklar reseptörlerin eşleştiği G-protein tipinde ortaya çıkmaktadır. α_1 -adrenerjik reseptörler Gp/Gq ile eşleşirken, α_2 -adrenerjik reseptörler Gi/Go ile eşleşmektedirler. α_1 -adrenerjik reseptörlerin Gp/Gq ile eşleşmesi sonucu fosfolipaz C (PLC) aktive olmaktadır ve bu da fosfatidil inositol 4,5-bifosfat' ı (PIP2) fosforile ederek, inositol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol' ü oluşturmaktadır. İkincil mesajcı olarak rol oynayan bu bileşikler sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımına ve kalsiyum kanallarının aktivasyonuna neden olurlar. α_2 -adrenerjik reseptörlerin Gi/Go ile eşleşmesi ise adenilat siklazın inhibisyonu ve dolayısıyla siklik AMP (cAMP) oluşumunun ayrıca transmitter salınımından sorumlu iyon olan

kalsiyumun aksiyon potansiyeli boyunca akışının azalmasına neden olmaktadır. Kalsiyumun düşük seviyeleri ise transmitter salınımında bir düşüşe öncülük etmektedir (41).

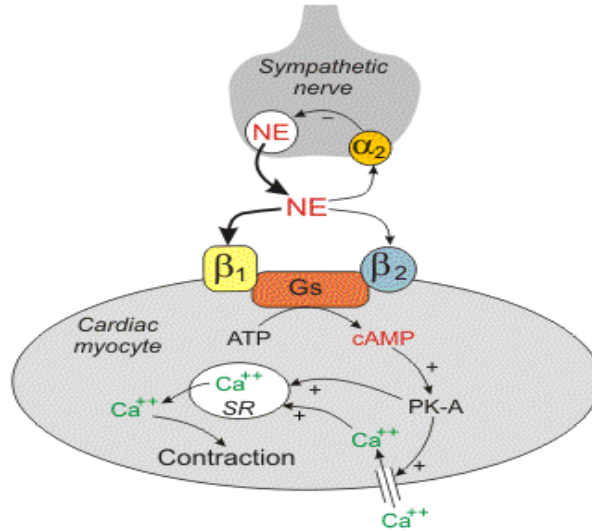
Adrenerjik bileşiklerin klinikteki kullanım alanları çok geniştir. Birçok hastalığın tedavisi adrenerjik reseptörler üstünde rol oynayan ilaçların etkisine bağlı olarak yapılabilmektedir. Örneğin alfa adrenerjik reseptör ligandları hipertansiyon tedavisinde kullanılabilir. İndoramin ve prazosin gibi ilaçlar α_1 -adrenerjik reseptör antagonistleri olup anti-hipertansif etkiye sahiptirler. α_1 -adrenerjik reseptör antagonistleri ayrıca benign prostatik hipertrofinin kontrolünde de kullanılabilirler (41).

1.2.4.2 BETA ADRENERJİK RESEPTÖRLER (ADRB)

Birçok kardiyovasküler hastalıkta hastalığa yatkınlığın ve tedaviye karşı verilen bireysel yanıtta değişkenliğin genetik polimorfizmler ile ilişkili olduğu bilinmekte, özellikle nörotransmitter ve ilaç reseptörlerinde görülen polimorfizmler büyük önem taşımaktadır. Muhtemelen en yoğun olarak çalışılmış reseptör ailesi, beta adrenerjik reseptörlerin esas model olduğu G-proteini ile eşleşen reseptörlerdir (31).

Endojen katekolaminlerden, adrenalin ve noradrenalinin hedefi olan β -adrenerjik reseptörler (β -adrenoseptörler), vücutta birçok hücre tipinde ifade edilmekte ve kardiyak, pulmoner, vasküler ve merkezi sinir sisteminin regülasyonunda rol oynamaktadırlar. Hücre içi etkilerini, stimülatör G-proteini (G_s) aracılığıyla ikincil habercilerden siklik AMP' nin (cAMP) sentez ve salınımını kontrol ederek düzenlerler (44).

Beta-adrenerjik reseptörlerin bir nörotransmitter tarafından uyarılması ile G_s-proteini reseptöre bağlanır. Uyarılmamış haldeyken reseptörden ayrı ve GDP bağlamış durumda olan G_s-proteini, reseptörce uyarıldığında GTP bağlayarak aktive olur ve ATP' den cAMP sentezleyen adenilat siklaz enzimini etkinleştirir. Enzim aktivasyonu sonucunda da hücre içi, ikinci mesajcı olan cAMP artışı gerçekleşmekte bu da cAMP bağımlı protein kinazı (PK-A) aktive etmektedir. Aktif PK-A da kalsiyum kanallarını fosforilleyerek hücre içine kalsiyum girişini ve dolayısıyla da kalpteki sarkoplazmik retikulumdan Ca⁺⁺ salınımını arttırmaktadır. Tüm bu etkiler sonucu; inotrofi (kontraktile) artış görülmektedir (Şekil 11). G_s-proteini aktivasyonu ayrıca kalp hızında da (kronotrofi) bir artışa neden olmaktadır (17).



Şekil 11: β -Adrenerjik Reseptörlerin G_s-proteini Aracılı Hücre İçi Etki Mekanizması (NE: Norepinefrin, G_s: Stimülatör G-proteini, PK-A: cAMP bağımlı protein kinaz, SR: Sarkoplazmik Retikulum)

Farmakolojik, biyokimyasal ve moleküler biyolojik çalışmalar sonucu, β_1 , β_2 ve β_3 olmak üzere 3 β -AR alt tipi tanımlanmıştır (33). Kalp hem β_1 hem de β_2 adrenerjik reseptörlerin her ikisini de içerir ancak hem sayıca hem de

fonksiyonel olarak baskın olan tip β_1 AR' dir (9). β_3 -adrenerjik reseptörü ise esas olarak beyaz ve kahverengi yağ dokusunda ifade edilmektedir.

1.2.4.2.1 Beta–1 Adrenerjik Reseptörü (ADR β_1)

Kalpte ifade edilen β_1 -adrenerjik reseptörü (ADR β_1) primer olarak miyokardiyumda yerleşim göstermektedir. Epinefrin ve norepinefrine yaklaşık olarak eşit afinite ile bağlanarak endojen katekolaminlere yanıt olarak kardiyak inotrofi ve kronotrofiyi düzenlerler. Nitekim normal fizyolojik şartlar altında, kalp hızı ve kontraktilite ADR β_1 ' in kontrolü altındadır (10, 33).

β_1 -adrenerjik reseptörü, kromozom 10q24–26' da lokalize olan, intron içermeyen, tek ekzondan oluşan ADR β_1 geni tarafından kodlanmaktadır (90). İlk kez 1987 yılında klonlanmış ve dizisi çıkarılmış ADR β_1 geni, 86 bp'lik (baz çifti) kısa 5'-UTR (untranslated region), 900 bp' lik 3' UTR ve 477 aminoasitlik bir proteini kodlayan bir açık okuma çerçevesinden (*open reading frame*) oluşmaktadır (36).

ADR β_1 geni insan popülasyonunda polimorfik varyasyonlar gösterebilmektedir. Podlowski ve ark. ADR β_1 geninde 7 farklı SNP (tek nükleotid polimorfizmi) tanımlamışlar ve her SNP'nin bir aminoasit değişimine öncülük ettiğini ortaya çıkarmışlardır (59). Tanımlanan Ser49Gly, Ala59Ser, Gly389Arg, Arg399Cys, His402Arg, Thr404Ala ve Pro418Ala polimorfizmlerinden Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin fonksiyonel öneme sahip olduğu düşünülmektedir (91) (Tablo 4). Gendeki bu iki polimorfik bölge, kardiyovasküler hastalıkların birçok tipinde genetik yatkınlık ile ilişkilendirildiği gibi; obezite, hipertansiyon, diyabet ve konjestif kalp

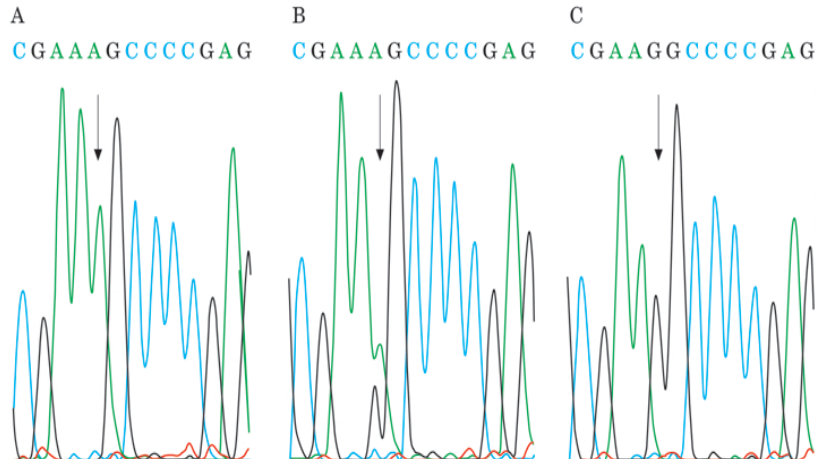
yetmezliğini içeren pek çok kardiyovasküler risk faktörleri ile de ilişkilendirilmektedir (31).

Tablo 4: ADR β 1 Geninde Tanımlanan Tek Nükleotid Polimorfizmleri

Pozisyon	SNP	Aminoasit Pozisyonu	Aminoasit Değişimi	Regülâtör Bölge
145	A/G	49	Ser→Gly	N-Terminal
175	G/T	59	Ala→Ser	N-Terminal
1165	G/C	389	Gly→Arg	C-Terminal
1195	C/T	399	Arg→Cys	C-Terminal
1205	A/G	402	His→Arg	C-Terminal
1210	A/G	404	Thr→Ala	C-Terminal
1252	C/G	418	Pro→Ala	C-Terminal

1.2.4.2.1.1 Beta–1 Adrenerjik Reseptörü (ADR β 1) Ser49Gly Polimorfizmi

Reseptörün hücre dışı amino terminal bölgesinde 145. nükleotidde Adenin (A) bazının Guanin bazına değişimini içeren bu polimorfizm, 49. kodonda Serin aminoasidinin Glisin aminoasidine dönüşümüne neden olmaktadır (Şekil 12). ADR β 1 Ser49Gly polimorfizmi için AA (Ser/Ser) yabani tip, AG (Ser/Gly) heterozigot ve GG (Gly/Gly) mutant genotipleri oluşturmaktadır. Bu polimorfizmin Gly49 allel sıklığı yaklaşık olarak % 15' tir (7, 44).



Şekil 12: ADR β 1 geninin sekans analizi. Ser49Gly yabani tipin 141–153 arası nükleotid dizisi (A), Ser49Gly varyantının heterozigot formu (B), homozigot mutant formu (C).

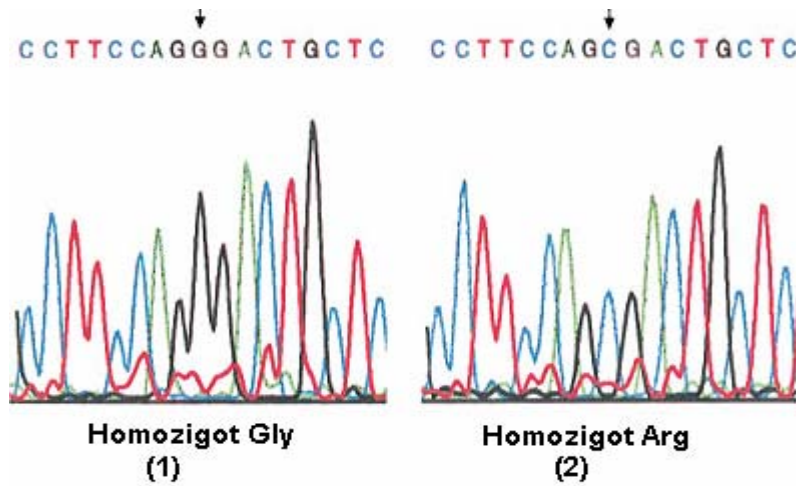
Deneysel delesyon çalışmaları, reseptörün amino terminal bölgesinin, reseptörün membran içinde katlanmasında önemli bir bölge olduğunu göstermektedir (29). N-terminal bölgede meydana gelen polimorfizmler, katekolamin bağlama ve down-regülasyon için esansiyel olan transmembran ve intraselüler bölgelerde konformasyonel değişikliğe neden olabilmektedir. Ser49Gly polimorfizminde 49. pozisyonda Glisin aminoasidinin Serin aminoasidi yerine geçmesi, reseptörün katekolamin duyarlılığında ve down-regülasyonunda değişiklikler ile sonuçlanmaktadır. Gly49 polimorfik reseptörünün uzun-sürelili agonist aktivasyonu ile down-regülasyonu, Ser49 varyantından önemli derecede yüksektir (7, 44, 91).

Ser49Gly polimorfizmi, farklı populasyonlarda birçok kardiyovasküler hastalık tipinde araştırılmıştır. Örneğin İdiyopatik dilate kardiyomyopati (IDC) hastalarda, ADR β 1 geninde 49.pozisyonda Ser aminoasidi yerine Gly aminoasidinin bulunması düşük kalp krizi riski ile ilişkilendirilirken (32); kalp yetmezliği olan hastalarda myokardiyal koruma sağladığı ve morbiditeyi ve

mortaliteyi azalttığı ortaya konmuştur (32, 33). Bu nedenle hastalık sürecinde avantaj sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca beta bloker tedavisinin bu polimorfizmi taşıyan bireylerde daha etkili olabileceği de öne sürülmektedir (7).

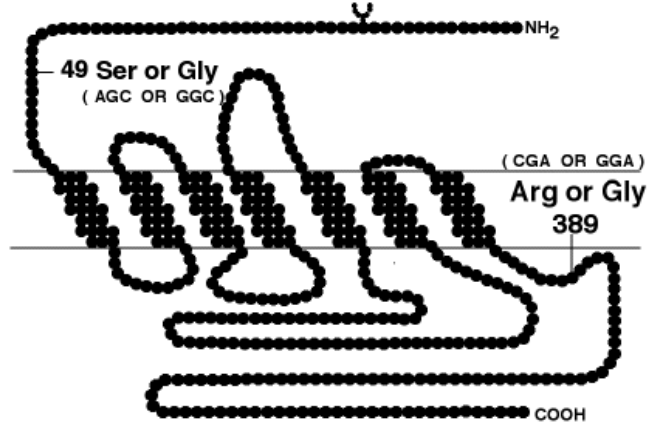
1.2.4.2.1.2 Beta-1 Adrenerjik Reseptörü (ADR β 1) Gly389Arg Polimorfizmi

Gly389Arg polimorfizmi reseptörün hücre içi sitoplazmik kuyruğunda, C-terminal bölgesinde meydana gelmektedir. 1165. nükleotide karşılık gelen Guanin (G) bazının Sitozin'e (C) değişimini içeren bu polimorfizm sonucunda 389. kodonda Glisin (Gly) aminoasidi Arjinin (Arg) aminoasidine değişmektedir (Şekil 13, 14). ADR β 1 Gly389Arg polimorfizmi için GG (Gly/Gly) yabani tip, GC (Gly/Arg) heterozigot ve CC (Arg/Arg) mutant genotipleri oluşturmaktadır. Gly389 allel frekansının ırksal farklılıklar gösterdiği ve bu oranların beyaz ırkta yaklaşık olarak % 27 iken, siyah ırkta % 42 olduğu belirlenmiştir (53, 91).



Şekil 13: ADR β 1 geninin Gly389Arg Polimorfizmi için Sekans Analizi.
389Gly/Gly yabani tipi (1), 389Arg/Arg homozigot mutant formu (2).

Polimorfizmin gerçekleştiği bölgenin G_s-proteini ile eşleşmede büyük öneme sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan fonksiyonel çalışmalar; Arg389 varyantının, Gly389 varyantı ile kıyaslandığında, 3–4 kat fazla adenilat siklaz aktivitesi sergilediğini göstermektedir ki bu farklılığın G_s-proteini ile daha fazla eşleşmeden kaynaklandığı ortaya çıkarılmıştır (44).



Şekil 14: ADRβ1 Yapısı ve Fonksiyonel SNP' ler (Ser49Gly ve Gly389Arg).

ADRβ1 geninde Gly389Arg polimorfizminin gerçekleştiği bölge oldukça korunmuş bir bölgedir. Türler arasında 389. pozisyonda sadece insanda Arg (R) ya da Gly (G) bulunurken diğer türlerde Arg (R) bulunmaktadır (63) (Şekil 15).

			389															
human	Homo sapiens	P	D	F	R	K	A	F	Q	G/R	L	L	C	C	A	R	R	A
monkey	Macaca mulatta	P	D	F	R	N	A	F	Q	R	L	L	C	C	A	R	R	A
mouse	Mus musculus	P	D	F	R	K	A	F	Q	R	L	L	C	C	A	R	R	A
rat	Rattus norvegicus	P	D	F	R	K	A	F	Q	R	L	L	C	C	A	R	R	A
dog	Canis familiaris	P	D	F	R	R	A	F	Q	R	L	L	C	C	A	R	R	A
frog	Xenopus laevis	P	D	F	R	K	A	F	K	R	L	L	C	C	P	K	K	A
sheep	Ovis aries	P	D	F	R	K	A	F	Q	R	L	L	C	C	A	R	R	A
turkey	Meleagris gallopavo	P	D	F	R	K	A	F	K	R	L	L	C	F	P	R	K	A
pig	Sus scrofa	P	D	F	R	K	A	F	Q	R	L	L	C	C	A	R	R	V

Şekil 15: Farlı türler arasındaki 379–397 arası aminoasit sekansları

Bilindiği üzere, β -blockerlar ile yapılan tedaviye karşı oluşan yanıtta bireyler arasında farklılıklar gözlenebilmektedir. İlaça karşı oluşan farklı yanıtların renin seviyeleri, ırk ve farmakokinetikteki farklılıkların sonucu olabildiği gibi; günümüzde artık β_1 -adrenerjik reseptör genotipindeki varyasyonların da farklılıkta etkili olan diğer bir faktör olarak değerlendirilmesi olasıdır. Örneğin; β -blockerlar ile tedavide siyah ırk, beyaz ırka kıyasla daha zayıf cevap vermektedir. Arg389 alleli beyaz ırkın % 71–78’ inde görülürken, siyah ırkın sadece % 58’ inde görülmektedir ki; bu da β_1 -adrenerjik reseptör genotipindeki değişiklikliğin, iki etnik grup arasında gözlenen farklılığın açıklaması olabileceğini göstermektedir Arg389 genotipi ayrıca hipertansiyon ve kalp krizi riskinde önemli derecede artış ile de ilişkilendirilmektedir (13).

1.2.4.2.2 Beta–2 Adrenerjik Reseptörü (ADR β 2)

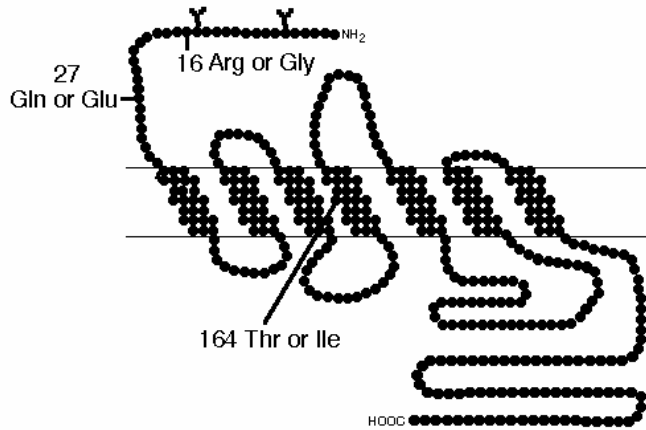
Bu reseptör esas olarak bronşiyal ve vasküler düz kaslarda ve büyük koroner arterlerde yerleşmiştir. Miyokard da ise %20–25 oranında β_2 -reseptörü bulunmaktadır. ADR β 2 epinefrine, norepinefrine oranla 30 kat daha büyük bir afinite ile bağlanır. β_2 -adrenerjik reseptörleri, bronkodilatör ilaçların başlıca hedefleridir ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde ve ilaç tedavisinde etkili oldukları düşünülmektedir (3).

β_2 -adrenerjik reseptörü 5q33.1’ de lokalize intron içermeyen ADR β 2 geni tarafından kodlanmaktadır. Tek bir ekzon içeren gen, 411 aminoasitlik protein kodlamaktadır. ADR β 2 geni polimorfiktir ve kodlayan bölgede 9 SNP tanımlanmıştır (40) (Tablo 21).

Tablo 5: *ADR β 2* Geninde Tanımlanan Tek Nükleotid Polimorfizmleri (54).

Pozisyon	SNP	Aminoasit Pozisyonu	Aminoasit Değişimi	Regülatör Bölge
46	A/G	16	Arg→Gly	N-Terminal
79	C/G	27	Gln→Glu	N-Terminal
100	G/A	34	Val→Met	1.TMD
252	A/G	84	Leu	2.TMD
491	C/T	164	Thr→Ile	4.TMD
532	A/C	175	Arg	4.TMD
1053	C/G	351	Gly	C-Terminal
1098	C/T	366	Tyr	C-Terminal
1239	C/G/T	413	Leu	C-Terminal

Tanımlanmış olan bu 9 SNP'den 46., 79., ve 491. pozisyonadaki tek nükleotid değişimleri fonksiyonel bir öneme sahiptir (Şekil 16). Bunlardan Val34Met polimorfizmi çok nadir olarak görülmekte ve reseptör fonksiyonunu değiştirmemektedir; geriye kalan diğer 5 polimorfizmin ise fonksiyonel etkisi bulunmamaktadır (12).



Şekil 16: *ADR β 2* Yapısı ve Fonksiyonel SNP'ler (Arg16Gly, Gln27Glu, Ile164Thr).

ADR β 2 polimorfizmleri, β ₂-adrenerjik reseptörlerin duyarlılığını ve fonksiyonunu önemli derecede etkilemekte; astım, obezite, hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi pek çok kardiyovasküler hastalık riskiyle ayrıca hastalığın ilerleyiş hızındaki artış ile ilişkilendirilmektedir (23).

1.2.4.2.2.1 Beta–2 Adrenerjik Reseptörü Arg16Gly Polimorfizmi

Arg16Gly polimorfizmi, reseptörün hücre dışı N- terminal bölgesinde 46. nükleotidde gerçekleşmektedir. Adenin (A) bazının Guanin (G) bazına değişimini içeren bu polimorfizm, 16. kodonda Arjinin (Arg) aminoasidinin Glisin (Gly) aminoasidine dönüşümüne neden olmaktadır (44).

ADR β 2' deki Arg16Gly polimorfizminde AA (Arg/Arg) yabani tip, AG (Arg/Gly) heterozigot ve GG (Gly/Gly) mutant genotiplerini oluşturmaktadır (44). Arg16 ve Gly16 allel sıklıkları sırasıyla, %35 ve %65 olarak tespit edilmiştir.

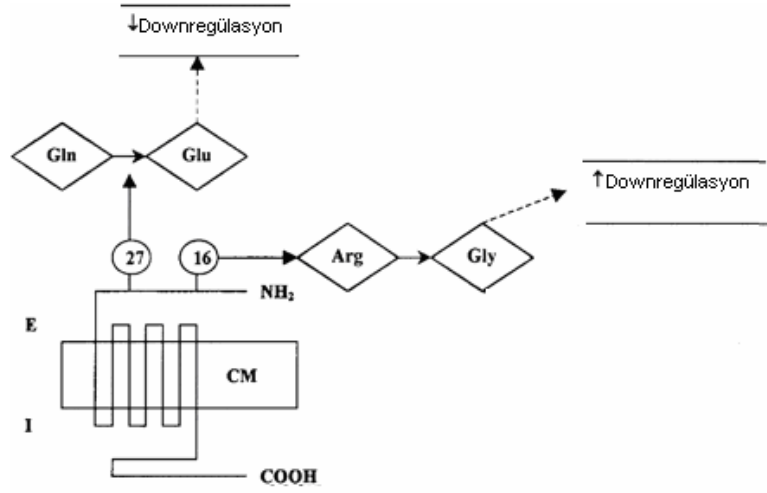
Arg16Gly polimorfizmi reseptör fonksiyonunu değiştirmekte; Gly16 genotipli reseptör varyantında, agonist-indüklü down-regülasyonda önemli derecede artış gözlenmektedir (23, 43).

1.2.4.2.2.2 Beta–2 Adrenerjik Reseptörü Gln27Glu Polimorfizmi

Gln27Glu polimorfizmi, reseptörün N-terminal bölgesinde 79. nükleotidde Sitozin (C) bazının Guanin' e (G) değişimi sonucunda, 27. kodonda Glutamin (Gln) aminoasidinin Glutamik aside (Glu) dönüşümünü içermektedir. ADR β 2' deki Gln27Glu polimorfizmi için CC (Gln/Gln) yabani tip, CG (Glu/Glu) heterozigot ve GG (Glu/Glu) mutant genotipi oluşturmaktadır (23).

Gln27 ve Glu27' nin allel sıklıkları sırasıyla; % 55 ve % 45' tir (76). Arg16Gly polimorfizmindeki Gly16 genotipinin reseptör üzerindeki etkisine zıt olarak, Gln27Glu polimorfizmindeki Glu27 genotipli reseptörün, down-regülasyona karşı dirençli olduğu bulunmuştur (Şekil 17) (43).

Gln27Glu polimorfizmi romatoid artrit, koroner arter hastalığı, yüksek trigliserid seviyeleri, yüksek kan basıncı ve ani kardiyak ölüm riski ile ilişkilendirilmektedir (1, 74).



Şekil 17: *β₂-adrenergik Reseptörün Polimorfik Bölgelerinin (Arg16Gly, Gln27Glu) Lokalizasyonu ve İlgili Fenotipleri ile Şematik Açıklaması.*

1.2.4.2.2.3 Beta-2 Adrenergik Reseptörü Ile164Thr Polimorfizmi

Ile164Thr polimorfizmi reseptörün 4. transmembran domaininde gerçekleşmektedir. 491. nükleotide karşılık gelen Timin (T) bazının Sitozin' e (C) değişimini içeren bu polimorfizmde, 164. kodondaki İzolösin (İle) aminoasidi Treonin' e (Thr) değişmektedir. Bu polimorfizm ADRβ₂' deki diğer iki polimorfizme (Arg16Gly, Gln27Glu) kıyasla daha nadir görülmektedir (43).

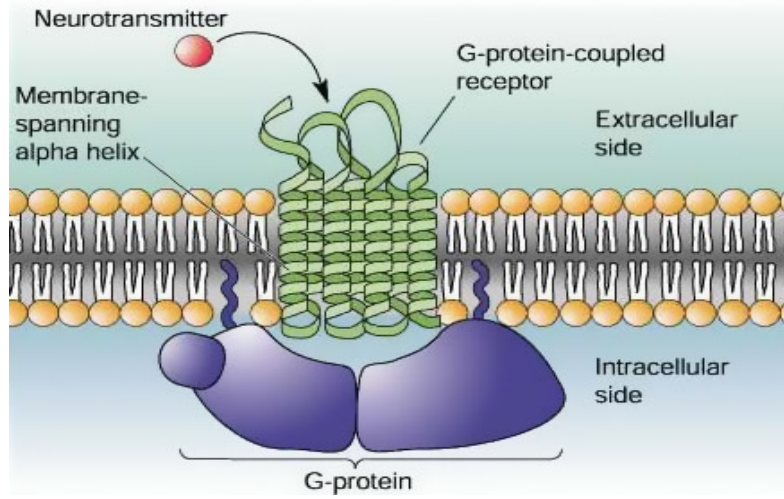
ADR β 2' deki Ile164Thr polimorfizmi için TT (Ile/Ile) yabani tip, TC (Ile/Thr) heterozigot, CC (Thr/Thr) mutant genotipleri belirlemektedir (88).

Polimorfizmin gerçekleştiği bölge, β ₂-agonistleri ile etkileşimde ve reseptör aktivasyonunda önemli olan bir bölgedir. Ile164Thr polimorfizmi; ADR β 2 agonistlerine karşı azalmış afinite, reseptör-G_s-proteini interaksiyonunda azalma ve agonistle-uyarılmış adenilat siklaz aktivitesinde %50 dşuş gibi sonuçlar doğurmaktadır (11).

Beta 2 adrenerjik reseptör polimorfizmleri, konjestif kalp yetmezliği hastalarında, hastalık modifiye ediciler olarak rol oynamaktadırlar. Yapılan yeni bir çalışmada idiopatik dilate ya da iskemik kardiyomiyopatili bireylerde hayatta kalma oranının yabani tip genotipinde % 76 iken; polimorfik Thr164 taşıyıcılarında % 42 olduğu belirlenmiştir (63).

1.2.5 G-PROTEİNİ (*Guanine Nucleotide Binding Protein*)

Hücre içi iletişimde önemli aracı molekül olan G-proteini, şitli reseptör ve hücre içi sinyal yolaklarını aktive ederek fonksiyon görmektedir. Dopamin, adrenalin, noradrenalin, serotonin (5HT–3 reseptörü dışında) gibi birçok nörotransmitter hücre içi etkilerini, G-proteini bağlantılı reseptörler aracılığıyla göstermektedir (Şekil 18) (15).



Şekil 18: *G-proteini ve Eşleştiği Reseptör*

G proteini, hücre zarının bir parçası olmayıp zarın iç yüzeyiyle ilişkidir. Alfa, beta ve gama adı verilen 3 alt birimden oluşur. Alfa alt birimi reseptör ve etkinleştirilecek enzim bağlantısını kurarken, beta ve gama alt birimleri doğrudan iyon kanallarını etkilemektedir. Biyokimyasal ve farmakolojik çalışmalar, Gs, Gi, Go, Gq, Gt olmak üzere beş majör G-proteini tipi olduğunu göstermektedir (15).

G-proteini, guanozindifosfat (GDP) ve guanozintrifosfat (GTP) ile çalıştığı için bu ad verilmiştir. Uyarılmamış koşulda GDP bağlamış durumda olan G-proteini, reseptörden ayrıdır. Reseptör ile uyarıldığında GTP bağlayarak aktive olmakta ve ikincil haberci (cAMP) sentezleyen adenilat siklaz enzimini etkinleştirerek, hücre içi biyokimyasal basamakları başlatmakta veya doğrudan iyon kanallarının etkinliğini düzenlemektedir (65, 68).

G-proteini, işlevi ve yapısı farklı, alfa alt birim proteinlerine göre adlandırılırlar. Adenilat siklaz enzimini etkinleştirerek siklik AMP (cAMP)

miktarını arttıran alfa alt ünitesini içeren G proteini “G_s (stimülatör G-proteini)” adını alır. Beta-adrenerjik reseptörler, G_s-proteini aracılığıyla, adenilat siklaz enzimi ile kenetlenirler (65).

Beta-adrenerjik reseptörlere nörotransmitter bağlanmasıyla reseptörün uzaysal konumu değişir ve G_s-proteinine bağlanırlar. G_s-proteini üzerinde bağlı bulunan GDP, yerini GTP’ ye bırakır ve alfa alt birimi beta ve gama birimlerinden ayrılır. Serbest kalan alfa alt birimi adenilat siklaza bağlanarak onu etkinleştirir ve böylece cAMP yapımı artar. cAMP artışı; kalpteki kalsiyum kanallarını direk etkileyerek, kalsiyum konsantrasyonunu ve sarkoplazmik retikulumdan Ca⁺⁺ salınımını arttırır. Sonuç olarak kalp atım sayısı, impuls iletim hızı ve kontraktilite artar. Alfa alt birimi adenilat siklazı etkinleştirirken bağlı bulunan GTP, GDP’ ye dönüşmektedir. Bunun sonucunda alfa ile adenilat siklaz ayrılır ve alfa, beta ve gama alt birimleri tekrar bir araya gelerek etkinlik sonlandırılır (65,68).

G_s-proteini aracılı sinyal yolağındaki anormalliklerin, kardiyovasküler hastalıkların patogenezendeki nedenlerden biri olabileceği düşünülmektedir. Özellikle G_s-proteininin β-3 alt birimini kodlayan *GNB3 geni*’ ndeki C825T polimorfizmi birçok kardiyovasküler risk faktörüyle ilişkilendirilmiştir (64).

1.2.5.1 GNB3 Geni (*Guanine Nucleotide-Binding Protein, Beta-3*)

Kromozom 12p13.31’ de yerleşim gösteren GNB3 geni, heterotrimerik G-proteininin, alfa alt birimlerinin önemli regülatörleri olan beta alt birimini kodlamaktadır. 11 ekzon içeren bu gen, 340 aminoasitlik bir proteini şifreler (40).

GNB3 gen varyasyonlarının; koroner arter hastalığı (CAD), miyokardiyal infarktüs (MI) gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklardaki rolünü belirlemek için yapılan çalışmalar sonucu GNB3 geninde 5 polimorfizm belirlenmiştir. Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) topluluğunun araştırıp tanımladığı polimorfizmler Tablo 6' de gösterilmiştir (64).

Tablo 6: LURIC çalışmasında araştırılan GNB3 polimorfizmleri (64).

Polimorfizm	Genomik Lokalizasyonu	Bölge
-1429G>A (rs5441)	-350	Promotor
IVS5+41G>A	2906	İntron 5
657T>A rs(28395782)	3725	Ekzon 9
814G>A (rs5442)	5489	Ekzon 10
825C>T (rs5443)	5500	Ekzon 10

Tanımlanan bu polimorfizmler içinde en çok araştırılan ve birçok klinik rahatsızlıkta genetik marker olabileceği öne sürülen SNP, C825T polimorfizmidir (85, 89).

1.2.5.1.1 GNB3 Geni C825T Polimorfizmi

C825T polimorfizmi GNB3 geninin 10. ekzonunda meydana gelen yaygın bir "silent mutasyon" dur. 825. nükleotide karşılık gelen Sitozin (C) bazının Timin (T) bazına değişmesi, 41 aminoasitlik bir delesyon ile kısaltılmış bir splice varyantın ekspresyonuna neden olmakta ve bu değişim G-protein aktivasyonunda artışa öncülük etmektedir (64).

GNB3 genindeki C825T polimorfizmi için CC yabanil tip, CT heterozigot ve TT mutant genotipleri oluşturmaktadır (85).

825T alleli, hipertansiyon, obezite, diyabet veya dislipidemi içeren birçok kardiyovasküler risk faktörüyle ilişkilendirilmektedir (46, 60, 70, 71).

1.2.6 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 gen polimorfizmlerinin belirlenmesinde en sık kullanılan yöntem Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonrası Restriksiyon Enzimi Uzunluk Polimorfizm (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) yöntemidir. Bu yöntemin yanı sıra, gerçek zamanlı PCR (*real time polymerase chain reaction, RT-PCR*) ile LightCycler (LC) cihazında floresan boya işaretli hibridizasyon problemlerinin kullanımına dayalı Floresan Rezonans Enerji Transferi (FRET) yöntemi ile genotiplendirme yapılabilmektedir.

1.2.6.1 POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU/ RESTRİKSİYON ENZİMİ UZUNLUK POLİMORFİZMİ (PCR/RFLP)

1.2.6.1.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction = PCR), herhangi bir organizmaya ait genomik DNA' da, dizisi bilinen herhangi bir bölgenin çoğaltılmasına (amplifikasyon) olanak veren *in vitro* DNA sentezi yöntemidir. PCR, tekrarlanan 3 ana basamaktan oluşur:

1. Amplifiye edilecek çift iplikli DNA' nın yüksek sıcaklıkta denatürasyonu (denaturation)

2. Primerlerin özgül hibridizasyona olanak verecek sıcaklıkta (T_m değerinin $3-5^{\circ}\text{C}$ altındaki sıcaklık), hedef bölgelere bağlanmaları (annealing)

3. Taq DNA polimeraz enziminin en yüksek aktivite gösterdiği 72°C sıcaklıkta, zincirlerin primerlerden itibaren uzamaları (elongation)

PCR' da gerekli olan bileşenler;

1. Amplifiye edilecek hedef DNA dizisini içeren kalıp DNA,
2. Amplifiye edilecek hedef DNA dizisinin komplementeri olacak şekilde seçilmiş kısa primerler,
3. Zincirin uzama reaksiyonunu gerçekleştiren termostabil karakterde Taq DNA Polimeraz enzimi.

Primerler, genomik DNA' daki hedef bölge ile hibridize olabilen, 15–20 nükleotid uzunluğunda ve sentetik olarak sentez edilen tek zincirli oligonükleotidlerdir. Hedef bölgeye özgül uygun primer çiftinin (forward ve reverse primer) doğru seçimi oldukça önemlidir. Denatürasyonun ardından primerlerin bağlanma aşamasındaki T_m değerinin saptanması, PCR reaksiyonunun gerçekleşmesi açısından büyük öneme sahiptir ve yandaki formül ile kolayca hesaplanabilir: $T_m = [4^{\circ}\text{C} (G+C) + 2^{\circ}\text{C} (A+T)]$.

Zincirin uzama reaksiyonunu gerçekleştiren Taq DNA polimeraz enzimi, *Thermus aquaticus* bakterisinden elde edilen, optimal aktivitesini 72°C ' de gösteren ve 94°C ' de bile aktivitesini kaybetmeyen bir enzimdir. Taq DNA polimerazın görevi, tek zincirli DNA' ya bağlanmış komplementer

dizilerden itibaren DNA'yı çoğaltmaktır. Polimeraz enzimleri, aktivite gösterebilmek için Mg^{2+} iyonlarına ihtiyaç duyarlar; Mg^{2+} iyonları, Taq enziminin kofaktörü olarak işlev görürler. Bu nedenle, en uygun $MgCl_2$ konsantrasyonunun oluşturulması gerekmektedir. Mg^{2+} konsantrasyonunun fazla olduğu reaksiyonlarda hatalı eşleşmeler meydana gelirken, düşük olduğu reaksiyonlarda yeterli miktarda hibridizasyon gerçekleşmemektedir.

Zincir, tek iplikli hedef DNA'ya komplementer olan primer ile başlar ve Taq DNA polimeraz, ortamdaki dNTP'leri (deoksिनुकлеотид trifosfat) kullanarak zinciri uzatır. dNTP'ler (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) Taq DNA polimerazın substratlarıdır. Sonuçta tek iplikli DNA çift iplikli forma gelir. PCR ile denatürasyon, bağlanma ve uzama adımlarının tekrarlarına dayanan 20–40 döngü sonrasında hedef DNA'nın milyon kopyası oluşturulur.

1.2.6.1.2 Restriksiyon Enzimi Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) belirlenmesi için kullanılan moleküler biyolojik yöntemlerden biri restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP) yöntemidir.

Restriksiyon endonükleaz enzimleri, çift sarmal DNA'yı özgül baz dizilerinden kesen ve bu şekilde DNA ile çalışılmasını mümkün kılan çok önemli enzimlerdir. Bu enzimler ile insan DNA'sı, 1.000 – 10.000 baz çifti uzunluğundaki fragmanlara ayrılabilir.

Bakterilerin büyük bir bölümü bir veya birkaç türde restriksiyon enzimi sentezlerler. Bu enzimler, bakterilere dışarıdan giren yabancı genetik materyalleri ayrıştırarak mutasyonları önler ve böylece bakteri DNA'sını

korurlar. Bakterilere özgül olan bu enzimler, çift iplikli DNA (dsDNA) üzerinde özgün bir bölgeyi ('palindrom') tanır ve dsDNA' nın her iki zincirindeki fosfodiester bağına keserek DNA' yı tanıdıkları kesim noktalarından parçalara ayırırlar. Günümüzde 500' e yakın restriksiyon enzimi değişik mikroorganizmalardan elde edilmektedir. İsimleri, izole edildikleri bakterinin ilk üç harfi ile; aynı bakteriden birkaç enzim elde edildi ise de ek olarak Roma rakamı ile belirtilmektedir (78).

RFLP yönteminde, örnek DNA bir veya daha fazla restriksiyon endonükleaz ile kesildikten sonra, fragmanlar moleküler büyüklüklerine göre jel elektroforezinde ayrıştırılır. Moleküler ağırlık standardı (marker) yardımıyla, fragmanların moleküler ağırlıkları belirlenir. Jel, etidyum bromid ile boyandıktan sonra, fragmanlar UV (260 nm) ışık altında görünür hale getirilir ve değerlendirilir.

1.2.6.2 LIGHTCYCLER SİSTEMİ

Gerçek zamanlı (real-time) bir PCR cihazı olan LightCycler ile polimorfik DNA bölgelerinin kantifikasyonu, tek nükleotid polimorfizm genotiplendirilmeleri ve mutasyon analizleri yapılabilmektedir. Bu teknik nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı artış gösteren floresan sinyalinin ölçülerek kısa sürede kantitatif değerlerin elde edilmesine olanak sağlar. Oldukça hızlı ısıtma ve soğutma kapasitesi sayesinde 30–40 PCR döngüsü 20–30 dakika içinde gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca sistemdeki erime eğrisi analizi ile mutasyonların ve SNP' lerin belirlenmesi ve genotiplendirilmesi mümkün olabilmektedir (52). Bu yöntem sayesinde PCR' dan sonra

herhangi ek bir manuel işleme ihtiyaç duyulmadığı için kontaminasyon riski de en aza indirgenmektedir (50).

LC cihazı ile genotipleme çalışmalarında hedefe özgül primerlerin yanında, özgül hibridizasyon problemleri kullanılmaktadır. Bu hibridizasyon problemleri, floresan boya ile işaretlenen sekansa özgü oligonükleotid problemlerdir. Hibridizasyon problemlerinin bir tanesi potansiyel mutasyon bölgesini kapsamakta ve *mutasyon probu* olarak adlandırılmakta, diğer prob ise bağlanma probu (*anchor probu*) olarak isimlendirilmektedir. Mutasyon ve bağlanma problemleri, DNA ipliğine baş-kuyruk pozisyonunda hibridize olacak şekilde dizayn edilirler.

Araştırılan gen bölgesi, o bölgeye özgül iki primer ile amplifiye edildikten sonra, oluşan ampikon bir sonraki döngünün annealing aşamasında özgül hibridizasyon problemleri ile tespit edilir.

Hibridizasyon problemlerinden 1. oligo, 3' ucundan fluorescein (donör boya) ile 2.oligo ise, 5' ucundan LC Red 640 (alıcı boya) ile işaretlenirler. PCR' in denatürasyon aşaması boyunca hibridizasyon olmadığından bu fazda floresan ölçülmemektedir. Annealing aşamasında, iki oligonükleotid DNA fragmentine baş-kuyruk pozisyonunda bağlandığı için bu pozisyonda hibridize olduklarında iki floresan boya birbirine çok yaklaşmış olur. Fluorescein ile işaretli 1.oligo, LC cihazının ışık kaynağından (LED- Light Emitting diode) yayılan 470 nm' deki mavi ışık ile uyarılarak uzun dalga boyundaki (530 nm) yeşil floresan ışığı yayar. 530 nm' den yayılan enerji ikinci hibridizasyon probuna aktararak onu uyarır ve farklı bir dalga boyunda (640 nm) kırmızı

floresan ışık yayılmasına neden olur. İki prob arasındaki bu enerji transferi, **Floresans Rezonans Enerji Transferi** yani FRET olarak tanımlanır.

Enerji transferinin etkili olabilmesi için iki boya molekülü arasındaki mesafenin çok az olması gerekmektedir (1–5 nükleotid arası). Bu yüzden oligonükleotidlerin baş-kuyuk pozisyonundaki amplifikasyonu çok önemlidir. LC Red 640 ölçümü LC cihazındaki optik ünitenin ikinci kanalından (F2) maksimum ışımanın olduğu annealing fazının sonunda yapılır.

Annealing fazından sonra, sıcaklık artar ve uzama (elongation) aşamasında hibridizasyon problemleri amplicondan ayrılırlar.

Elongation aşamasından sonra oluşan ampliconlar çift iplikli olduklarından hibridizasyon problemleri ile hibridize olamazlar. Bu durumda, iki prob birbirlerinden uzakta ve serbest halde oldukları için FRET gerçekleşemez.

Donör prob daima fluorescein ile işaretlenirken, alıcı prob LC Red 640 veya LC Red 705 ile işaretlenebilir. LC Red 705 aynı LC Red 640 gibi fluorescein' in yaydığı 530 nm' deki yeşil ışık ile uyarılabilirken, ondan farklı olarak 705 nm' de kırmızı ışık yaymaktadır.

Erime Eğrisi Analizi

LC cihazı kullanılarak Real-Time PCR yöntemiyle, SNP' lerin genotiplendirilmesi ve mutasyonların analizi oldukça hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılabilmektedir. Erime eğrisi (melting curve) analizi ile diziye özgül hibridizasyon problemlerinin, tek iplikli DNA' ya hibridize olmaları sıcaklığa bağlı olarak izlenebilmektedir.

Her çift iplikli DNA (dsDNA) molekülünün, kendine özgül bir erime sıcaklığı (T_m) vardır. Erime sıcaklığı DNA molekülünün % 50' sinin tek iplikli hale geldiği sıcaklık olarak tanımlanmaktadır.

PCR işleminde, floresan boyalar ile işaretli diziyeye özgül proplar ve amplifikasyonu sağlayacak primerler ile hedef gen bölgesi amplifiye edilir. Bu aşamada mutasyon ile ilgili bir bilgiye henüz ulaşılamaz. Ancak PCR işlemi tamamlandıktan sonra, erime eğrisi analizine geçilir. Floresandaki değişiklikler sürekli ölçülerek hastanın o gen için genotiplendirilmesi yapılabilir.

Ayrıca bu yöntem ile, tek bir reaksiyonda belli bir gen bölgesi için birden fazla prob kullanılarak birden fazla mutasyon analizi yapılabilmektedir.

LC cihazında aynı kapiller tüp içerisinde hibridizasyon proplarını ve erime eğrisi analizi yöntemi ile amplifikasyon ve genotiplendirme değerlendirmesi yapılabilmektedir. Bu sayede kontaminasyon riski oldukça azaltılarak 32 örnek bir saat gibi kısa bir sürede çalışılabilmektedir.

2. BÖLÜM

2.1 GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.1 KONTROL VE ÇALIŞMA GRUBU

Çalışmamızda, kontrol grubu 41' i erkek, 35' i kadın olmak üzere toplam 76 sağlıklı bireyden, çalışma grubu ise 2006-2007 yılları arasında, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı' na başvurup, klinik olarak Mitral Valv Prolapsusu (MVP) tanısı almış 16' sı erkek, 23' ü kadın olmak üzere toplam 39 olgudan oluşturuldu.

Çalışmaya katılan her olgu "Gönüllü Olur Formu" nu imzalayarak, çalışmaya katılmayı kabul etti. Olguların her birinden EDTA' lı tüplere 3'er ml (2 tüp) kan örneği alındı ve tıbbi özgeçmişleri ile ilgili sorular sorularak kaydedildi.

Çalışma protokolümüz Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından 11.12.2006 tarihli ve 06-10.1/11 sayılı kararı ile onaylandı.

2.1.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

Çalışmamızın amacına uygun olarak seçilen hasta ve kontrol grubundan elde edilen kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, ADR β 1 geninde; Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri, ADR β 2 geninde; Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmleri ve GNB3 geninde C825T polimorfizm analizleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

gerçekleştirildi. PCR sonrası oluşan ürünlere restriksiyon enzim kesimi uygulanarak, genotipleme aşamasına geçildi.

2.1.2.1 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri

Esnasında Kullanılan Cihazlar

Tablo 7: *Kullanılan Cihazlar*

CİHAZ	MARKASI
Termal Cyclers (PCR cihazı)	Techne Genius
LightCycler real-time PCR Cihazı	Roche Applied Science
Yatay Jel Tankı ve Düzeneği	Thermo
Termomikser	Eppendorf
Hassas Terazi	Sartorius
Mikrodalga Fırın	Samsung
Santrifüj	Thermo
Otomatik Mikropipetler	Finnipet (10, 20, 100, 200, 1000 μ l' lik)
Derin Dondurucu (-20°C)	Uğur
Buzdolabı	Siemens
Otoklav	Hereaus

2.1.2.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri

Esnasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 8: *Kimyasal Maddeler*

KİMYASAL MADDE	MARKASI
Agaroz	MBI Fermantas
Etanol	Smyras
Glasiyal Asetik asit	Merck
Isopropanol	Applichem
Tris	Applichem
6x Mavi/Turuncu Yükleme Boyası	MBI Fermantas

2.1.2.3 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri

Esnasında Kullanılan Hazır Kitler

DNA İzolasyon Kiti

Kontrol ve çalışma grubu olgularının periferik kan örneklerinden, High Pure PCR Template Preparation Kit' i (Roche Applied Science, Germany) kullanılarak DNA izolasyonları yapıldı.

High Pure PCR Template Preparation Kit İçeriği:

1. Binding Buffer: 4M urea, 200mM NaCl, 200 mM EDTA, pH 7,4, 25°C
2. Proteinaz K

3. İnhibitör Removal Buffer: 5M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH 6,6, 25°C (20 ml etanol ilave edildikten sonra kullanıldı)
4. Wash Buffer: 20mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5, 25°C (80 ml etanol ilave edildikten sonra kullanıldı)
5. Elution Buffer: 10 mM Tris, pH 8,5, 25°C
6. High Pure filtre tüpleri
7. Collection (toplama) tüpleri

2.1.2.4 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 Gen Polimorfizmleri Analizleri

Esnasında Kullanılan Primerler

ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 genlerinin spesifik bölgelerinin PCR yöntemiyle ampifikasyonları için gen bölgelerine özgül primer dizileri seçildi.

2.1.2.4.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi Analizinde Kullanılan

Primer Çifti

ADR β 1 genindeki Ser49Gly polimorfizm analizi için seçilen primer çifti ile 564 baz çiftlik (bç) bir DNA fragmanı amplifiye edildi.

Forward Primer: 5' - CCG GGC TTC TGG GGT GTT CC - 3'

Reverse Primer: 5' - GGCGAGGTGATGGCGAGGTAGC - 3'

Liyofilize halde ve 0.02 μ mol sentez skalasında ticari olarak satın alınan forward ve reverse primerlerinin ikisi de 100 pmol/ μ l olacak şekilde

firmanın önerisi olan 126 µl steril su eklenerek çözüldü ve 20 µl' lik eşit hacimlere bölünerek -20°C 'de saklandı.

2.1.2.4.2 ADRβ1 Gly389Arg Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti

ADRβ1 genindeki Gly389Arg polimorfizm analizi için seçilen primer çifti ile 530 baz çiftlik (bç) bir DNA fragmanı amplifiye edildi.

Forward Primer: 5' CGCTCTGCTGGCTGCCCTTCTTCC 3'

Reverse Primer: 5' TGGGCTTCGAGTTCACCTGCTATC 3'

Liyofilize halde ve 0.02 µmol sentez skalasında ticari olarak satın alınan forward primeri, 100 pmol/µl olacak şekilde firmanın önerisi olan 127 µl; reverse primeri ise 124 µl steril su ile çözüldü ve 20 µl' lik eşit hacimlere bölünerek -20°C 'de saklandı.

2.1.2.4.3 ADRβ2 Arg16Gly ve Gln27Glu Polimorfizmleri Analizinde Kullanılan Primer Çifti

ADRβ2 genindeki Arg16Gly ve Gln27Glu polimorfizm analizleri için ise 242 baz çiftlik (bç) DNA fragmanını amplifiye edilmesini sağlayacak olan primer çifti seçildi.

Forward Primer: 5' GAA CGG CAG CGC CTT CTT GCT GGC ACC CCA T 3'

Reverse Primer: 5' CTGCCAGGCCCATGACCAGATCAG 3'

Liyofilize halde ve 0.02 µmol sentez skalasında ticari olarak satın alınan forward primer, 100 pmol/µl olacak şekilde firmanın önerisi olan 128 µl, reverse primeri ise 129 µl steril saf su ile çözüldü ve 20 µl' lik eşit hacimlere bölünerek -20°C 'de saklandı.

2.1.2.4.4 ADRβ2 Ile164Thr Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti

ADRβ2 genindeki Ile164Thr polimorfizm analizi için uygun primer çifti ile 280 baz çiftlik (bç) DNA fragmanı amplifiye edildi.

Forward Primer: 5' GTG ATC GCA GTG GAT CGC TAC T 3'

Reverse Primer: 5' AGA CGA AGA CCA TGA TCA CCA G 3'

Liyofilize halde ve 0.02 µmol sentez skalasında ticari olarak satın alınan forward primer 100 pmol/µl olacak şekilde firmanın önerisi olan 130 µl, reverse primeri ise 129 µl PCR için uygun saflıktaki steril su ile çözüldü ve 20 µl' lik eşit hacimlere bölünerek -20°C 'de saklandı.

2.1.2.4.5 GNB3 C825T Polimorfizmi Analizinde Kullanılan Primer Çifti

GNB3 genindeki C825T polimorfizm analizi için seçilen primer çifti ile 268 baz çiftlik (bç) bir DNA fragmanı amplifiye edildi.

Forward Primer: 5' TGA CCCACT TGC CAC CCG TGC 3'

Reverse Primer: 5' GCA GCC AGG GCT GGC 3'

Liyofilize halde ve 0.02 µmol sentez skalasında ticari olarak satın alınan forward primeri 100 pmol/µl olacak şekilde firmanın önerisi olan

124 µl, reverse primeri ise 127 µl PCR için uygun saflıktaki steril su ile çözüldü ve 20 µl' lik eşit hacimlere bölünerek -20°C 'de saklandı.

2.1.3 ADRβ1, ADRβ2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİ İÇİN ÇALIŞMA PROTOKOLLERİ

2.1.3.1 DNA İZOLASYON AŞAMALARI

1. EDTA' lı tüplere alınan kan örneğinden 200 µl steril bir ependorf tüp içine alınır.

2. Üzerine 200 µl Binding Buffer ve 40 µl Proteinaz K ilave edilip, pipetlenerek homojenizasyon sağlanır.

3. Tüpler, önceden 72°C' ye ayarlanan 'thermomixer' cihazında 10 dakika inkübasyona bırakılır.

4. İnkübasyon sonunda, karışım üzerine 100 µl izopropanol eklenir ve pipetlenerek iyice karıştırılır.

5. Ependorf tüp içinde bulunan karışımın tamamı, 'collection' tüp içine yerleştirilmiş filtreli tüpün içine pipetlenir.

6. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir.

7. Santrifüj sonrasında, altta biriken sıvı (süpernatant) collection tüp ile birlikte atılır, filtreli kısım yeni bir collection tüp içerisine yerleştirilir.

8. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör removal buffer eklenir.

9. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir.

10. Altta biriken sıvı collection tüp ile birlikte atılır. Filtre temiz bir collection tüp içine yerleştirilir.

11. Filtreli tüpün üzerine 500 µl wash buffer eklenir.

12. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir.

13. Altta biriken sıvı collection tüp ile birlikte atılır. Filtre temiz bir collection tüp içine yerleştirilir.

14. Filtreli tüpün üzerine ikinci kez 500 µl wash buffer eklenir.

15. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir.

16. Santrifüj bitiminde, collection tüpün alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılır ve 13.000 rpm' de 10 sn santrifüj edilir.

17. Altta biriken sıvı collection tüp ile birlikte atılır ve filtre temiz bir ependorf içine yerleştirilir.

18. Önceden 70°C' ye ayarlanmış thermomixer cihazında ısıtılmış olan elution buffer' dan 200 µl filtreli tüp içine pipetlenir.

19. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilir.

20. Santrifüj sonrasında filtreli tüp atılır. Ependorf tüpte geri kalan çözelti genomik DNA'dır.

Cam lifli filtreye nükleik asit bağlama yöntemine göre elde edilen genomik DNA' lar ADRβ1, ADRβ2 ve GNB3 gen polimorfizm analizleri için kullanıldı.

2.1.3.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİ İÇİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR)

2.1.3.2.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

ADR β 1 genindeki Ser49Gly polimorfizm içeren 564 bç.' lik gen bölgesi PCR yöntemi kullanılarak çoğaltıldı. Her bir örnek için, hazırlanan 25 μ l' lik PCR reaksiyon karışımı aşağıda gösterilmiştir:

Bileşenler	Hacim
Steril Distile Su	13,3 μ l
Forward primer (100 μ l)	0,5 μ l
Reverse primer (100 μ l)	0,5 μ l
10x PCR Tamponu (+Mg ⁺⁺)	2,0 μ l
dNTP Karışım (2mM)	1,5 μ l
GC-rich Solution	5,0 μ l
Fast start Taq DNA Polimeraz (5 U/ μ l)	0,2 μ l
Genomik DNA	2,0 μ l
Toplam Hacim	25 μ l

PCR protokolü:

Denatürasyon	95°C	4 dakika	
Amplifikasyon	95°	30 sn denatürasyon	} 30 Döngü
	57°C	30 sn bağlanma	
	72°C	45 sn uzama	
Son Uzama	72°C	7 dakika	
Soğutma	4 °C	∞ sonsuz	

2.1.3.2.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

ADR β 1 genindeki Gly389Arg polimorfizminin tespiti amacıyla polimorfizmi içeren 530 bç.’ lik gen bölgesi, LC cihazında gerçekleştirilen PCR ile oaltıldı. Her bir örnek için hazırlanan 20 μ l’ lik PCR reaksiyon karışımı aşağıda gösterilmiştir:

Bileşenler	Hacim
Steril Distile Su	9,4 μ l
Forward primer (100 μ l)	0,4 μ l
Reverse primer (100 μ l)	0,4 μ l
10x PCR Tamponu (+Mg ⁺⁺)	1,6 μ l
dNTP Karışım (2mM)	1,2 μ l
GC-rich Solution	5,0 μ l
Taq DNA Polimeraz (5 U/ μ l)	0,4 μ l
Genomik DNA	1,6 μ l
Toplam Hacim	20 μ l

PCR protokolü:

Denatürasyon	95°C	30 sn	
Amplifikasyon	95°C	5 sn denatürasyon	} 30 döngü
	62°C	10 sn bağlanma	
	72°C	20 sn uzama	
Soğutma	40 °C	30 sn	

2.1.3.2.3 ADR β 2 Arg16Gly ve Gln27Glu Polimorfizmleri İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

ADR β 2 geninde Arg16Gly ve Gln27Glu polimorfizmlerinin gerçekleştiği 242 baz çiftlik ortak gen bölgesi, aynı PCR karışımı ve protokolü hazırlanarak çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l' lik PCR reaksiyon karışımı aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır:

Bileşenler	Hacim
Steril Distile Su	34,5 μ l
Forward primer (100 μ l)	0,7 μ l
Reverse primer (100 μ l)	0,7 μ l
10x PCR Tamponu	5,0 μ l
MgCl ₂ (25 mM)	1,6 μ l
dNTP Karışım (2mM)	3,0 μ l
Taq DNA Polimeraz (5 U/ μ l)	0,5 μ l
Genomik DNA	4,0 μ l
Toplam Hacim	50 μ l

PCR protokolü:

Denatürasyon	94°C	2 dakika	
Amplifikasyon			
	94°C	30 sn denatürasyon	} 30 döngü
	62°C	45 sn bağlanma	
	72°C	1 dakika uzama	
Son Uzama	72°C	7 dakika	
Soğutma	4°C	∞ sonsuz	

2.1.3.2.4 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

ADR β 2 genindeki Ile164Thr polimorfizminin tespiti amacıyla polimorfizmi içeren 283 bç.' lik gen bölgesi, LC cihazında gerçekleştirilen PCR ile çoğaltıldı. Her bir örnek için hazırlanan 10,5 μ l' lik PCR reaksiyon karışımı aşağıda gösterilmiştir:

Bileşenler	Hacim
Steril Distile Su	6,2 μ l
Forward primer (100 μ l)	0,5 μ l
Reverse primer (100 μ l)	0,5 μ l
MgCl ₂ (25 mM)	0,8 μ l
Sybeer Green (10X konst.)	1,0 μ l
Genomik DNA	1,5 μ l
Toplam Hacim	10,5 μ l

PCR protokolü:

Denatürasyon	95°C	10 dakika	
Amplifikasyon	95°C	15 sn denatürasyon	} 35 döngü
	57°C	10 sn bağlanma	
	72°C	15 sn uzama	
Soğutma	40 °C	30 sn	

2.1.3.2.5 GNB3 C825T Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir

Reaksiyonu (PCR)

GNB3 genindeki C825T polimorfizminin tespiti amacıyla polimorfizm içeren 268 bç.' lik bir gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Her bir örnek için, 25 µl' lik PCR reaksiyon karışımı aşağıda gösterildiği şekilde hazırlandı:

Bileşenler	Hacim
Steril Distile Su	16,75 µl
Forward primer (100 µl)	0,5 µl
Reverse primer (100 µl)	0,5 µl
10x PCR Tamponu	2,5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	0,5 µl
dNTP Karışım (2mM)	1,5 µl
Fast start Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)	0,25 µl
Genomik DNA	2,5 µl
Toplam Hacim	25 µl

PCR protokolü:

Denatürasyon	94°C	5 dakika	
Amplifikasyon	94°C	1 dakika denatürasyon	} 30 döngü
	59°C	45 sn bağlanma	
	72°C	1 dakika uzama	
Son Uzama	72°C	7 dakika	
Soğutma	4°C	∞ sonsuz	

2.1.3.3 PCR SONRASI %2' lik ve %3' lük AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ

PCR sonrasında elde edilen ürünlerin büyüklüğü jel elektroforezinde kontrol edildi. ADR β 1 Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri, ADR β 2 Arg16Gly ve Gln27Glu polimorfizmleri ve GNB3 C825T polimorfizm analizleri için yapılan PCR ürünleri % 2' lik agaroz jelde değerlendirilirken; ADR β 2 Ile164Thr polimorfizm analizi için LC' de amplifiye edilen gen bölgesi, LC' da floresan artışına göre değerlendirildi.

2.1.3.4 RESTRIKSİYON ENZİM KESİMİ İLE POLİMORFİZM ANALİZİ

PCR reaksiyonundan sonra elde edilen ve jel elektroforezinde görüntülenen PCR ürünleri, uygun restriksiyon enzimleri ile kesilerek; ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 gen polimorfizm analizleri yapıldı.

2.1.3.4.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

ADR β 1 geninin Ser49Gly polimorfizm analizi, enzim kesimi aşamasında *Escherichia coli* bakterisinden elde edilen *EcoO109I* (*DraII*) restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı.

EcoO109I enzimi, toplam 2000 U ve 10 U/ μ l konsantrasyonda olacak şekilde ve 1ml 10x Tango Buffer [33 mM Tris-asetat (pH 7.9), 10 mM magnezyum asetat, 66 mM potasyum asetat, 0.1 mg/ml BSA] ile birlikte temin edildi.

ADR β 1 geninin PCR ile çoğaltılan 564 bç.' lik hedef bölgesi, *EcoO109I* restriksiyon enzimi için kesim yeri içermemektedir. Hedef gen bölgesinde A \rightarrow G değişiminin olması, bir kesim yeri oluşmasına ve PCR ürününün bu yerden kesilmesine neden olmaktadır.

EcoO109I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda gösterilmiştir:

5' ... G↓ G N C C... 3'

3' ... C C N G↓ G... 5'

Enzim Reaksiyon Karışımı:

➤ Su	17 μ l	} 37°C' de 3 saat inkübasyon
➤ PCR ürünü	10 μ l	
➤ Tango Buffer	2 μ l	
➤ <i>EcoO109I</i>	1 μ l	

Ser49Gly polimorfizm analizinde elde edilen PCR ürünü *EcoO109I* restriksiyon enzimi ile kesildi. Kesim reaksiyonu sonucu oluşan ürünler % 2'lik agaroz jelde yürütülüp, görüntülendikten sonra, genotipleme yapıldı. Kesim sonucunda elde edilen ve olguların genotipini belirleyen bantlar aşağıda belirtilmiştir:

a. Polimorfizm bulunmayan, yabani genotipteki olgularda 564 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanı,

b. Heterozigot olan olgularda 564 bç., 343 bç., ve 219 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı,

c. Mutant olan olgularda ise 343 bç. ve 219 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanı elde edildi.

2.1.3.4.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon

Enzim Kesimi

ADR β 1 geninin Gly389Arg polimorfizm analizi enzim kesimi aşaması, *Bacillus coagulans* bakterisinden elde edilen *BcgI* restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı.

BcgI enzimi, toplam 2000 U/ml konsantrasyonda olacak şekilde ve 1ml 10x NeBuffer 3 (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM DTT, pH 7,9) ile birlikte temin edildi.

ADR β 1 geninin PCR ile çoğaltılan 530 bç.' lik hedef bölgesi, *BcgI* restriksiyon enzimi için kesim yeri içermemektedir. Hedef gen bölgesinde G \rightarrow C değişiminin olması, bir kesim yeri oluşmasına ve PCR ürününün bu yerden kesilmesine neden olmaktadır.

BcgI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda gösterilmiştir:

5' ... \downarrow_{10} (N) C G A (N) $_6$ T G C (N) $_{12}$ \downarrow ... 3'

3' ... \downarrow_{12} (N) G C T (N) $_6$ A C G (N) $_{10}$ \downarrow ... 5'

Enzim Reaksiyon Karışımı:

➤ Su	18,5 μ l	} 37°C' de 3 saat inkübasyon
➤ PCR ürünü	10 μ l	
➤ NeBuffer 3	1 μ l	
➤ <i>BcgI</i>	0,5 μ l	

Gly389Arg polimorfizm analizinde elde edilen PCR ürününün *BcgI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda elde edilen ürünler % 2'lik agaroz jelde yürütülüp, görüntüledikten sonra genotipleme yapıldı. Olguların genotipini belirleyen bantlar aşağıda belirtilmiştir:

a. Polimorfizm bulunmayan, yabani genotipteki olgularda 530 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanı,

b. Heterozigot olan olgularda 530 bç., 342 bç., ve 154 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı (34 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragmanı bulunmakta),

c. Mutant olan olgularda 342 bç. ve 154 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanı elde edildi.

2.1.3.4.3 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

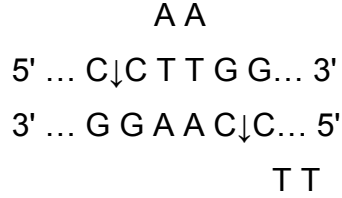
ADR β 2 geninin Arg16Gly polimorfizm analizinde enzim kesimi aşaması *Escherichia coli* bakterisinden elde edilen *Eco130I* (*StyI*) restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı.

Eco130I enzimi, toplam 2500 U/ml ve 10 U/ μ l konsantrasyonda olacak şekilde ve 1ml 10x Buffer O [50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, 0,1 mg/ml BSA] ile birlikte temin edildi.

ADR β 2 geninin PCR ile çoğaltılan 242 bç.' lik hedef bölgesi, *Eco130I* restriksiyon enzimi için herhangi bir kesim yeri içermemektedir. Hedef gen

bölgesinde A → G değişimi olduğunda bir kesim yeri oluşmakta ve PCR ürününün bu yerden kesilebilmektedir.

Eco130I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda gösterilmiştir:



Enzim Reaksiyon Karışımı:

➤ Su	17 µl	} 37°C' de 6 saat inkübasyon
➤ PCR ürünü	10 µl	
➤ Buffer O	2 µl	
➤ <i>EcoO109I</i>	1 µl	

Arg16Gly polimorfizm analizinde elde edilen PCR ürününün *EcoO109I* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda elde edilen ürünler % 3'lik agaroz jelde yürütülüp, görüntüledikten sonra genotipleme yapıldı. Olguların genotipini belirleyen bantlar aşağıda belirtilmiştir:

a. Polimorfizm bulunmayan, yabani genotipteki olgularda 242 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanı,

b. Heterozigot olan olgularda 242 bç., 214 bç., ve 28 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı,

c. Mutant olan olgularda 214 bç. ve 28 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanı elde edildi.

2.1.3.4.4 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon

Enzim Kesimi

ADR β 2 geninin Gln27Glu polimorfizm analizinde enzim kesimi *Staphylococcus arlettae* bakterisinden elde edilen *SatI* (*Fnu4HI*) restriksiyon enzimi ile yapıldı.

SatI enzimi, toplam 1000 U ve 10 U/ μ l konsantrasyonda olacak şekilde ve 1ml 10x Buffer G [10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 50 mM NaCl, 0,1 mg/ml BSA] ile birlikte temin edildi.

ADR β 2 geninin PCR ile çoğaltılan 242 bç.' lik hedef bölgesi, *SatI* restriksiyon enzimi için bir kesim yeri içermektedir. Hedef gen bölgesinde C \rightarrow G değişimi oluşursa, kesim yeri ortadan kalkmakta ve PCR ürünü bu yerden kesilememektedir.

SatI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda gösterilmiştir:

5' ... G C↓N G C... 3'

3' ... C G N↓C G... 5'

Enzim Reaksiyon Karışımı:

➤ Su	17 μ l	} 37°C' de 3 saat inkübasyon
➤ PCR ürünü	10 μ l	
➤ Buffer G	2 μ l	
➤ <i>SatI</i>	1 μ l	

Gln27Glu polimorfizm analizinde elde edilen PCR ürünü *SatI* restriksiyon enzimi ile kesildi ve kesim sonucunda elde edilen ürünler % 2'lik agaroz jelde yürütülüp, görüntüledikten sonra genotipleme yapıldı. Olguların genotipini belirleyen bantlar aşağıda belirtilmiştir:

a. Polimorfizm bulunmayan, yabani genotipteki olgularda 180 bç., ve 55 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanı (7 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragman bulunmakta),

b. Heterozigot olan olgularda 242 bç., 180 bç., ve 55 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı (7 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragman bulunmakta),

c. Mutant olan olgularda 242 bç. büyüklüğünde tek DNA fragmanı elde edildi.

2.1.3.4.5 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

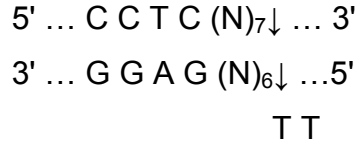
ADR β 2 geninin Ile164Thr polimorfizm analizinde enzim kesimi aşaması *Moraxella nonliquefaciens* bakterisinden elde edilen *Mn1I* restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı.

Mn1I enzimi, toplam 1500 U ve 10 U/ μ l konsantrasyonda olacak şekilde ve 1ml 10x Buffer G [10 mM Tris-HCl (pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 50 mM NaCl, 0,1 mg/ml BSA] ile birlikte temin edildi.

ADR β 2 geninin PCR ile çoğaltılan 283 bç.' lik hedef bölgesi, *Mn1I* restriksiyon enzimi için kesim yeri içermemektedir. Hedef gen bölgesinde

T → C değişimi olması, bir kesim yeri oluşmasına ve PCR ürününün bu yerden kesilmesine neden olmaktadır.

Mn1I restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda gösterilmiştir:



Enzim Reaksiyon Karışımı:

➤ Su	17 µl	} 37°C' de 16 saat inkübasyon
➤ PCR ürünü	10 µl	
➤ Buffer G	2 µl	
➤ <i>Mn1I</i>	1 µl	

Ile164Thr polimorfizm analizinde elde edilen PCR ürününün *Mn1I* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda elde edilen ürünler % 2'lik agaroz jelde yürütölüp, görüntölendikten sonra genotipleme yapıldı. Olguların genotipini belirleyen bantlar aşağıda belirtilmiştir:

a. Polimorfizm bulunmayan, yabani genotipteki olgularda 283 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanı,

b. Heterozigot olan olgularda 283 bç., 126 bç., ve 114 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı (43 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragman da oluşmakta),

c. Mutant olan olgularda 126 bç. ve 114 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanı elde edildi (43 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragman da oluşmakta).

2.1.3.4.6 GNB3 C825T Polimorfizmi Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

GNB3 geninin C825T polimorfizm analizi için enzim kesimi aşaması, *Bacillus stearothermophilus* bakterisinden elde edilen *BseDI* (*SecI*) restriksiyon enzimi ile yapıldı.

BseDI enzimi, toplam 300 U ve 10 U/μl konsantrasyonda olacak şekilde ve 1ml 10x Buffer Tango [33 mM Tris-asetat (pH 7,9), 10 mM magnezyum asetat, 66 mM potasyum asetat, 0,1 mg/ml BSA] ile birlikte temin edildi.

GNB3 geninin PCR ile çoğaltılan 268 bç.' lik hedef bölgesi, *BseDI* restriksiyon enzimi için bir kesim yeri içermektedir. Hedef gen bölgesinde C → T değişimi olması sonucu, kesim yeri ortadan kalkmakta ve PCR ürünü bu yerden kesilememektedir.

BseDI restriksiyon enziminin tanıma bölgesi aşağıda gösterilmiştir:

5' ... C↓C N N G G... 3'

3' ... G G N N C↓C... 5'

Enzim Reaksiyon Karışımı:

➤ Su	17 µl	} 55°C' de 3 saat inkübasyon
➤ PCR ürünü	10 µl	
➤ Buffer Tango	2 µl	
➤ <i>BseDI</i>	1 µl	

C825T polimorfizm analizinde elde edilen PCR ürününün *BseDI* restriksiyon enzimi ile 55°C' de 3 saat inkübasyonundan sonra oluşan ürünler, % 2'lik agaroz jelde yürütülüp, görüntüledikten sonra genotipler belirlendi. Olguların genotipini belirleyen bantlar aşağıdaki gibidir:

a. Polimorfizm bulunmayan, yabani genotipteki olgularda 152 bç., ve 104 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanı (12 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragman bulunmakta),

b. Heterozigot olan olgularda 268 bç., 152 bç., ve 104 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı (12 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragman bulunmakta),

c. Mutant olan olgularda 268 bç. büyüklüğünde tek DNA fragmanı elde edildi.

2.1.4 KULLANILAN KİMYASAL ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANIŞI

2.1.4.1 Etidyum Bromid Hazırlanması

10 mg/ml stok solüsyon elde etmek için, 1 gr etidyum bromid 100 ml steril distile suda çözüldü ve agaroz jelde kullanılmak üzere karanlık ortamda 4°C' de saklandı.

2.1.4.2 dNTP Hazırlanması

Deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP' ler) eşit oranda dATP, dGTP, dCTP ve dTTP' lerden oluşur. 2mM konsantrasyondaki stok solüsyonunun hazırlanması için; dATP, dGTP, dCTP ve dTTP' nin her birinden 4 µl olmak üzere toplam 16 µl dNTP, 184 µl steril distile su ile sulandırıldı ve 20 µl' lik küçük hacimlere bölünerek -20°C' deki derin dondurucuda saklandı.

2.1.4.3 TAE (Tris-Asetat-EDTA) Tamponu

Elektroforezde kullanılacak olan TAE tamponu için stok solüsyon olarak 50x TAE hazırlandı. 50x TAE için; 242 gr Tris, 500 ml distile su içinde çözüldükten sonra 57,1 ml glacial asetik asit ve 100 ml 0.5 M Na₂EDTA eklendi ve son hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

% 2'lik ve % 3' lük agaroz jelde kullanılacak olan 1x TAE tamponu; 50x TAE stok solüsyonundan 1 ml alınıp, distile su ile 50 ml' ye tamamlanarak hazırlandı.

2.1.4.4 % 2' lik ve % 3' lük Agaroz Jel Hazırlama

% 2' lik agaroz için, 0,8 gr agaroz 40 ml 1x TAE içine ilave edilirken; % 3' lük agaroz için 1,2 g agaroz 40 ml 1x TAE tamponu içine ilave edildi ve mikrodalga fırında eritildi. Tamamen homojen bir eriyik haline gelen jel ılıklaştıktan sonra, 5 µl etidyum bromid eklenip iyice karıştırıldı ve yükleme kuyularını oluşturacak olan tarağın da takılı olduğu elektroforez transfer kabına döküldü. Jelin 4°C' de 15 dakika polimerleşmesi için beklendi. Jel polimerize olduktan sonra, tarak çıkarıldı ve agaroz jelin bulunduğu transfer kabı elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankı, jelin 1–2 mm üzerini kaplayacak şekilde 1x TAE tampon çözeltisi ile doldurulup, örnekler kuyucuklara yüklendi.

İlk kuyucuğa 6 µl DNA marker (50 bp DNA Ladder), diğer kuyucuklara ise 10 µl PCR ürünü + 2 µl 6x yükleme boyası karışımı yüklendi.

Jele yüklenen örnekler 90 V' da 45 dakika yürütüldükten sonra görüntüleme analiz ve dokümantasyon sistemi ile görüntülendi.

2.1.5 İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ

Hasta ve kontrol gruplarının ADRβ1, ADRβ2 ve GNB3 gen polimorfizmlerinin PCR/ RFLP yöntemi ile analizi gerçekleştirildikten sonra elde edilen bulguların değerlendirilmesinde, istatistiksel analiz testlerinden Ki-Kare Testi ve Regrasyon Analiz Testi kullanıldı.

2.1.5.1 Ki-Kare Testi

İstatistikte en çok kullanılan temel örnekleme dağılımlarından biri olan Ki-kare testi, sağlık araştırmalarında da sıklıkla kullanılan ve en güvenilir olan analiz yöntemidir. Ki-kare analizi, grupları çapraz tablo gözlerindeki gözlenen değerler ile beklenen değerler arasındaki farkı dikkate alarak karşılaştıran bir testtir. Anlamlılık değeri $p < 0.05$ ' tir.

2.1.5.2 Regresyon Analiz Testi

İstatistik biliminin en önemli konularından birisini regresyon analizi oluşturmaktadır. Regresyon analizi, araştırma, matematik, finans, ekonomi, tıp gibi bilim alanlarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Regresyon analizinin temelinde; gözlenen bir olayın değerlendirilirken, hangi olayların etkisi içinde olduğunun araştırılması yatmaktadır. Bu olaylar bir veya birden çok olacağı gibi dolaylı veya direkt etkileniyor da olabilirler. Regresyon analizi yapılırken, gözlem değerlerinin ve etkilenilen olayların bir matematiksel gösterimle yani bir fonksiyon yardımıyla ifadesi gerekmektedir. Kurulan bu modele regresyon modeli denilmektedir. Anlamlılık değeri $p < 0.05$ ' tir.

3. BÖLÜM

3.1 BULGULAR

3.1.1 KONTROL VE ÇALIŞMA GRUPLARININ GENEL ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ve İSTATİSTİKSEL ANALİZLERİ

Kontrol grubu, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 76 sağlıklı bireyden; çalışma grubu ise E.Ü.T.F Kardiyoloji A.B.D' da Mitral Valv Prolapsusu (MVP) tanısı konmuş 39 olgudan oluşturulmuştur.

Kontrol ve çalışma grubuna ait bireylerden EDTA' lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden genomik DNA izolasyonları yapılmış daha sonra Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile ADR β 1 Ser49Gly ve Gly389Arg gen polimorfizmleri, ADR β 2 Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr gen polimorfizmleri ayrıca GNB3 C825T gen polimorfizmi açısından değerlendirilmişlerdir. Kontrol ve çalışma grubu ile ilgili genel bilgiler, elde edilen bulgular ve istatistiksel analiz sonuçları aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1.1 Kontrol Grubu: Ekokardiyografi sonucunda MVP bulgusuna rastlanmayan, mitral kapakların yerleşim ve kalınlığı normal olan 41' i erkek ve 35' i kadın olmak üzere toplam 76 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması $31,58 \pm 8,25$ olarak saptanmıştır.

3.1.1.2 Çalışma Grubu: MVP tanısı konmuş 16' sı erkek, 23' ü kadın olan toplam 39 hasta olgudan oluşturulan çalışma grubunun yaş ortalaması ise $42,80 \pm 18,56$ olarak belirlenmiştir.

Çalışma grubunun mitral kapak çöküş miktarı ortalaması $0,41 \pm 0,13$, kapak kalınlığı ortalaması $0,68 \pm 0,11$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca 10 olguda

aritmi gözlenirken, 29 olguda aritmi olmadığı ve sadece 1 olgunun ailesinde ani kardiyak ölüm vakası olduğu tespit edilmiştir. Olguların 20' sinde mitral yetmezlik hafif derecede, 10' unda orta derecede olduğu 9 olguda ise herhangi bir mitral yetmezlik bulgusunun olmadığı belirlenmiştir. Bunların haricinde 3 olgunun kapak değişimi ameliyatı geçirdiği rapor edilmiştir.

Çalışma grubunu oluşturan 39 olgunun 25' inde başka bir sistemik hastalığın bulunmadığı ancak 5 olguda hipertansiyon, 1 olguda hiperlipidemi, 1 olguda anemi, 2 olguda hipotiroidi, 1 olguda guatr, 1 olguda konjestif kalp yetmezliği, 1 olguda hipertansiyon+bağ dokusu hastalığı, 1 olguda hipertansiyon+hipotiroidi, 1 olguda ise diyabet+hipertansiyon olduğu saptanmıştır. Olguların % 43,60' unda çarpıntı (17), % 17,94' ünde çarpıntı ve presenkop (7) bir arada gözlenirken, % 38,46' sı asemptomiktir (15). Çalışma grubuna ait genel bilgiler Tablo 9' da verilmiştir.

Tablo 9: Çalışma Grubuna Ait Genel Bilgiler

OLGU	YAŞ	Ç.M	K.K	A.R	A.Ö	MY	SEMPTOM	S.H
H18- E	74	0,32	0,68	yok	yok	orta	çarpıntı	D.M, H.T.
H15- K	71	0,45	0,7	yok	yok	orta	asemptomik	HT, hipotiroi di
H12- K	70	0,4	0,75	yok	yok	orta	asemptomik	yok
H7- E	69	0,48	0,84	var	yok	hafif	çarpıntı	H.T
H22- E	69	0,65	0,9	var	yok	hafif	çarpıntı	hipotiroi di
H34- E	66	0,47	0,78	var	yok	hafif	çarpıntı	yok
H20- K	65	0,5	0,65	var	yok	hafif	çarpıntı	B.D.H, HT
H24- E	64	0,35	0,7	yok	yok	hafif	çarpıntı	H.T
H31- K	62	0,71	0,9	yok	yok	orta	çarpıntı	H.L
H2- E	61	0,36	0,58	yok	yok	yok	çarpıntı	H.T
H11- K	60	0,56	0,7	yok	yok	hafif	asemptomik	yok
H16- E	60	0,37	0,93	yok	yok	orta	asemptomik	H.T
H38- E	58	0,4	0,56	yok	yok	orta	çarpıntı	guatr
H29- E	53	Kapak değişimi	Kapak değişimi	var	yok	yok	çarpıntı	K.K.Y
H33- K	51	0,35	0,68	yok	yok	hafif	asemptomik	yok
H32- K	49	Kapak değişimi	Kapak değişimi	var	var	yok	çarpıntı	H.T
H19- E	48	0,8	0,75	var	yok	orta	asemptomik	hipotiroi di

Tablo 9' un Devami: Çalışma Grubuna Ait Genel Bilgiler

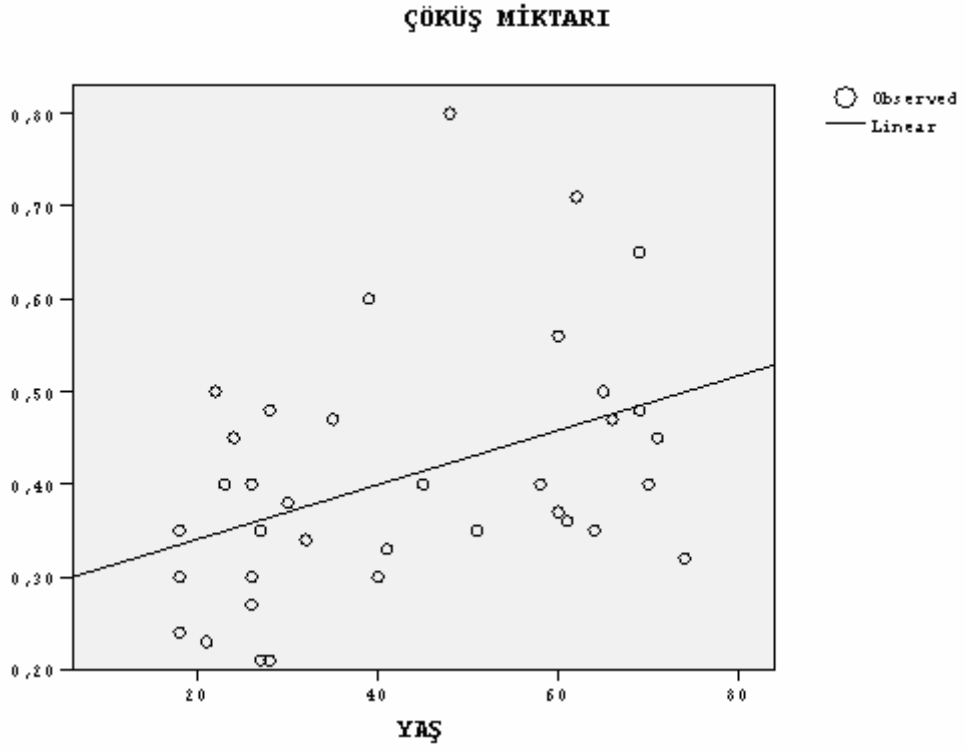
OLGU	YAŞ	Ç.M	K.K	A.R	A.Ö	MY	SEMPATOM	S.H
H30- K	45	0,4	0,75	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H6- K	41	0,33	0,5	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H25- E	40	0,3	0,7	yok	yok	hafif	asemptomik	yok
H17- E	39	0,6	0,75	yok	yok	orta	asemptomik	yok
H37- K	35	0,47	0,7	yok	yok	hafif	asemptomik	yok
H28- E	32	0,34	0,76	yok	yok	yok	asemptomik	yok
H36- K	30	0,38	0,57	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H13- K	28	0,48	0,84	yok	yok	hafif	asemptomik	yok
H27- K	28	0,21	0,57	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H1- K	27	0,35	0,68	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H9- K	27	0,21	0,55	yok	yok	hafif	asemptomik	yok
H4- K	26	0,4	0,56	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H5- K	26	0,27	0,57	var	yok	hafif	çarpıntı	yok
H23- E	26	0,3	0,6	yok	yok	yok	asemptomik	yok
H3- K	25	Kapak değişimi	Kapak değişimi	var	yok	yok	çarpıntı	Yok
H39- K	24	0,45	0,76	yok	yok	orta	çarpıntı	yok
H8- K	23	0,4	0,61	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H21- E	22	0,5	0,6	yok	yok	hafif	çarpıntı	yok
H10- E	21	0,23	0,5	yok	yok	yok	asemptomik	yok
H14- K	18	0,24	0,53	var	yok	yok	çarpıntı	anemi
H26- K	18	0,3	0,57	yok	yok	yok	çarpıntı	yok
H35- K	18	0,35	0,57	yok	yok	orta	asemptomik	yok
OLGU	YAŞ ORT.	Ç.M ORT.	K.K ORT.	ARİTMI	ANİ ÖLÜM	MY	SEMPATOM	S.H
% 41,03 E % 58,97 K	42,80 ± 18,56	0,41 ± 0,13	0,68 ± 0,11	% 25,64	%2,56	hafif % 51,28 orta % 25,64	ç. % 61,54 a.s % 38,46	% 35,90

Ç.M: Kapak çöküş miktarı, K.K: Kapak kalınlığı, A.R: Aritmi, A.Ö: Ani ölüm, M.Y: Mitral yetmezlik, S: Semptom, S.H: Sistemik hastalık, ORT.: Ortalama ç: çarpıntı, a.s: asemptomik.

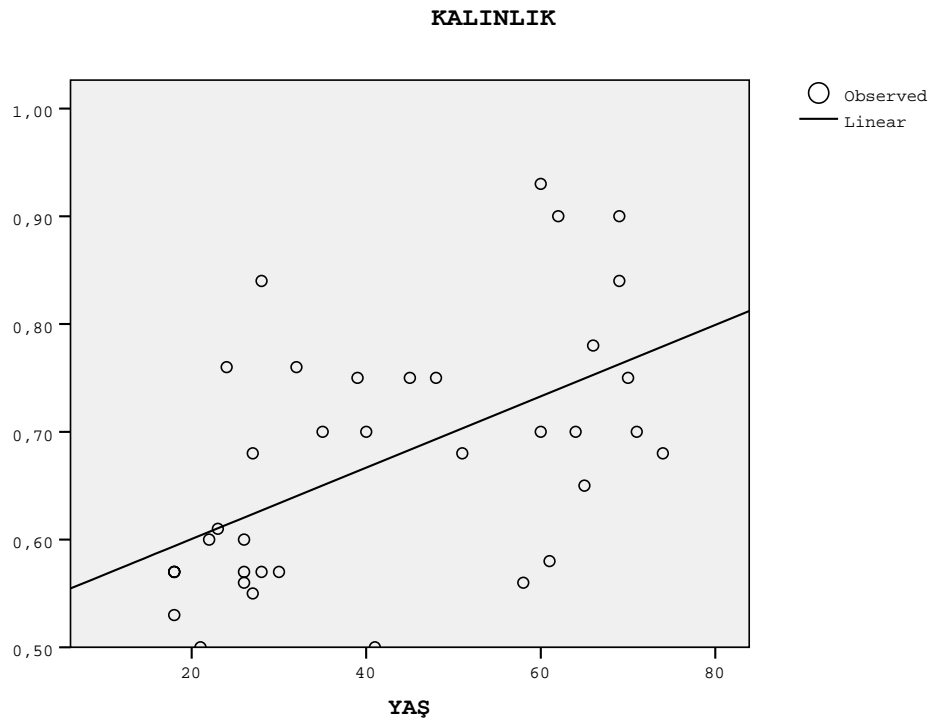
3.1.1.2.1 Çalışma Grubunda Mitral Kapak Kalınlığı ve Çöküş

Miktarının Yaşa Göre Dağılımı: Regresyon Analizi yöntemi kullanılarak inceleme yapıldığında mitral kapak çöküş miktarının yaş ile birlikte % 17,3 oranında anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. (R=0,416, p=0,012) (Grafik A).

Mitral kapak kalınlığının ise aynı grupta yaş ile birlikte % 29 oranında anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir (R= 0,539, p=0,01) (Grafik B).



Grafik A: *Mitral Kapak Çöküş Miktarının Yaşa Göre Dağılımı*



Grafik B: *Mitral Kapak Kalınlığının Yaşa Göre Dağılımı*

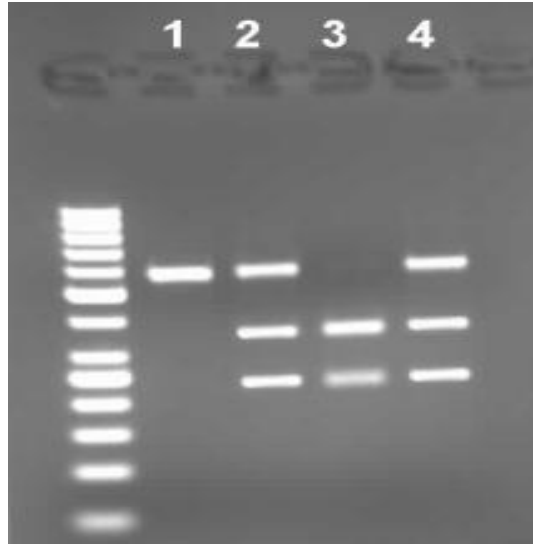
3.1.2 ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 GEN POLİMORFİZMLERİNİN GENOTİP VE HAPLOTİP ANALİZLERİ

3.1.2.1 ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmine Ait Bulgular

Kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olguların ADR β 1 Ser49Gly gen polimorfizm analiz sonuçları, RFLP yöntemi uygulanması sonrasında elde edilen DNA fragmanlarının büyüklük ve sayılarına göre değerlendirilmiştir.

Yabanil genotipe sahip olguların (AA) 564 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanına, mutant olguların (GG) 343 bç. ve 219 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanına ve heterozigot olguların (AG) 564 bç., 343 bç., ve 219 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanına sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 19).

Şekil 19: ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizmi İçin Yabanil (1), Heterozigot (2,4) ve Mutant (3) Genotiplerin RFLP sonrasında % 2' lik Agaroz Jeldeki Görüntüleri



3.1.2.1.1 Kontrol Grubu: Toplam 76 bireyden oluşan bu grupta, 62 kişinin yabanil (AA) (% 81,58), 13 kişinin heterozigot (AG) (% 17,11) ve

1 kişinin de mutant (GG) (% 1,32) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 10; Grafik 1).

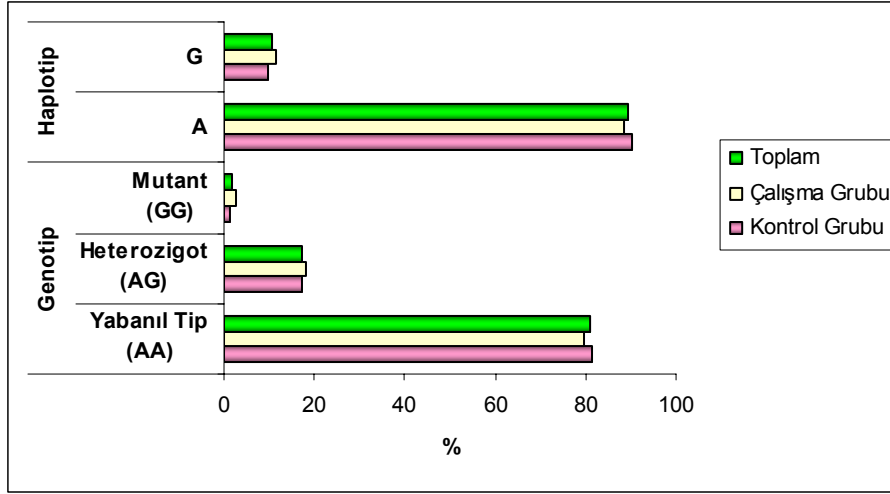
Kontrol grubunun allel sıklığı, 137 adet Adenin [A (% 90,13)] ve 15 adet Guanin [G (% 9,87)] haplotipi olarak saptanmıştır (Tablo 10; Grafik 1).

3.1.2.1.2 Çalışma Grubu: Toplam 39 olgudan oluşan bu grupta, 31 olgunun yabanil (AA) (% 79,49), 7 olgunun heterozigot (AG) (% 17,95) ve 1 olgunun da mutant (GG) (% 2,26) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 10 Grafik 1).

Çalışma grubunun allel sıklığı, 69 adet Adenin [A (% 88,46)] ve 9 adet Guanin [G (% 11,54)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 10;Grafik 1).

Tablo 10: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 1 Ser49Gly Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 1 Ser49Gly	KONTROL GRUBU n=76 Sıklığı %	ÇALIŞMA GRUBU n=39 Sıklığı %	TOPLAM n=115 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,25	0,880
Yabanil (AA)	62 (% 81,58)	31 (% 79,49)	93 (% 80,87)	0,8751	0,4342-1,7638	0,14	1,000
Heterozigot (AG)	13 (% 17,11)	7 (% 17,95)	20 (% 17,39)	1,0598	0,511-2,1974	0,02	1,000
Mutant (GG)	1 (% 1,32)	1 (% 2,56)	2 (% 1,74)	1,9641	0,236-16,3434	NA	1,000
HAPLOTİP DAĞILIMI							
A (Yabanil)	137 (% 90,13)	69 (% 88,46)	206 (% 89,57)	1,1913	0,4848-2,9271	0,15	0,820
G (Mutant)	15 (% 9,87)	9 (% 11,54)	24 (% 10,43)				



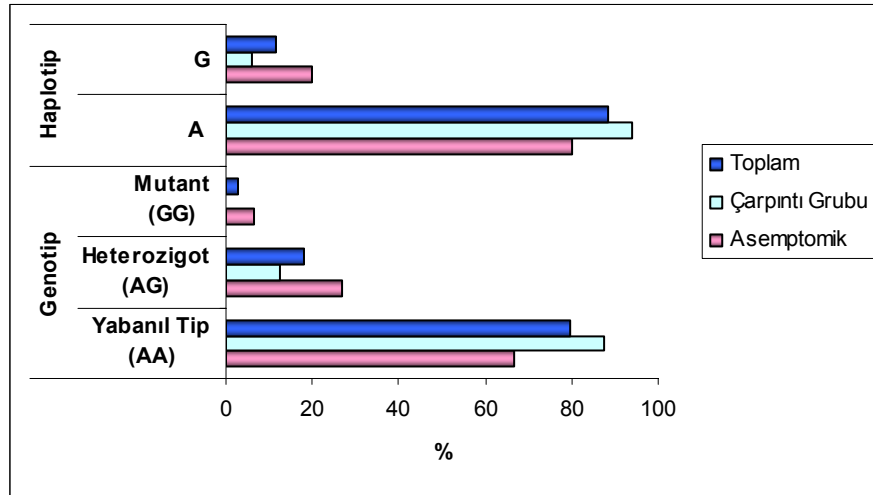
Grafik 1: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 1 Ser49Gly Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotype Dağılımı.

Çarpıntısı olan 24 olgudan 21' inin yabanıl (AA) (% 87,5), 3'ünün heterozigot (AG) (%12,5) genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. Asemptomik 15 olgudan 10' unun yabanıl (AA) (% 66,7), 4'ünün heterozigot (AG) (% 26,7) ve 1'inin homozigot (GG) (% 6,7) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 11; Grafik 2).

Çarpıntısı olan 24 olgunun allel sıklığı, 45 adet Adenin [A (% 93,8)] ve 3 adet Guanin [G (% 6,3)], asemptomik 15 olgunun ise 24 adet Adenin [A (% 80)] ve 6 adet Guanin [G (% 20)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 11; Grafik 2).

Tablo 11: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ1 Ser49Gly Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ1 Ser49Gly	ASEMPTOMİK n= 15 Sıklığı %	ÇARPINTI n= 24 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						3,14	0,2080
Yabanil (AA)	10 (% 66,7)	21 (% 87,5)	31 (% 79,5)	3,4948	1,6943-7,2087	12,25	0,0007
Heterozigot (AG)	4 (% 26,7)	3 (% 12,5)	7 (% 17,9)	0,3922	0,1871-0,8220	6,40	0,0272
Mutant (GG)	1 (% 6,7)	0	1 (% 2,6)	NA	NA	NA	NA
HAPLOTİP DAĞILIMI							
A (Yabanil)	24 (% 80)	45 (% 93,8)	69 (% 88,5)	0,2689	0,1046-0,691	3,42	0,0800
G (Mutant)	6 (% 20)	3 (% 6,3)	9 (% 11,5)				



Grafik 2: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ1 Ser49Gly Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

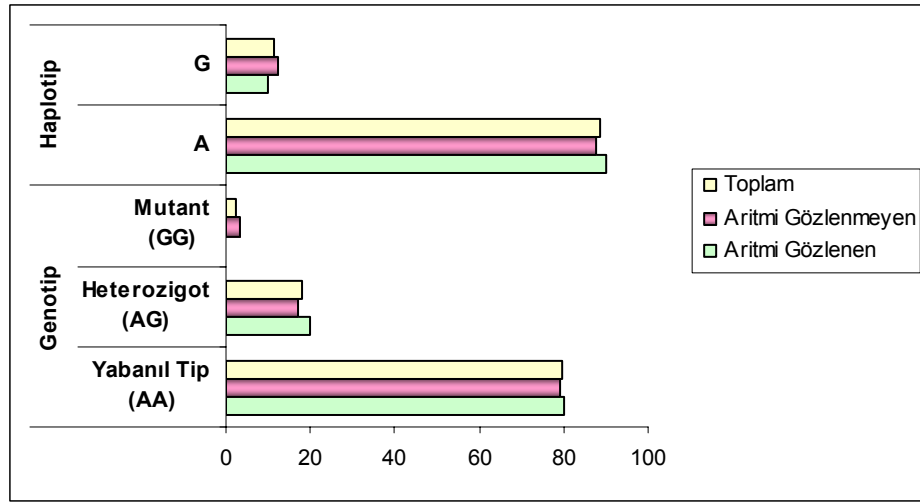
Aritmisi olan 10 olgudan 8' inin yabanil (AA) (% 80), 2' sinin heterozigot (AG) (% 20) genotipe sahip olduğu, aritmisi olmayan 29

olgudan 23' ünün yabanil (AA) (% 79,3), 5' inin heterozigot (AG) (% 17,2) ve 1'inin homozigot (GG) (% 3,4) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 12; Grafik 3).

Aritmi gözlenen 10 olgunun allel sıklığı, 18 adet Adenin [A (% 90)] ve 2 adet Guanin [G (% 10)], aritmi gözlenmeyen 29 olgunun ise 51 adet Adenin [A (% 87,9)] ve 7 adet Guanin [G (% 12,1)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 12; Grafik 3).

Tablo 12: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ1 Ser49Gly Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ1 Ser49Gly	ARİTMI GÖZLENEN n= 10 Sıklığı %	ARİTMI GÖZLENMEYEN n= 29 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI							
Yabanil (AA)	8 (% 80)	23 (% 79,3)	31 (%79,5)	1,0441	0,5244- 2,0787	0,377	0,828
Heterozigot (AG)	2 (% 20)	5 (% 17,2)	7 (% 17,9)	1,2035	0,5893- 2,4578		
Homozigot (GG)	0	1 (% 3,4)	1 (% 2,6)	NA	NA	NA	NA
HAPLOTİP DAĞILIMI							
A (Yabanil)	18 (% 90)	51 (% 87,9)	69 (% 88,5)	0,8072	0,3322- 1,9611	0,062	1,000
G (Mutant)	2 (% 10)	7 (12,1)	9 (% 11,5)				



Grafik 3: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ1 Ser49Gly Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

3.1.2.1.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grubu ADRβ1 Ser49Gly genotip analizi ($X^2=0,25$, $p>0,05$) ve haplotip analizi ($X^2=0,15$, $p>0,05$) açısından karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 10).

Çalışma grubunda çarpıntısı olan ve olmayan gruplar arasındaki ADRβ1 Ser49Gly genel genotip dağılımları incelendiğinde bu iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($X^2=3,14$, $p>0,05$). Ancak yabanıl (AA), mutant (GG) ve heterozigot (AG) genotipler ayrı ayrı değerlendirildiğinde; çarpıntısı olan grupta, yabanıl tipin (AA) anlamlı olarak yükseldiği ($X^2=12,25$, $p<0,05$) belirlenmiştir. Haplotip analizleri incelendiğinde ise aralarında bir farklılık saptanamamıştır [$X^2=3,42$, $p>0,05$ (Tablo 11)].

Çalışma grubundaki bireyler arasında aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular ADRβ1 Ser49Gly genotip analizi ($X^2=0,377$, $p>0,05$)

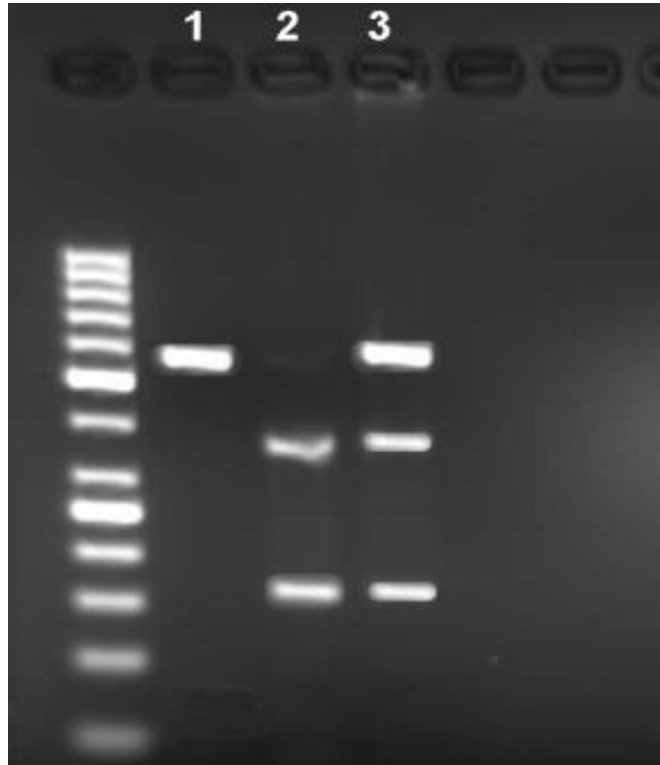
ve haplotip analizi ($X^2=0,062$, $p>0,05$) açısından karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 12).

3.1.2.2 ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmine Ait Bulgular

Kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olguların ADR β 1 Gly389Arg genotiplendirmeleri, RFLP yönteminin uygulanmasından sonra aşağıda belirtilen büyüklük ve sayıdaki DNA fragmanlarına göre yapılmıştır.

Yabanil genotipe sahip olguların (GG) 530 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanına, mutant olguların (CC) 342 bç. ve 154 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanına ayrıca jelde görüntülemeyen 34 bç.'lik bir fragmana ve heterozigot olguların (GC) 530 bç., 342 bç. ve 154 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanına sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 20).

Şekil 20: ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizmi İçin Yabanil (1), Heterozigot (3) ve Mutant (2) Genotiplerin RFLP sonrasında % 2' lik Agaroz Jeldeki Görüntüleri



3.1.2.2.1 Kontrol Grubu: Toplam 76 sağlıklı kişiden oluşan bu grupta, 59 kişinin yabanil (GG) (% 77,63), 14 kişinin heterozigot (GC) (% 18,42) ve 3 kişinin de mutant (CC) (% 3,95) genotipe sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 13; Grafik 4).

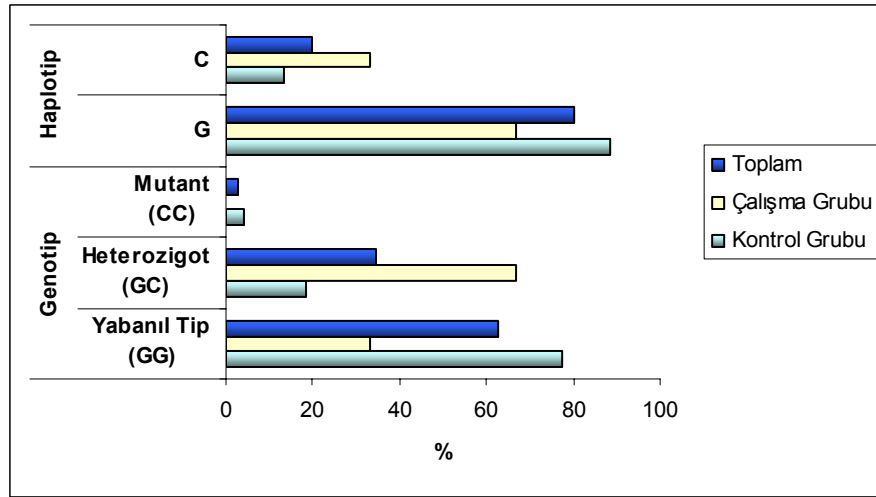
Kontrol grubunun allel sıklığı, 132 adet Guanin [G (% 86,84)] ve 20 adet Sitozin [C (% 13,16)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 13; Grafik 4).

3.1.2.2.2 Çalışma Grubu: Toplam 39 olgudan oluşan bu grupta, 13 olgunun yabanil (GG) (% 33,33) ve 26 olgunun heterozigot (GC) (%66,67) genotipe sahip olduğu saptanmış ve mutant (CC) genotipe sahip herhangi bir olguya rastlanmamıştır. (Tablo 13; Grafik 4).

Çalışma grubunun allel sıklığı; 52 adet Guanin [G (%66,67)] ve 26 adet Sitozin [C (% 33,33)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 13;Grafik 4).

Tablo 13: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 1 Gly389Arg Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 1 Gly389Arg	KONTROL GRUBU n=76 Sıklığı %	ÇALIŞMA GRUBU n=39 Sıklığı %	TOPLAM n=115 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						26,87	<0,0001
Yabanil (GG)	59 (% 77,63)	13 (% 33,33)	72 (% 62,61)	0,1441	0,0767- 0,27	39,73	<0,0001
Heterozigot (GC)	14 (% 18,42)	26 (% 66,67)	40 (% 34,78)	8,8591	4,6035- 17,05	47,62	<0,0001
Mutant (CC)	3 (% 3,95)	0	3 (% 2,61)	NA	NA	NA	NA
HAPLOTİP DAĞILIMI							
G (Yabanil)	132 (% 86,84)	52 (% 66,67)	184 (% 80)	3,2989	1,6163- 6,7332	13,11	<0,0001
C (Mutant)	20 (% 13,16)	26 (% 33,33)	46 (% 20)				



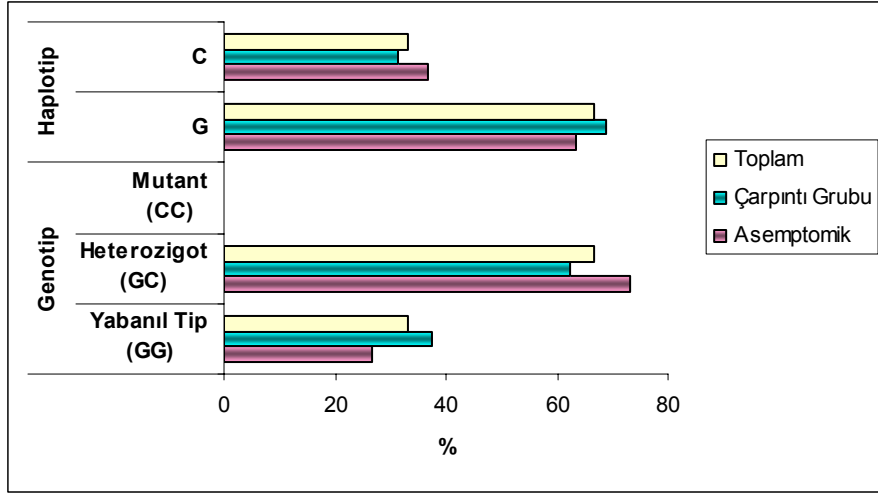
Grafik 4: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 1 Gly389Arg Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Çarpıntısı olan 24 olgudan 9'unun yabanıl (GG) (% 37,5), 15' inin heterozigot (GC) (% 62,5) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Asemptomik 15 olgudan ise 4' ünün yabanıl (GG) (% 26,7), 11' inin heterozigot (GC) (% 73,3) genotipe sahip olduğu görülmüştür (Tablo 14; Grafik 5).

Çarpıntısı olan 24 olgunun allel sıklığı, 33 adet Guanin [G (% 68,8)] ve 15 adet Sitozin [C (% 31,3)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 14;Grafik 5).

Tablo 14: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADR β 1 Gly389Arg Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 1 Gly389Arg	ASEMPTOMİK n= 15 Sıklığı %	ÇARPINTI n= 24 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,49	0,728
Yabanıl (GG)	4 (% 26,7)	9 (% 37,5)	13 (% 33,3)	1,6472	0,9039- 3,0019	2,68	0,196
Heterozigot (GC)	11 (% 73,3)	15 (% 62,5)	26 (% 66,7)	0,6071	0,3331- 1,1064	2,68	0,196
Mutant (CC)	0	0	0	NA	NA	NA	NA
HAPLOTİP DAĞILIMI							
G (Yabanıl)	19 (% 63,3)	33 (% 68,8)	52 (% 66,7)	0,7858	0,4371- 1,4127	0,24	0,631
C (Mutant)	11 (% 36,7)	15 (% 31,3)	26 (% 33,3)				



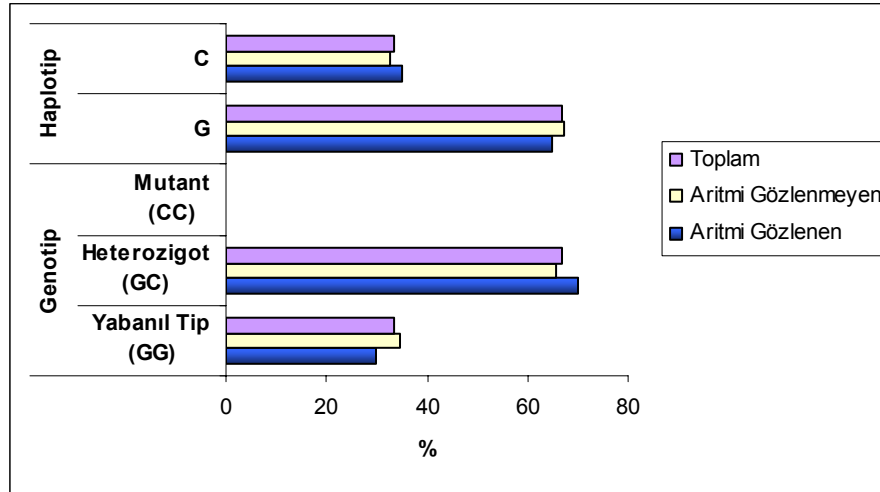
Grafik 5: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ1 Gly389Arg Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Aritmisi olan 10 olgudan 3' ünün yabancı (GG) (% 30), 7' sinin heterozigot (GC) (% 70) genotipe sahip olduğu, aritmisi olmayan 29 olgudan 10' unun yabancı (GG) (% 34,5), 19' unun heterozigot (GC) (% 65,5) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 15; Grafik 6).

Aritmi gözlenen 10 olgunun allel sıklığı, 13 adet Guanin [G (% 65)] ve 7 adet Sitozin [C (% 35)], aritmi gözlenmeyen 29 olgunun ise 39 adet Guanin [G (% 67,2)] ve 19 adet Sitozin [C (% 32,8)] haplotipine sahip oldukları belirlenmiştir (Tablo 15; Grafik 6).

Tablo 15: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ1 Gly389Arg Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ1 Gly389Arg	ARİTMİ GÖZLENEN n= 10 Sıklığı %	ARİTMİ GÖZLENMEYEN n= 29 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,07	1
Yabanıl (GG)	3 (% 30)	10 (% 34,5)	13 (%33,3)	0,8137	0,4492- 1,4739	0,46	1
Heterozigot (GC)	7 (% 70)	19 (% 65,5)	26 (% 66,7)	1,229	0,6785- 2,2262	0,46	1
Mutant (CC)	0	0	0	NA	NA	NA	NA
HAPLOTİP DAĞILIMI							
G (Yabanıl)	13 (% 65)	39 (% 67,2)	52 (% 66,7)	1,1032	0,6141- 1,9818	0,03	1
C (Mutant)	7 (% 35)	19 (%32,8)	26 (% 33,3)				



Grafik 6: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ1 Gly389Arg Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

3.1.2.2.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grubundaki olgular ADR β 1 Gly389Arg polimorfizmi açısından karşılaştırıldıklarında, aralarında anlamlı istatistiksel bir farklılığın olduğu ($X^2=26,87$, $p<0,05$) ve çalışma grubundaki heterozigot (GC) genotipin anlamlı olarak yükseldiği gözlenmiştir. Aynı gruplar haplotip analizi açısından da karşılaştırıldıklarında anlamlı bir farklılığın olduğu ($X^2=13,11$, $p<0,05$), çalışma grubundaki mutant (CC) allel sıklığının anlamlı olarak yükseldiği belirlenmiştir (Tablo 13).

Çalışma grubunda çarpıntısı olan ve olmayanlar ADR β 1 Gly389Arg polimorfizmi açısından ($X^2=0,489$, $p>0,05$) ve aynı zamanda haplotip analizi açısından karşılaştırıldıklarında ($X^2=0,24$, $p>0,05$) aralarında anlamlı bir farklılığın olduğu belirlenememiştir (Tablo 14).

Çalışma grubundaki aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular arasında ise ADR β 1 Gly389Arg polimorfizmi hem genotip analizi ($X^2=0,07$, $p>0,05$) hem de haplotip analizi ($X^2=0,03$, $p>0,05$) açısından karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 15).

3.1.2.3 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmine Ait Bulgular

Kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olguların ADR β 2 Arg16Gly polimorfizmi değerlendirmeleri, RFLP yönteminin uygulanmasından sonra elde edilen farklı büyüklük ve sayıdaki DNA fragmanlarına göre yapılmıştır.

Yabanil genotipe sahip olguların (AA) 242 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanına, mutant olguların (GG) 214 bç. ve 28 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanına ve heterozigot olguların (AG) ise 242 bç., 214 bç., ve 28 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanına sahip oldukları görüntülenmiştir (Şekil 21).

Şekil 21: *ADRβ2 Arg16Gly Polimorfizmi İçin Yabanil (1), Heterozigot (3) ve Mutant (2) Genotiplerin RFLP sonrasında % 3' lik Agaroz Jeldeki Görüntüleri*



3.1.2.3.1 Kontrol Grubu: Toplam 76 bireyden oluşan bu grupta, 27 kişinin yabanil (AA) (% 35,53), 30 kişinin heterozigot (AG) (% 39,47) ve 19 kişinin de mutant (GG) (% 25) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 16; Grafik 7).

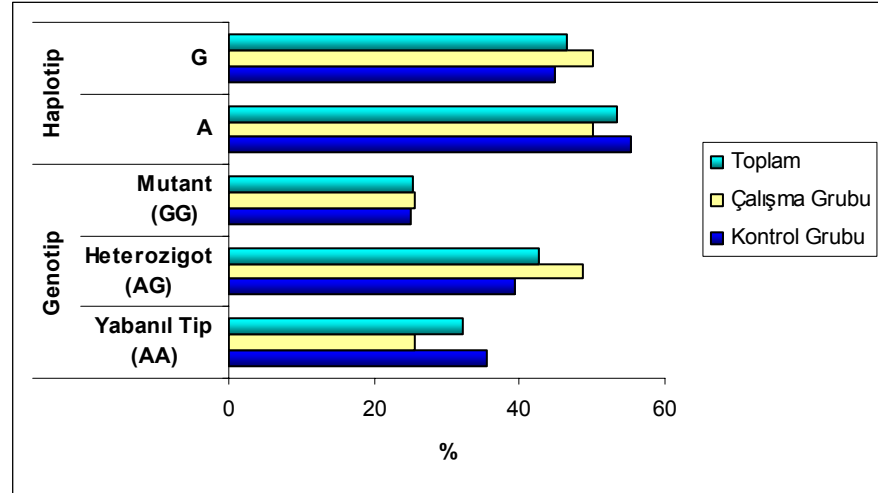
Kontrol grubunun allel sıklığı, 84 adet Adenin [A (% 55,26)] ve 68 adet Guanin [G (% 44,74)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 16; Grafik 7).

3.1.2.3.2 Çalışma Grubu: Bu gruptaki toplam 39 olgudan, 10 olgunun yabanil (AA) (% 25,64), 19 olgunun heterozigot (AG) (% 48,72) ve 10 olgunun da mutant (GG) (% 25,64) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 16, Grafik 7).

Çalışma grubunun allel sıklığı, 39 adet Adenin [A (% 50)] ve 39 adet Guanin [G (% 50)] haplotipi olarak bulunmuştur (Tablo 16; Grafik 7).

Tablo 16: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 2 Arg16Gly Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 2 Arg16Gly	KONTROL GRUBU n=76 Sıklığı %	ÇALIŞMA GRUBU n=39 Sıklığı %	TOPLAM n=115 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						1,30	0,521
Yabaniil (AA)	27 (% 35,53)	10 (% 25,64)	37 (% 32,17)	0,6257	0,3408- 1,1488	2,30	0,256
Heterozigot (AG)	30 (% 39,47)	19 (% 48,72)	49 (% 42,61)	1,457	0,8315- 2,5529	1,69	0,403
Mutant (GG)	19 (% 25)	10 (% 25,64)	29 (% 25,22)	1,0344	0,5468- 1,9568	0,01	1,000
HAPLOTİP ANALİZİ							
A (Yabaniil)	84 (% 55,26)	39 (% 50)	123 (% 53,48)	1,2351	0,7084- 2,1535	0,57	0,487
G (Mutant)	68 (% 44,74)	39 (% 50)	107 (% 46,52)				



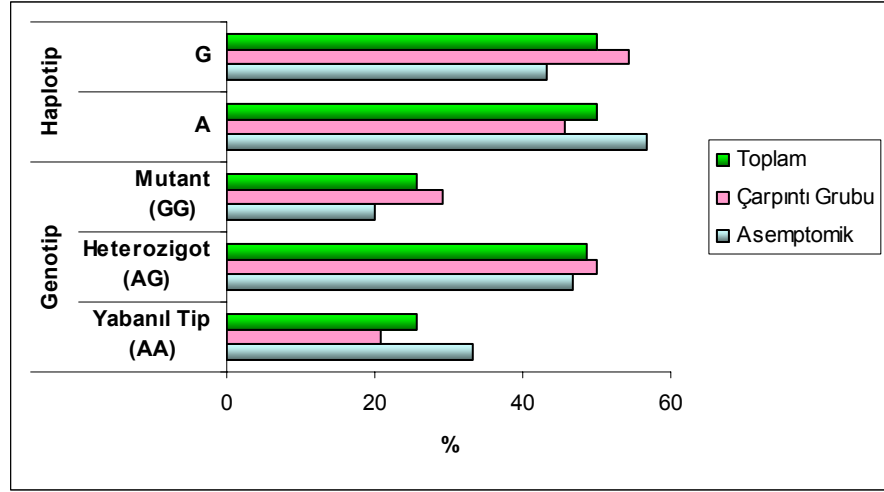
Grafik 7: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Çarpıntısı olan 24 olgudan 5' inin yabanil (AA) (% 20,8), 12' sinin heterozigot (AG) (% 50) ve 7' sinin mutant (GG) (29,2) genotipe sahip olduğu, asemptomik 15 olgudan ise 5' inin yabanil (AA) (% 33,3) , 7' sinin heterozigot (AG) (% 46,7) ve 3' ünün mutant (GG) (% 20) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 17, Grafik 8).

Bu gruptaki çarpıntısı olan 24 olgunun allel sıklığı, 22 adet Adenin [A (% 45,8)] ve 26 adet Guanin [G (% 54,2)], asemptomik 15 olgunun allel sıklığı ise 17 adet Adenin [A (% 56,7)] ve 13 adet Guanin [G (% 43,3)] haplotipi olarak bulunmuştur (Tablo 17; Grafik 8).

Tablo 17: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ2 Arg16Gly Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ2 Arg16Gly	ASEMPTOMİK n= 15 Sıklığı %	ÇARPINTI n= 24 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,89	0,6420
Yabanil (AA)	5 (% 33,3)	5 (% 20,8)	10 (% 25,6)	0,526	0,2781- 0,9949	3,96	0,0806
Heterozigot (AG)	7 (% 46,7)	12 (% 50)	19 (% 48,7)	1,1413	0,6552- 1,988	0,22	1,0000
Mutant (GG)	3 (% 20)	7 (% 29,2)	10 (% 25,6)	1,6497	0,859- 3,1684	2,28	0,2086
HAPLOTİP DAĞILIMI							
A (Yabanil)	17 (% 56,7)	22 (% 45,8)	39 (% 50)	1,5496	0,887- 2,7071	0,87	0,485
G (Mutant)	13 (% 43,3)	26 (% 54,2)	39 (% 50)				



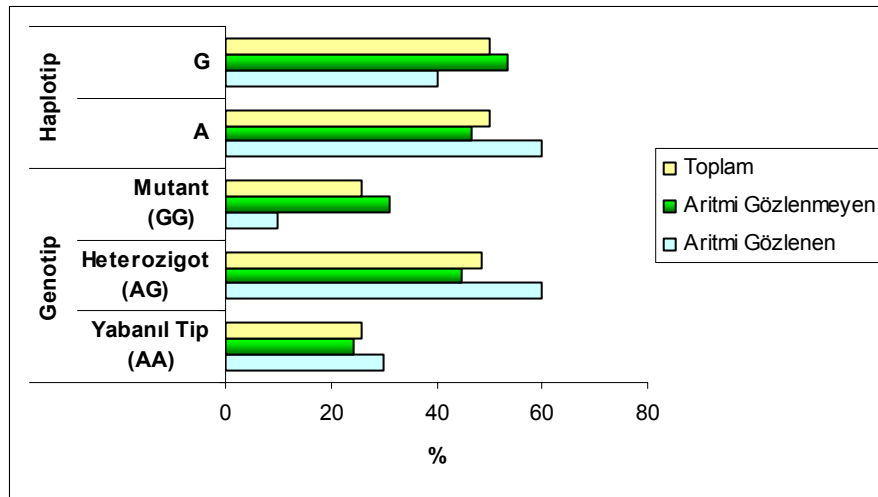
Grafik 8: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ2 Arg16Gly Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Aritmisi olan 10 olgudan 3' ünün ADRβ2 Arg16Gly polimorfizmi bakımından yabanıl (AA) (% 30) , 6' sinin heterozigot (AG) (% 60) , 1' inin ise mutant (GG) (% 10) genotipe sahip olduğu, aritmisi olmayan 29 olgudan 7' sinin yabanıl (AA) (% 24,1) , 13' ünün heterozigot (AG) (% 44,8) ve 9' unun da mutant (GG) (% 31) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 18; Grafik 9).

Aritmi gözlenen 10 olgunun allel sıklığı, 12 adet Adenin [A (% 60)] ve 8 adet Guanin [G (% 40)], aritmi gözlenmeyen 29 olgunun ise, 27 adet Adenin [A (% 46,6)] ve 31 adet Guanin [G (% 53,4)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 18; Grafik 9).

Tablo 18: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADR β 2 Arg16Gly Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 2 Arg16Gly	ARİTMI GÖZLENEN n= 10 Sıklığı %	ARİTMI GÖZLENMEYEN n= 29 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						1,73	0,4200
Yabanil (AA)	3 (% 30)	7 (% 24,1)	10 (%25,6)	1,3497	0,7211- 2,5263	0,88	1,0000
Heterozigot (AG)	6 (% 60)	13 (% 44,8)	19 (% 48,7)	1,8482	1,054- 3,2408	4,63	0,0796
Mutant (GG)	1 (% 10)	9 (% 31)	10 (% 25,6)	0,2473	0,1135- 0,5388	13,53	0,0004
HAPLOTİP DAĞILIMI							
A (Yabanil)	12 (% 60)	27 (% 46,6)	39 (% 50)	0,5818	0,3321- 1,0193	1,08	0,4370
G (Mutant)	8 (% 40)	31 (% 53,4)	39 (% 50)				



Grafik 9: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

3.1.2.3.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grubunda ADR β 2 Arg16Gly polimorfizmi hem genotip analizi ($X^2= 1,30$, $p>0,05$) hem de haplotip analizi ($X^2=0,57$, $p>0,05$) açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 16).

Çalışma grubunda çarpıntısı olan ve olmayan gruplar arasında ADR β 2 Arg16Gly polimorfizmi için genel genotip dağılım değerlendirmesi yapıldığında anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($X^2=0,89$, $p>0,05$). Ancak yabanil (AA), mutant (GG) ve heterozigot (AG) genotipler ayrı ayrı değerlendirildiğinde; çarpıntısı olan grupta, yabanil tip (AA) sıklığının anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir($X^2=3,96$, $p=0,0403<0,05 \rightarrow$ tek taraflı). Aynı grupların haplotip analizi yapıldığında ise aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır [$X^2=0,87$, $p>0,05$ (Tablo 17)].

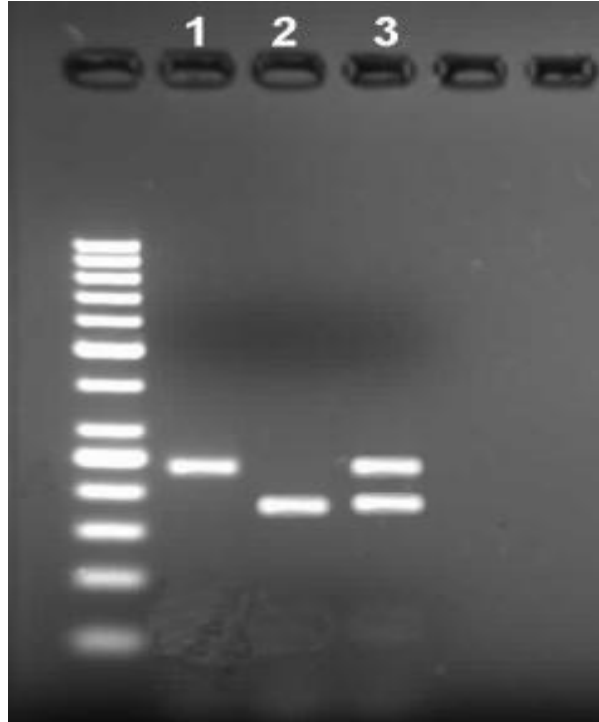
Çalışma grubundaki bireyler arasında aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular ADR β 2 Arg16Gly polimorfizm genel genotip dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında, aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($X^2=1,73$, $p>0,05$). Ancak yabanil (AA), mutant (GG) ve heterozigot (AG) genotipler ayrı ayrı değerlendirildiğinde; mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen olgularda anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir ($X^2=13,53$, $p<0,05$). Aynı gruplar arasında haplotip analizi yapıldığında ise aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [$X^2=1,08$, $p>0,05$ (Tablo 18)].

3.1.2.4 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmine Ait Bulgular

Kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olguların ADR β 2 Gln27Glu genotiplendirmeleri, RFLP yöntemiyle elde edilen farklı büyüklük ve sayıdaki DNA fragmanına göre yapılmıştır.

Yabanil genotipe sahip olgularda (CC) 180 bç. ve 55 bç büyüklüğünde iki DNA fragmanı ve ayrıca 7 bç.'lik ayırt edilemeyen bir fragmanı, mutant olgularda (GG) 242 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanı ve heterozigot olgularda (CG) ise 242 bç., 180 bç., ve 55 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı görüntülenmiştir (Şekil 22).

Şekil 22: *ADRβ2 Gln27Glu Polimorfizmi İçin Yabanil (2), Heterozigot (3) ve Mutant (1) Genotiplerin RFLP sonrasında % 2' lik Agaroz Jeldeki Görüntüleri*



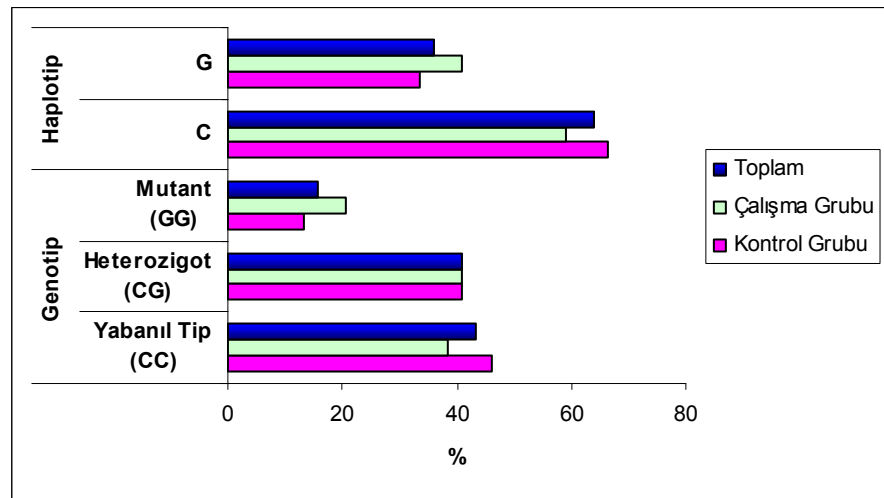
3.1.2.4.1 Kontrol Grubu: Toplam 76 bireyden oluşan bu grupta, 35 bireyin yabanil (CC) (% 46,05), 31 bireyin heterozigot (CG) (% 40,79) ve 10 olgunun da mutant (GG) (% 13,16) genotipe sahip olduğu ve ayrıca allel sıklıklarınının 101 adet Sitozin [C (% 66,45)] ve 51 adet Guanin [G (% 33,55)] haplotipi olduğu belirlenmiştir (Tablo 19; Grafik 10).

3.1.2.4.2 Çalışma Grubu: Bu grubu oluşturan toplam 39 olgudan, 15 olgunun yabanil (CC) (% 38,46), 16 olgunun heterozigot (CG) (% 41,03) ve 8 olgunun da mutant (GG) (% 20,51) genotipe sahip olduğu ayrıca allel

sıklığının ise 46 adet Sitozin [C (% 58,97)] ve 32 adet Guanin [G (% 41,03)] haplotipi olduğu belirlenmiştir (Tablo 19; Grafik 10).

Tablo 19: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 2 Gln27Glu Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 2 Gln27Glu	KONTROL GRUBU n=76 Sıklığı %	ÇALIŞMA GRUBU n=39 Sıklığı %	TOPLAM n=115 Sıklığı %	OR	%95 CI	χ^2	p
GENOTİP DAĞILIMI						1,23	0,54
Yabanil (CC)	35 (% 46,05)	15 (% 38,46)	50 (% 43,48)	0,73 22	0,417-1,2857	1,18	0,51
Heterozigot (CG)	31 (% 40,79)	16 (% 41,03)	47 (% 40,87)	1,01	0,5748-1,7749	0,00	1,00
Mutant (GG)	10 (% 13,16)	8 (% 20,51)	18 (% 15,65)	1,70 26	0,7993-3,6267	1,93	0,37
HAPLOTİP DAĞILIMI							
C (Yabanil)	101 (% 66,45)	46 (% 58,97)	147 (% 63,91)	1,37	0,7752-2,4501	1,25	0,31
G (Mutant)	51 (% 33,55)	32 (% 41,03)	83 (% 36,09)	81			



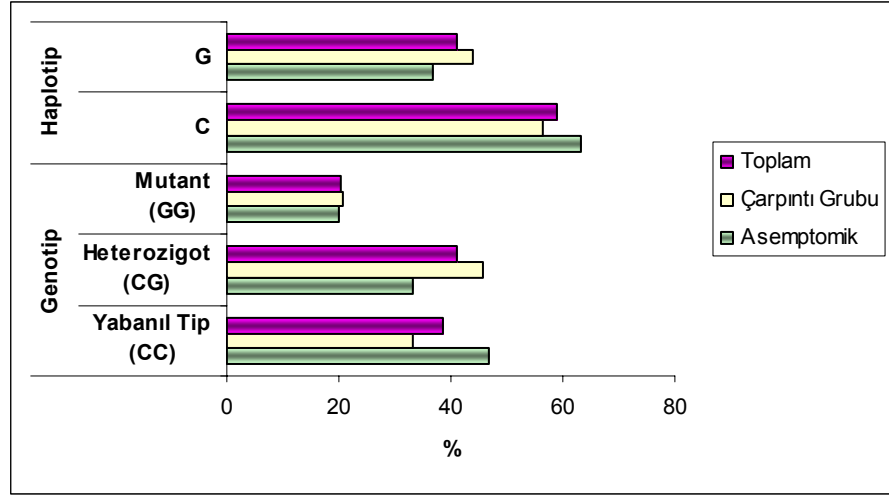
Grafik 10: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Çarpıntısı olan 24 olgudan 8' inin yabancı (CC) (% 33,33) , 11' inin heterozigot (CG) (% 45,8) , 5' inin mutant (GG) (% 20,8) genotipe, asemptomik 15 olgudan ise 7' sinin yabancı (CC) (% 46,7) , 5' inin heterozigot (CG) (% 33,3) ve 3' ünün mutant (GG) (% 20) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 20, Grafik 11).

Çarpıntısı olan 24 olgunun allel sıklığı, 27 adet Sitozin [C (% 56,3)] ve 21 adet Guanin [G (% 43,8)], asemptomik 15 olgunun ise 19 adet Sitozin [C (% 63,3)] ve 11 adet Guanin [G (% 36,7)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 20; Grafik 11).

Tablo 20: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADR β 2 Gln27Glu Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 2 Gln27Glu	ASEMPTOMİK n= 15 Sıklığı %	ÇARPINTI n= 24 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,78	0,677
Yabancı (CC)	7 (% 46,7)	8 (% 33,3)	15 (% 38,5)	0,5698	0,3216- 1,0097	3,74	0,060
Heterozigot (CG)	5 (% 33,3)	11 (% 45,8)	16 (% 41)	1,6926	0,9549- 3,0004	3,27	0,168
Mutant (GG)	3 (% 20)	5 (% 20,8)	8 (% 20,5)	1,0505	0,528- 2,0901	0,02	1,000
HAPLOTİP DAĞILIMI							
C (Yabancı)	19 (% 63,3)	27 (% 56,3)	46 (% 59)	1,3442	0,7625- 2,3697	0,38	0,638
G (Mutant)	11 (% 36,7)	21 (% 43,8)	32 (% 41)				



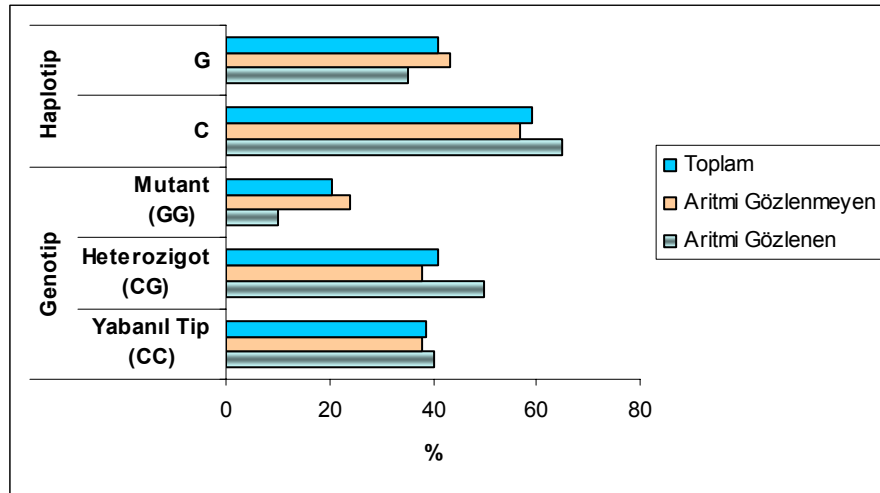
Grafik 11: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ2 Gln27Glu Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Aritmisi olan 10 olgudan 4' ünün yabancı (CC) (% 40), 5' inin heterozigot (CG) (% 50) ve 1' inin de mutant (GG) (% 10) genotipe, aritmisi olmayan grupta ise 29 olgudan 11' inin yabancı (CC) (% 37,9), 11' inin heterozigot (CG) (% 37,9), 7' sinin mutant (GG) (% 24,1) genotipe sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 21; Grafik 12).

Aritmi gözlenen 10 olgunun allel sıklığı 13 adet Sitozin [C (% 65)] ve 7 adet Guanin [G (% 35)], aritmi gözlenmeyen 29 olgunun ise 33 adet Sitozin [C (% 56,9)] ve 25 adet Guanin [G (% 43,1)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 21; Grafik 12).

Tablo 21: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ2 Gln27Glu Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ2 Gln27Glu	ARİTMİ GÖZLENEN n= 10 (% 100)	ARİTMİ GÖZLENMEYEN n= 29 (% 100)	TOPLAM n= 39 (% 100)	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,99	0,607
Yabaniil (CC)	4 (% 40)	11 (% 37,9)	15 (%38,5)	1,0923	0,6186-1,9287	0,09	1,000
Heterozigot (CG)	5 (% 50)	11 (%37,9)	16 (% 41)	1,6385	0,9332-2,8769	2,97	0,177
Mutant (GG)	1 (% 10)	7 (% 24,1)	8 (% 20,5)	0,3499	0,1575-0,7772	7,03	0,017
HAPLOTİP DAĞILIMI							
C (Yabaniil)	13 (% 65)	33 (% 56,9)	46 (% 59)	0,7109	0,4018-1,2577	0,40	0,604
G (Mutant)	7 (% 35)	25 (% 43,1)	32 (% 41)				



Grafik 12: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ2 Gln27Glu Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

3.1.2.4.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grubu ADR β 2 Gln27Glu polimorfizmi açısından ($X^2=1,23$, $p>0,05$) ve haplotip analizi açısından karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır [$X^2=1,25$, $p>0,05$ (Tablo 19)].

Çalışma grubunda çarpıntısı olan ve olmayanlar ADR β 2 Gln27Glu polimorfizmi açısından kıyaslandıklarında, aralarında anlamlı bir farklılık belirlenememiştir ($X^2=0,781$, $p>0,05$). Ayrıca aynı gruplar haplotip analizi açısından da karşılaştırıldıklarında; bir farklılık gözlenememiştir [$X^2=0,38$, $p>0,05$ (Tablo 20)].

Çalışma grubundaki aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular ADR β 2 Gln27Glu polimorfizmi için genel genotip dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında, aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($X^2=0,99$, $p>0,05$). Fakat yabanil (CC), mutant (GG) ve heterozigot (CG) genotipler kıyaslandığında; mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen grupta anlamlı derecede arttığı saptanmıştır ($X^2=7,03$, $p<0,05$). Aynı gruplar haplotip analizi açısından karşılaştırıldıklarında ise aralarında bir farklılık bulunamamıştır [$X^2=0,40$, $p>0,05$ (Tablo 21)].

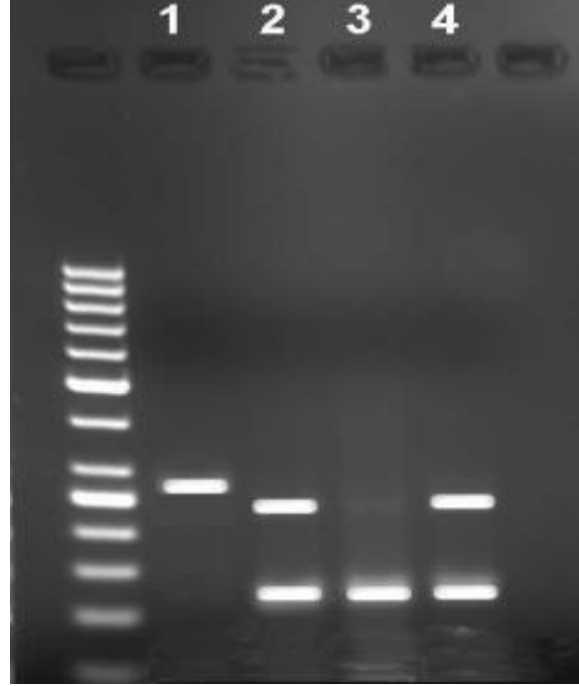
3.1.2.5 ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizmine Ait Bulgular

Kontrol ve çalışma grubunda ADR β 2 Ile164Thr polimorfizm analizi, RFLP yönteminden sonra elde edilen farklı büyüklük ve sayıdaki DNA fragmanlarına göre yapılmıştır.

Yabanil genotipe sahip olguların (TT) 283 bç büyüklüğünde tek bir DNA fragmanına, mutant olguların (CC) 126 bç. ve 114 bç. büyüklüğünde iki DNA fragmanına ve ayrıca jelde görüntülenemeyen 43 bç.'lik bir DNA

fragmanına ve heterozigot olan olguların da (TC) 283 bç., 126 bç., ve 114 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanına sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 23).

Şekil 23: *ADRβ2 Ile164Thr Polimorfizmi İçin Yabanil (1), Heterozigot (2,4) ve Mutant (3) Genotiplerin RFLP sonrasında % 2' lik Agaroz Jeldeki Görüntüleri*



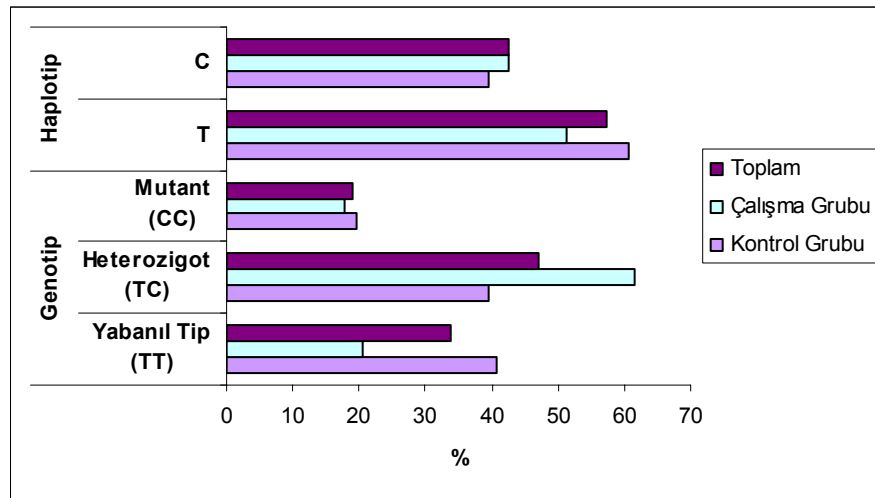
3.1.2.5.1 Kontrol Grubu: Bu grubu oluşturan toplam 76 olgudan, 31 olgunun yabanil (TT) (% 40,79), 30 olgunun heterozigot (TC) (% 39,47) ve 15 olgunun da mutant (CC) (% 19,74) genotipe sahip olduğu ve allel sıklıkları ise 92 adet Timin [T (% 60,53)] ve 60 adet Sitozin [C (% 39,47)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 22; Grafik 13).

3.1.2.5.2 Çalışma Grubu: Bu grupta ise 39 olgudan, 8 olgunun yabanil (TT) (% 20,51), 24 olgunun heterozigot (TC) (% 61,54) ve 7 olgunun da mutant (CC) (% 17,95) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 22; Grafik 13).

Allel sıklığının, 40 adet Timin [T (% 51,28)] ve 38 adet Sitozin [C (% 42,61)] haplotipinden oluştuğu belirlenmiştir (Tablo 22; Grafik 13).

Tablo 22: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 2 Ile164Thr Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADR β 2 Ile164Thr	KONTROL GRUBU n=76 Sıklığı %	ÇALIŞMA GRUBU n=39 Sıklığı %	TOPLAM n=115 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						5,84	0,054
Yabaniil (TT)	31 (% 40,79)	8 (% 20,51)	39 (% 33,91)	0,3745	0,1998-0,7019	9,67	0,0045
Heterozigot (TC)	30 (% 39,47)	24 (% 61,54)	54 (% 46,96)	2,4539	1,3899-4,3323	9,74	0,0038
Mutant (CC)	15 (% 19,74)	7 (% 17,95)	22 (% 19,13)	0,8895	0,4376-1,8082	0,10	1,000
HAPLOTİP DAĞILIMI							
T (Yabaniil)	92 (% 60,53)	40 (% 51,28)	132 (% 57,39)	1,457	0,8315-2,5529	1,80	0,206
C (Mutant)	60 (% 39,47)	38 (% 42,61)	98 (% 42,61)				



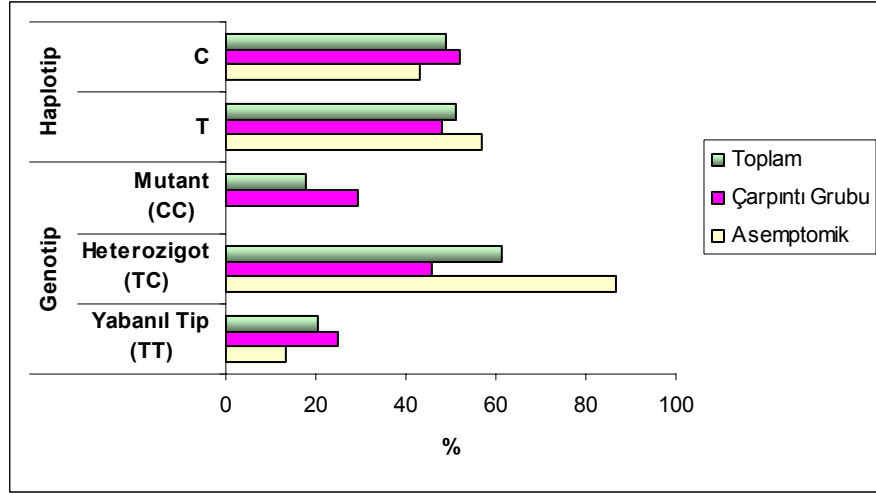
Grafik 13: Kontrol ve Çalışma Grubunun ADR β 2 Ile164Thr Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Çarpıntısı olan 24 olgudan 6' sinin yabancı (TT) (% 25), 11' inin heterozigot (TC) (% 45,8), 7' sinin mutant (CC) (% 29,2) genotipe sahip olduğu, asemptomik 15 olgudan ise 2' sinin yabancı (TT) (% 13,3), 13' ünün heterozigot (TC) (% 86,7) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Asemptomik olgulardan ise mutant genotipe sahip hiçbir olguya rastlanmamıştır (Tablo 23; Grafik 14).

Çarpıntısı olan gruptaki 24 olgunun allel sıklığı, 23 adet Timin [T (% 47,9)] ve 25 adet Sitozin [C (% 52,1)], asemptomik 15 olgunun ise 17 adet Timin [T (% 56,7)] ve 13 adet Sitozin [C (% 43,3)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 23; Grafik 14).

Tablo 23: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ2 Ile164Thr Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ2 Ile164Thr	ASEMPTOMİK n= 15 Sıklığı %	ÇARPINTI n= 24 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						7,49	0,024
Yabancı (TT)	2 (% 13,3)	6 (% 25)	8 (% 20,5)	2,1729	1,0435- 4,5248	4,42	0,063
Heterozigot (TC)	13 (% 86,7)	11 (% 45,8)	24 (% 61,5)	0,1296	0,0645- 0,2606	37,41	<0,0001
Mutant (CC)	0	7 (% 29,2)	7 (% 17,9)	NA	NA	NA	NA
HAPLOTİP DAĞILIMI							
T (Yabancı)	17 (% 56,7)	23 (% 47,9)	40 (% 51,3)	1,4243	0,8159- 2,4864	0,57	0,492
C (Mutant)	13 (% 43,3)	25 (%52,1)	38 (% 48,7)				



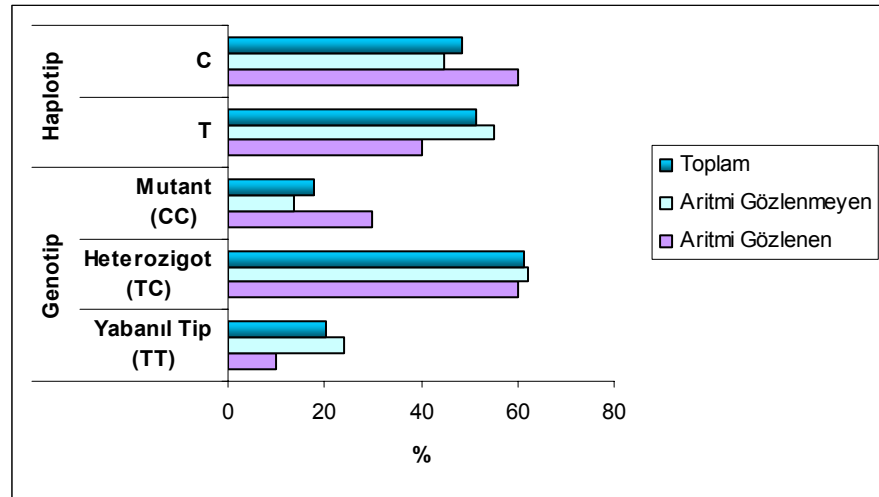
Grafik 14: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki ADRβ2 Ile164Thr Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Çalışma grubundaki aritmi gözlenen 10 olgudan 1' inin yabani (TT) (% 10), 6' sının heterozigot (TC) (% 60), 3' ünün mutant (CC) (% 30) genotipe sahip olduğu, aritmi gözlenmeyen 29 olgudan 7' sinin yabani (TT) (% 24,1), 18' inin heterozigot (TC) (% 62,1), 4' ünün mutant (% 13,8) (CC) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 24; Grafik 15).

Aritmi gözlenen 10 olgunun allel sıklığı, 8 adet Timin [T (% 40)] ve 12 adet Sitozin [C (% 60)], aritmi gözlenmeyen 29 olgunun ise 32 adet Timin [T (% 55,2)] ve 26 adet Sitozin [C (% 44,8)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 24; Grafik 15).

Tablo 24: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ2 Ile164Thr Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

ADRβ2 Ile164Thr	ARİTMI GÖZLENEN n= 10 Sıklığı %	ARİTMI GÖZLENMEYEN n= 29 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						1,82	0,403
Yabanıl (TT)	1 (% 10)	7 (% 24,1)	8 (% 20,5)	0,3499	0,1575- 0,7772	7,03	0,0171
Heterozigot (TC)	6 (% 60)	18 (% 62,1)	24 (% 61,5)	0,9155	0,5185- 1,6166	0,09	1,0000
Mutant (CC)	3 (% 30)	4 (% 13,8)	7 (% 17,9)	2,6770	1,3145- 5,4518	7,67	0,0069
HAPLOTİP DAĞILIMI							
T (Yabanıl)	8 (% 40)	32 (% 55,2)	40 (% 51,3)	1,8482	1,054- 3,2408	1,37	0,303
C (Mutant)	12 (% 60)	26 (% 44,8)	38 (% 48,7)				



Grafik 15: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki ADRβ2 Ile164Thr Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

3.1.2.5.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grupları arasında ADR β 2 Ile164Thr polimorfizm genotip dağılımları kıyaslandığında, aralarında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($X^2=5,84$, $p>0,05$). Ancak yabanil (TT), mutant (CC) ve heterozigot (TC) genotipler ayrı ayrı karşılaştırıldığında, çalışma grubunda heterozigot genotip (TC) sıklığının anlamlı olarak arttığı ($X^2=9,74$, $p<0,05$), yabanil tipin (TT) ise aksine anlamlı olarak azaldığı ($X^2=9,67$, $p<0,05$) belirlenmiştir Aynı gruplar arasında haplotip analizi açısından karşılaştırılma yapıldığında aralarında herhangi bir farklılık bulunamamıştır [$X^2=1,80$, $p>0,05$ (Tablo 22)].

Çalışma grubundaki çarpıntısı olan ve olmayanların ADR β 2 Ile164Thr polimorfizmi açısından değerlendirmesi yapıldığında; bu iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($X^2=7,49$, $p<0,05$). Çarpıntısı olan grupta heterozigot (TC) genotipin anlamlı azalışı belirlenmiştir ($X^2=37,41$, $p<0,05$). Aynı gruplar haplotip analizi açısından karşılaştırıldıklarında ise aralarında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir [$X^2=0,57$, $p>0,05$ (Tablo 23)].

Çalışma grubundaki bireyler arasında aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular ADR β 2 Ile164Thr polimorfizm genotip dağılımı açısından karşılaştırıldıklarında, aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($X^2=1,82$, $p>0,05$). Ancak 3 farklı genotip ayrı ayrı değerlendirildiğinde; mutant genotip (CC) sıklığının aritmi gözlenen olgularda anlamlı derecede artış gösterdiği belirlenmiştir ($X^2=7,67$, $p<0,05$). Aynı grupların haplotip analizi kıyaslandığında ise bu iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır [$X^2=1,37$, $p>0,05$ (Tablo 24)].

3.1.2.6 GNB3 C825T Polimorfizmine Ait Bulgular

Kontrol ve çalışma grubunun GNB3 C825T polimorfizm genotiplendirmeleri, RFLP işlemi sonrasında elde edilen farklı büyüklük ve sayıdaki DNA fragmanlarına göre yapılmıştır.

Yabanil genotipe sahip olgularda (CC) 152 bç., ve 104 bç. büyüklüğünde iki ve ayırt edilemeyen 12 bç.'lik büyüklüğünde bir DNA fragmanı, mutant olan olgularda (TT) 268 bç. büyüklüğünde tek bir DNA fragmanı ve heterozigot olan olgularda da (CT) 268 bç., 152 bç., ve 104 bç. büyüklüğünde üç DNA fragmanı ile ayrıca ayırt edilemeyen 12 bç.'lik bir DNA fragmanı görüntülenmiştir (Şekil 24).

Şekil 24: *GNB3 C825T Polimorfizmi İçin Yabanil (2,4), Heterozigot (3, 5) ve Mutant (1) Genotiplerin RFLP sonrasında % 2' lik Agaroz Jeldeki Görüntüleri*



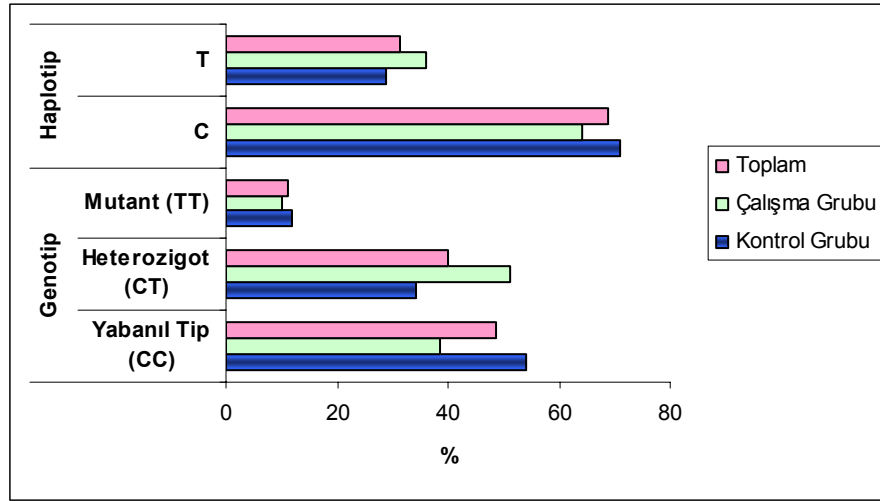
3.1.2.6.1 Kontrol Grubu: Toplam 76 olgudan oluşan bu grupta, 41 olgunun yabanil (CC) (% 53,95), 26 olgunun heterozigot (CT) (% 34,21) ve 9 olgunun da mutant (TT) (% 11,84) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 25; Grafik 16).

Ayrıca bu gruptaki allel sıklıkları incelendiğinde 108 adet Sitozin [C (% 71,05)] ve 44 adet Timin [T (% 28,95)] haplotipi belirlenmiştir (Tablo 25; Grafik 16).

3.1.2.6.2 Çalışma Grubu: Bu gruba ait 39 olgunun, 15'inin yabanil (CC) (% 38,46), 20'sinin heterozigot (CT) (% 51,28) ve 4'ünün de mutant (TT) (% 10,26) genotipe sahip olduğu, allel sıklıklarının ise 50 adet Sitozin [C (% 64,10)] ve 28 adet Timin [T (% 35,90)] haplotipinden oluştuğu belirlenmiştir (Tablo 25; Grafik 16).

Tablo 25: Kontrol ve Çalışma Grubunun GNB3 C825T Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

GNB3 C825T	KONTROL GRUBU n=76 Sıklığı %	ÇALIŞMA GRUBU n=39 Sıklığı %	TOPLAM n=115 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						3,20	0,201
Yabanil (CC)	41 (% 53,95)	15 (% 38,46)	56 (% 48,70)	0,5334	0,3038- 0,9366	8,48	0,007
Heterozigot (CT)	26 (% 34,21)	20 (% 51,28)	46 (% 40)	2,0242	1,1452- 3,5779	5,95	<0,001
Mutant (TT)	9 (% 11,84)	4 (% 10,26)	13 (% 11,30)	0,8513	0,3509- 2,0651	0,13	1,000
HAPLOTİP DAĞILIMI							
C (Yabanil)	108 (% 71,05)	50 (% 64,10)	158 (% 68,70)	1,3745	0,7583- 2,4913	1,16	0,296
T (Mutant)	44 (% 28,95)	28 (% 35,90)	72 (% 31,30)				



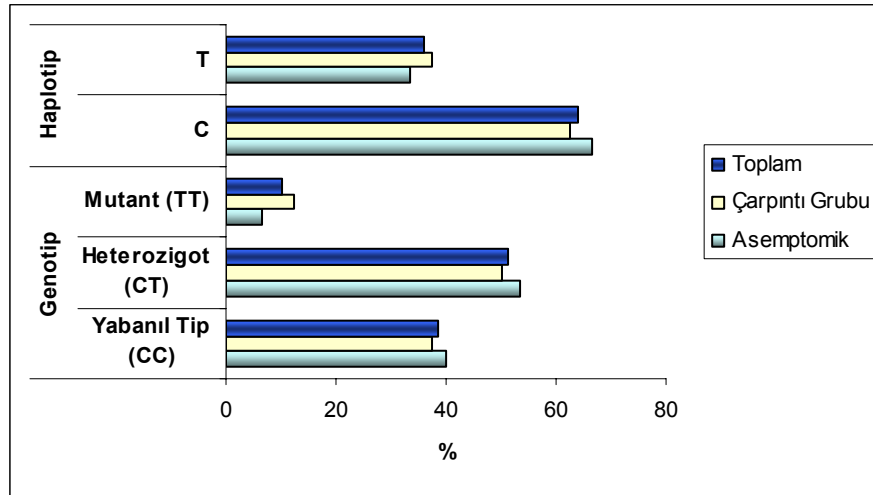
Grafik 16: Kontrol ve Çalışma Grubunun GNB3 C825T Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Çarpıntısı olan 24 olgudan 9' unun yabanıl (CC) (% 37,5), 12' sinin heterozigot (CT) (% 50) ve 3' ünün mutant (TT) (% 12,5) genotipe sahip olduğu, asemptomik 15 olgulardan ise 6' sının yabanıl (CC) (% 40), 8' inin heterozigot (CT) (% 53,3) ve 1' inin de mutant (TT) (% 6,7) genotipe sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 26; Grafik 17).

Bu gruptaki 24 olgunun allel sıklığı incelendiğinde, 30 adet Sitozin [C (% 62,5)] ve 18 adet Timin [T (% 37,5)], asemptomik 15 olgunun ise 20 adet Sitozin [C (% 66,7)] ve 10 adet Timin [T (% 33,3)] haplotipini içerdikleri belirlenmiştir (Tablo 26; Grafik 17).

Tablo 26: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki GNB3 C825T Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

GNB3 C825T	ASEMPTOMİK n= 15 Sıklığı %	ÇARPINTI n= 24 Sıklığı %	TOPLAM n= 39 Sıklığı %	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,34	0,843
Yabanil (CC)	6 (% 40)	9 (% 37,5)	15 (% 38,5)	0,9000	0,5094- 1,5901	0,13	1,000
Heterozigot (CT)	8 (% 53,3)	12 (% 50)	20 (% 51,3)	0,8762	0,503- 1,5263	0,22	1,000
Mutant (TT)	1 (% 6,7)	3 (% 12,5)	4 (% 10,3)	1,9893	0,7446- 5,315	1,94	0,329
HAPLOTİP DAĞILIMI							
C (Yabanil)	20 (% 66,7)	30 (% 62,5)	50 (% 64,1)	1,2018	0,6726- 2,1473	0,14	0,810
T (Mutant)	10 (% 33,3)	18 (% 37,5)	28 (% 35,9)				



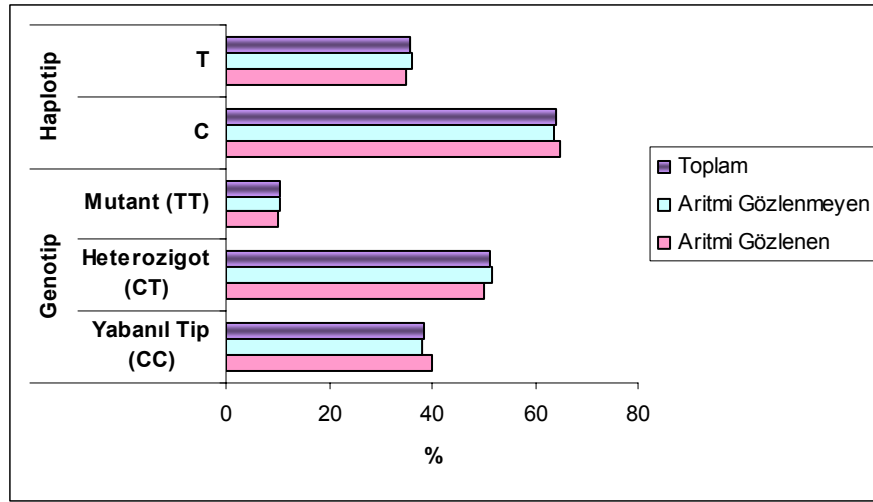
Grafik 17: Çalışma Grubunda Çarpıntısı Olan ve Olmayan Gruptaki GNB3 C825T Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

Aritmi bulgusu olan 10 olgudan 4' ünün yabanil (CC) (% 40), 5' inin heterozigot (CT) (% 50), 1' inin mutant (TT) (% 10) genotipe sahip olduğu, aritmi bulgusu olmayan 29 olgudan 11' inin yabanil (CC) (% 37,9), 15' inin heterozigot (CT) (% 51,7), 3' ünün mutant (TT) (% 10,3) genotipe sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 27; Grafik 18).

Aritmi gözlenen 10 olgunun allel sıklığı, 13 adet Sitozin [C (% 65)] ve 7 adet Timin [T (% 35)] , aritmi gözlenmeyen 29 olgunun ise 37 adet Sitozin [C (% 63,8)] ve 21 adet Timin [T (% 36,2)] haplotipi olarak belirlenmiştir (Tablo 27; Grafik 18).

Tablo 27: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki GNB3 C825T Genotip ve Haplotip Analiz Sonuçları

GNB3 C825T	ARİTMİ GÖZLENEN n= 10 Sıklığı (%)	ARİTMİ GÖZLENMEYEN n= 29 Sıklığı (%)	TOPLAM n= 39 Sıklığı (%)	OR	%95 CI	X ²	p
GENOTİP DAĞILIMI						0,013	0,993
Yabanil (CC)	4 (% 40)	11 (% 37,9)	15 (%38,5)	1,0923	0,6186- 1,9287	0,090	1,000
Heterozigot (CT)	5 (% 50)	15 (%51,7)	20 (% 51,3)	0,9342	0,5365- 1,6266	0,060	1,000
Mutant (TT)	1 (% 10)	3 (% 10,3)	4 (% 10,3)	0,9676	0,3864- 2,423	0,000	1,000
HAPLOTİP DAĞILIMI							
C (Yabanil)	13 (% 65)	37 (% 63,8)	50 (% 64,1)	0,9490	0,5319- 1,6932	0,009	1,000
T (Mutant)	7 (% 35)	21 (% 36,2)	28 (% 35,9)				



Grafik 18: Çalışma Grubunda Aritmi Gözlenen ve Gözlenmeyen Gruptaki GNB3 C825T Polimorfizm Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması; Genotip ve Haplotip Dağılımı.

3.1.2.6.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grubunun GNB3 C825T polimorfizm analizinin genel genotip dağılımına bakıldığında, iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($X^2=3,20$, $p>0,05$). Ancak yabani (CC), mutant (TT) ve heterozigot (CT) genotipler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, çalışma grubunda heterozigot genotip (CT) sıklığının, anlamlı artışı gözlenmiştir ($X^2=5,95$, $p<0,05$). Aynı gruplar haplotip analizi açısından karşılaştırıldıklarında ise aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır [$X^2=1,16$, $p>0,05$ (Tablo 25)].

Çalışma grubunda çarpıntısı olan ve olmayan gruplar arasında GNB3 C825T polimorfizm değerlendirmesi yapıldığında; iki grup arasında bir farklılık saptanmamıştır ($X^2=0,34$, $p>0,05$). Aynı gruplarda haplotip analizleri yapıldığında da; bu iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir [$X^2=0,14$, $p>0,05$ (Tablo 26)].

Çalışma grubundaki bireyler arasında aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular GNB3 C825T genotip analizi ($X^2=0,013$, $p>0,05$) ve aynı zamanda

haplotip analizi ($X^2=0,009$, $p>0,05$) açısından karşılaştırıldıklarında iki grup arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 27).

3.1.3 KONTROL VE ÇALIŞMA GRUPLARININ ADR β 1 ve ADR β 2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN BİLEŞİK HAPLOTİP ANALİZLERİ

Kontrol ve çalışma gruplarının ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 gen polimorfizmlerinin genotip ve haplotip analizleri yapıldıktan sonra ADR β 1 genindeki Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri ile ADR β 2 genindeki Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmleri için bileşik haplotip analizleri yapılmıştır.

3.1.3.1 ADR β 1 Ser49Gly ve Gly389Arg Polimorfizmlerinin Bileşik Haplotip Analizi

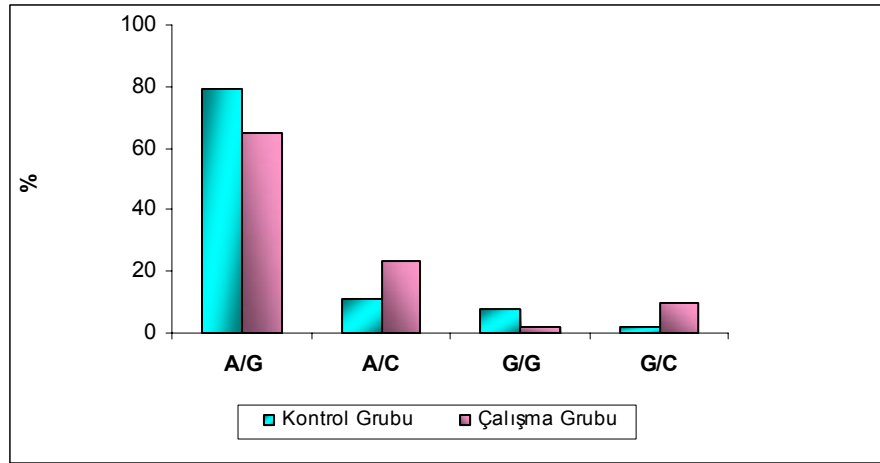
ADR β 1 genindeki Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin bileşik haplotip analiz sonuçları aşağıda belirtilmiştir.

3.1.3.1.1 Kontrol Grubu: ADR β 1 genindeki Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizlerinde; kontrol grubunu oluşturan 76 bireyin % 79,18' i **A** (yabancı) / **G** (yabancı), % 10,95' i **A** (yabancı) / **C** (mutant), % 7,66'sı **G** (mutant) / **G** (yabancı) ve % 2,20' si **G** (mutant) / **C** (mutant) olarak saptanmıştır (Tablo 25; Grafik 19).

3.1.3.1.2 Çalışma Grubu: ADR β 1 genindeki Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizinde; çalışma grubunu oluşturan 39 olgunun % 64,79' u **A** (yabancı) / **G** (yabancı), % 23,67' si **A** (yabancı) / **C** (mutant), % 1,88' i **G** (mutant) / **G** (yabancı) ve % 9,66' sı **G** (mutant) / **C** (mutant) olarak saptanmıştır (Tablo 25; Grafik 19).

Tablo 25: Kontrol ve Çalışma Gruplarının ADR β 1 Ser49Gly ve Gly389Arg Polimorfizmleri İçin Bileşik Haplotip Analiz Sonuçları

Ser49Gly/Gly389Arg Haplotipi	Çalışma Grubu (n=39) Sıklığı %	Kontrol Grubu (n=76) Sıklığı %	χ^2	OR	p	%95 CI
A(yabanil)/G(yabanil)	% 64,79	% 79,18	5,13	0,4838	0,04	0,2567-0,9117
A(yabanil)/C(mutant)	% 23,67	% 10,95	5,65	2,5219	0,03	1,1574-5,4951
G(mutant)/G(yabanil)	% 1,88	% 7,66	NA	0,231	0,11	0,0457-1,1677
G(mutant)/C(mutant)	% 9,66	% 2,20	4,99	4,7535	0,06	1,0693-21,1311



Grafik 19: Kontrol ve Çalışma Gruplarının ADR β 1 Ser49Gly ve Gly389Arg Polimorfizmleri İçin Bileşik Haplotip Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması.

3.1.3.1.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma gruplarının, ADR β 1 genindeki Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizi sonucunda; bu iki grup arasında anlamlı bir farklılığın olduğu belirlenmiştir. Çalışma grubunda ise **A** (yabanil) / **C** (mutant) haplotipinin anlamlı artışı ($X^2=5,65$, $p<0,05$) ve **A** (yabanil / **G** (yabanil) haplotipinin anlamlı azalışı ($X^2=5,13$, $p<0,05$) ve **G** (mutant) / **C** (mutant) haplotipinin anlamlı artışı ($X^2=4,99$, $p=0,03<0,05$ →tek taraflı) gözlenmiştir (Tablo 25).

3.1.3.2 ADR β 2 Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr

Polimorfizmlerinin Bileşik Haplotip Analizi

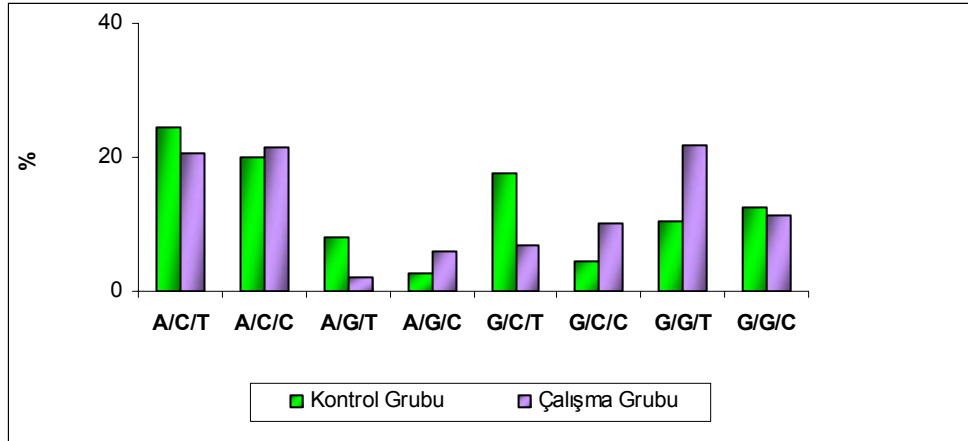
ADR β 2 genindeki Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizleri yapıldığında aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

3.1.3.2.1 Kontrol Grubu: ADR β 2 genindeki Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizleri yapıldığında; kontrol grubunu oluşturan 76 olgunun % 24,61' i **A** (yabancı) / **C** (yabancı) / **T** (yabancı), % 19,97' si **A** (yabancı) / **C** (yabancı) / **C** (mutant), % 8,13' ü **A** (yabancı) / **G** (mutant) / **T** (yabancı), % 2,55' i **A** (yabancı) / **G** (mutant) / **C** (mutant), % 17,48' i **G** (mutant) / **C** (yabancı) / **T** (yabancı), % 4,38' i **G** (mutant) / **C** (yabancı) / **C** (mutant), % 10,30' u **G** (mutant) / **G** (mutant) / **T** (yabancı) ve % 12,57' si **G** (mutant) / **G** (mutant) / **C** (mutant) olarak saptanmıştır (Tablo 26; Grafik 20).

3.1.3.2.2 Çalışma Grubu: ADR β 2 geni Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizlerinde ise çalışma grubunu oluşturan 39 olgunun % 20,55' i **A** (yabancı) / **C** (yabancı) / **T** (yabancı), % 21,52' si **A** (yabancı) / **C** (yabancı) / **C** (mutant), % 2,03' ü **A** (yabancı) / **G** (mutant) / **T** (yabancı), % 5,90' i **A** (yabancı) / **G** (mutant) / **C** (mutant), % 6,90' i **G** (mutant) / **C** (yabancı) / **T** (yabancı), % 10,01' i **G** (mutant) / **C** (yabancı) / **C** (mutant), % 21,80' i **G** (mutant) / **G** (mutant) / **T** (yabancı), % 11,29' u **G** (mutant) / **G** (mutant) / **C** (mutant) olarak saptanmıştır (Tablo 26; Grafik 20).

Tablo 26: Kontrol ve Çalışma Gruplarının ADR β 2 Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr Polimorfizmleri İçin Bileşik Haplotip Analiz Sonuçları

Arg16Gly/Gln27Glu/Ile164Thr Haplotipi	Çalışma Grubu (n=39) Sıklığı %	Kontrol Grubu (n=76) Sıklığı %	χ^2	OR	p	%95 CI
A(yabani)/C(yabani)/T(yabani)	% 20,55	% 24,61	0,47	0,7924	1,00	0,4075-1,541
A(yabani)/C(yabani)/C(mutant)	% 21,52	% 19,97	0,07	1,0989	1,00	0,5545-2,1778
A(yabani)/G(mutant)/T(yabani)	% 2,03	% 8,13	3,86	0,2341	0,11	0,049-1,1185
A(yabani)/G(mutant)/C(mutant)	% 5,90	% 2,55	NA	2,3961	1,00	0,5368-10,6962
G(mutant)/C(yabani)/T(yabani)	% 6,90	% 17,48	5,23	0,3499	0,04	0,1381-0,8866
G(mutant)/C(yabani)/C(mutant)	% 10,01	% 4,38	2,37	2,4284	0,21	0,7619-7,7402
G(mutant)/G(mutant)/T(yabani)	% 21,80	% 10,30	4,91	2,4278	0,07	1,0409-5,1988
G(mutant)/G(mutant)/C(mutant)	% 11,29	% 12,57	0,08	0,8852	1,00	0,376-2,084



Grafik 20: Kontrol ve Çalışma Gruplarının ADR β 2 Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr Polimorfizmleri İçin Bileşik Haplotip Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması.

3.1.3.2.3 İstatistiksel Analiz: Kontrol ve çalışma grupları ADR β 2 geni Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizm bileşik haplotip analizleri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir farklılığın olduğu gözlenmiştir. Çalışma grubunda, **G** (mutant) / **C** (yabanil) / **T** (yabanil) haplotipinin anlamlı olarak azaldığı ($X^2=5,23$, $p<0,05$) ve **G** (mutant) / **G** (mutant) / **T** (yabanil) haplotipinin ise anlamlı olarak arttığı ($X^2=4,91$, $p=0,035$ →tek taraflı) belirlenmiştir (Tablo 26).

3.1.4 Kontrol Grubu ile İlgili Veriler ve Polimorfizm Analiz Sonuçları
(Tablo 27) (Het: heterozigot, WT: wild type, Mut: mutant)

OLGU	CINSİYET	YAŞ	SER49	GLY389	ARG16	GLN27	ILE164	C825T
K-1	K	23	Het.	WT	Mut.	WT	Het.	WT
K-2	E	29	WT	WT	WT	WT	WT	Het.
K-3	K	26	WT	Het.	Het.	WT	Het.	WT
K-4	E	43	WT	Het.	WT	WT	WT	WT
K-5	E	26	WT	WT	WT	Het.	WT	Het.
K-6	K	44	Het.	WT	WT	WT	Het.	WT
K-7	E	22	WT	WT	Het.	WT	Mut.	WT
K-8	E	28	WT	WT	Het.	WT	WT	WT
K-9	E	34	WT	WT	Het.	WT	Het.	WT
K-10	K	24	WT	WT	Mut.	Mut.	Mut.	WT
K-11	E	24	WT	WT	Het.	WT	WT	Het.
K-12	E	26	Het.	WT	Mut.	Het.	WT	WT
K-13	E	29	Het.	WT	Mut.	WT	WT	WT
K-14	K	27	WT	WT	Mut.	WT	WT	Het.
K-15	E	26	WT	WT	WT	Het.	WT	WT
K-16	E	27	Het.	WT	WT	WT	Het.	WT
K-17	K	35	Het.	WT	WT	WT	WT	Het.
K-18	E	27	Het.	WT	WT	WT	Het.	WT
K-19	E	29	Mut.	Mut.	WT	WT	Mut.	WT
K-20	K	33	Het.	WT	WT	Het.	Mut.	WT
K-21	K	31	WT	Mut.	Mut.	Mut.	Mut.	Het.
K-22	E	37	WT	WT	WT	Het.	Mut.	WT
K-23	E	37	Het.	Het.	WT	WT	Het.	WT
K-24	E	33	WT	Het.	Het.	WT	Mut.	WT
K-25	E	29	WT	Het.	WT	Het.	Het.	WT
K-26	K	29	WT	Het.	Mut.	Het.	Het.	Het.
K-27	K	36	Het.	Het.	Mut.	Mut.	Het.	Het.
K-28	K	37	WT	Het.	Het.	WT	Het.	Het.
K-29	E	25	WT	Mut.	Het.	WT	WT	Mut.
K-30	E	28	WT	WT	WT	WT	Mut.	WT
K-31	E	31	Het.	WT	Het.	WT	Het.	Het.
K-32	E	20	WT	Het.	Het.	WT	Het.	WT
K-33	K	28	WT	WT	Het.	WT	Mut.	Het.
K-34	K	34	Het.	WT	Mut.	Mut.	Het.	WT
K-35	E	31	WT	WT	Mut.	Mut.	Het.	Mut.
K-36	K	29	WT	WT	Mut.	Het.	Het.	Het.
K-37	E	27	WT	WT	Het.	Het.	Mut.	WT
K-38	E	44	WT	WT	Het.	Het.	Mut.	WT
K-39	K	35	WT	Het.	Het.	Het.	Mut.	WT
K-40	E	29	WT	Het.	Het.	Het.	Mut.	WT
K-41	E	42	WT	Het.	Het.	Het.	Mut.	WT
K-42	K	32	WT	Het.	Het.	Het.	WT	WT
K-43	K	26	WT	WT	Het.	Het.	WT	WT
K-44	E	18	WT	WT	Het.	Het.	WT	WT
K-45	K	23	WT	WT	Het.	Het.	Mut.	WT
K-46	E	19	WT	WT	Het.	Het.	Het.	Het.
K-47	K	47	WT	Het.	Mut.	Het.	WT	Mut.
K-48	K	27	WT	WT	Mut.	WT	WT	WT

**Tablo 27' nin
Devamı**

OLGU	CINSİYET	YAŞ	SER49	GLY389	ARG16	GLN27	ILE164	C825T
K-49	K	28	WT	WT	WT	WT	WT	Het.
K-50	E	28	WT	WT	WT	WT	WT	Mut.
K-51	E	26	WT	WT	Het.	WT	WT	Het.
K-52	K	24	WT	WT	Mut.	Het.	WT	WT
K-53	E	25	WT	WT	Het.	WT	WT	Het.
K-54	E	26	WT	WT	Het.	Het.	Het.	Het.
K-55	K	27	WT	WT	Het.	WT	Het.	WT
K-56	K	55	WT	WT	Het.	Mut.	Het.	Het.
K-57	E	44	WT	WT	WT	Het.	WT	Het.
K-58	K	25	WT	WT	Mut.	Mut.	WT	WT
K-59	E	25	WT	WT	Mut.	WT	WT	Het.
K-60	K	43	WT	WT	WT	WT	Het.	Het.
K-61	K	40	WT	WT	WT	Het.	Het.	Het.
K-62	K	44	WT	WT	WT	Het.	Het.	Het.
K-63	K	38	WT	WT	WT	Mut.	WT	WT
K-64	E	42	WT	WT	WT	Het.	WT	Mut.
K-65	K	40	WT	WT	Het.	Het.	Het.	Mut.
K-66	K	26	WT	WT	Mut.	Mut.	Het.	WT
K-67	E	57	Het.	WT	WT	WT	WT	WT
K-68	K	49	WT	WT	Het.	Het.	WT	WT
K-69	K	40	WT	WT	WT	Het.	WT	Mut.
K-70	E	30	WT	WT	WT	WT	WT	Mut.
K-71	K	26	WT	WT	Het.	WT	Het.	Het.
K-72	K	40	WT	WT	WT	WT	Het.	WT
K-73	E	18	WT	WT	Mut.	Het.	Het.	Het.
K-74	E	32	WT	WT	Mut.	Mut.	WT	Mut.
K-75	E	26	WT	WT	Het.	Het.	Het.	WT
K-76	E	30	WT	WT	WT	Het.	Het.	Het.

3.1.5 Çalışma Grubu İle İlgili Veriler ve Polimorfizm Analiz Sonuçları
(Tablo 28) (Het: heterozigot, WT: wild type, Mut: mutant)

OLGU	CİNSİYET	YAŞ	SER49	GLY389	ARG16	GLN27	ILE164	C825T
H-1	K	27	WT	WT	Het.	Het.	Mut.	WT
H-2	E	61	WT	Het.	Mut.	Mut.	WT	Het.
H-3	K	25	Het	Het.	WT	WT	Mut.	WT
H-4	K	26	WT	WT	Het.	Het.	Mut.	Mut.
H-5	K	26	WT	Het.	Het.	Het.	Het.	Het.
H-6	K	41	WT	Het.	WT	WT	Mut.	WT
H-7	E	69	WT	Het.	WT	WT	Het.	Het.
H-8	K	23	WT	Het.	Het.	WT	Het.	Het.
H-9	K	27	Het	Het.	Mut.	Mut.	Het.	WT
H-10	E	21	Het	Het.	WT	WT	Het.	WT
H-11	K	60	WT	Het.	WT	WT	WT	Het.
H-12	K	70	Het	Het.	Het.	Het.	Het.	Mut.
H-13	K	28	WT	Het.	Mut.	WT	Het.	Het.
H-14	K	18	WT	Het.	Mut.	Het.	Mut.	Mut.
H-15	K	71	WT	Het.	WT	WT	Het.	WT
H-16	E	60	WT	WT	Het.	WT	Het.	Het.
H-17	E	39	Mut.	Het.	Mut.	Het.	Het.	Het.
H-18	E	74	Het	Het.	Mut.	WT	Het.	WT
H-19	E	48	WT	WT	Het.	WT	Het.	WT
H-20	K	65	WT	WT	Het.	Het.	Het.	Het.
H-21	E	22	WT	WT	Het.	Het.	WT	WT
H-22	E	69	Het	Het.	Het.	Het.	Mut.	Het.
H-23	E	26	WT	Het.	WT	WT	Het.	WT
H-24	E	64	WT	WT	Het.	Het.	WT	Mut.
H-25	E	40	Het	Het.	Het.	Het.	Het.	WT
H-26	K	18	WT	WT	Het.	Het.	WT	Het.
H-27	K	28	WT	WT	Het.	WT	Het.	Het.
H-28	E	32	WT	WT	Het.	Het.	WT	Het.
H-29	E	53	WT	Het.	WT	WT	WT	WT
H-30	K	45	WT	Het.	Mut.	Mut.	Het.	Het.
H-31	K	62	WT	Het.	Mut.	Mut.	WT	WT
H-32	K	49	WT	Het.	Het.	Mut.	Het.	Het.
H-33	K	51	WT	Het.	Het.	Het.	Het.	Het.
H-34	E	66	WT	WT	Het.	Het.	Het.	WT
H-35	K	18	WT	WT	Het.	Mut.	Het.	Het.
H-36	K	30	WT	Het.	Mut.	Mut.	Het.	Het.
H-37	K	35	WT	Het.	WT	Mut.	Het.	Het.
H-38	E	58	WT	Het.	Mut.	WT	Het.	WT
H-39	K	24	WT	WT	WT	Het.	Mut.	Het.

4. BÖLÜM

4.1 TARTIŞMA

İlk kez Barlow tarafından tanımlanan, Mitral valv prolapsusu (MVP), sistolik klik-üfürüm sendromu, Barlow sendromu, miksomatöz mitrak kapak sendromu, floppy kapak sendromu gibi isimlerle de anılan kalp kapak hastalıklarının en sık rastlanan formudur. Patofizyolojisi tam olarak anlaşılamayan MVP' da ailesel ve genetik faktörlerin hastalığın heterojenitesinde rol oynadığı düşünülmektedir (6, 38, 66). Ailesel ekokardiyografik çalışmalar sonucunda, MVP' nin cinsiyete ve yaşa bağlı olarak penetransının değiştiği ve otozomal dominant kalıtım gösterdiği belirlenmiştir (25, 20).

Bugüne kadar yapılan araştırmalarla bu hastalığın ortaya çıkışı, gelişimi ve ilerlemesinde etkili olan genetik ve moleküler mekanizmalar açığa çıkarılmaya çalışılmış ve genomda meydana gelen bazı mutasyon ve polimorfizmlerin hastalık üzerinde etkili olabileceği düşünülerek incelenmiştir.

Bu araştırmacı gruplarından biri olan Chou HT ve ark., ACE gen polimorfizmleri ile MVP patogenezi arasındaki olası ilişkiyi incelemek amacıyla A240T ve G2350A ACE gen polimorfizmlerini çalışmışlar ancak bu polimorfizmlerin MVP üzerinde bir etkisinin olmadığını saptamışlardır (19). Yine aynı grup Ürokinaz-Plazminojen Aktivatör (PLAU) geninin MVP üzerindeki etkisini incelediğinde T4065C PLAU gen polimorfizminin de MVP gelişiminde rol almadığını bildirmişlerdir (20).

Mitral kapakların anahtar elementlerinden biri olan kollajenin genetik varyasyonlarının MVP gelişimi üzerinde etkisi olabileceğini düşünen Hung JS ve ark., kollajen tip III- α geninin ekzon 31 ve ekzon 52' deki G2209A ve

A4561G polimorfizmlerini araştırdıklarında, COL3A1 geninin ekzon 31' de yer alan G2209A polimorfizminin MVP gelişiminde rol oynadığını saptamışlar ve bu ilişkinin Tayvan' da ki Çin populasyonunda MVP riskini belirlemede etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (21).

MVP tedavisinde kullanılan beta-blocker grubu ilaçların hedef molekülleri olan beta adrenerjik reseptörleri kodlayan genlerde ortaya çıkan bazı spesifik polimorfizmlerin; taşıkardi, aritmi, kalp krizi ve hatta ani ölüm gibi bir çok kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde etkili olan genetik risk faktörleri oldukları bilinmektedir (17).

Beta adrenerjik reseptörlerin ekspresyonlarını ve reseptörlerin kardiyovasküler veya metabolik fonksiyonlarını etkileyebilen polimorfizmler arasında en sık; β 1 adrenerjik reseptörünü kodlayan ADR β 1 geninde; Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri, β 2 adrenerjik reseptörünü kodlayan ADR β 2 geninde; Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmleri ve reseptör fonksiyonunda birinci derecede öneme sahip Gs-proteininin β -3 alt birimini kodlayan GNB3 geninde; C825T polimorfizmlerinin fonksiyonel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (44).

Çalışmamızdaki hasta ve kontrol grubuna ait toplam 115 olgudaki Ser49Gly polimorfizm allel sıklıkları, A (yabanil) alleli için % 89,57 ve G (mutant) alleli için % 10,43 olarak belirlenmiştir. Fragoso J.M. ve ark. Meksikalı idiyopatik dilate kardiyomiyopati (IDC) ve sağlıklı grubundan oluşan toplam 104 olguda, A (yabanil) allel sıklığını % 78,21, G (mutant) allel sıklığını ise % 21,79 olarak bulmuşlardır. Beyaz populasyondaki bu polimorfizmin allel sıklıkları, A (yabanil) alleli için % 75 ve G (mutant) alleli için % 15 olarak belirlenmiştir (33). Çalışmamızdan elde edilen bulgulara

göre, hastalarımızda saptadığımız yabancı tip A allel sıklığının, Frago J.M. ve ark.'nın bulduğu oranlara göre ve beyaz popülasyonda saptanan oranlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiş ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$).

ADRB1 Ser49Gly polimorfizmini genotip dağılımına göre değerlendirdiğimizde ise çalışmamızda, yabancı tip genotipin (A/A) görülme oranı % 80,87, heterozigot genotipin (A/G) oranı % 17,39 ve mutant genotipin (G/G) oranı % 1,74 olarak bulunmuştur. Zhao-qian LIU ve ark.'nın, Çin popülasyonundaki Ser49Gly polimorfizm sıklığını belirlemek amacıyla yürüttükleri bir çalışmada; yabancı tip genotip (A/A) oranı % 69,3, heterozigot genotip (A/G) % 28,9 ve mutant genotip (G/G) % 1,8 olarak belirlenmiştir (91). Bu sonuçlara göre, hastalarımızda yabancı tip genotipin (A/A) görülme oranı daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$).

MVP olgularında çarpıntısı olan ve olmayan gruplar arasında ADRB1 Ser49Gly polimorfizminin genotip oranlarına baktığımızda, çarpıntısı olan grupta yabancı tip genotipin (A/A) anlamlı olarak yükseldiği ($X^2=12,25$, $p<0,05$) gözlenmiştir. Buna göre, Ser49Gly polimorfizminin çarpıntı oluşması üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu düşünülmüştür. Aynı olguların aritmi gözlenen ve gözlenmeyen gruplarında ise ADRB1 Ser49Gly genotip ($X^2=0,377$, $p>0,05$) ve haplotip analizleri ($X^2=0,062$, $p>0,05$) kıyaslandığında aralarında anlamlı bir ilişkinin olduğu saptanamamıştır ve bu sonuç Ser49Gly polimorfizminin MVP olgularında aritmi oluşumu üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir.

Çalışmamızda ADR β 1 geninde incelediğimiz diğer bir polimorfizm olan Gly389Arg polimorfizminin, kontrol ve çalışma grubumuzu oluşturan toplam 115 olgudaki allel sıklıkları, G (yabanil) alleli için % 80, C (mutant) alleli için ise % 20 olarak saptanmıştır. Brodde O.E ve ark., beyaz ırkta yabanil allel (G) sıklığını % 27 mutant allel (C) sıklığını % 73, siyah ırkta ise yabanil allel sıklığını (G) % 42 ve mutant allel sıklığını (C) ise % 58 olarak bulmuşlardır (13). Bizim sonuçlarımıza göre MVP olgularında C (mutant) allel sıklığının, hem siyah ırk, hem de beyaz ırka kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir.

ADR β 1 Gly389Arg polimorfizminin genotip ve haplotip dağılımına göre çalışmamızdaki kontrol ve çalışma grubuna ait bulgular karşılaştırıldığında, çalışma grubunda heterozigot genotipin (G / C) ($X^2=26,87$, $p<0,05$) ve mutant allel (C) sıklığının ($X^2=13,11$, $p<0,05$) anlamlı olarak yükseldiği gözlenmiştir. Bu yükseliş bize MVP gelişimi üzerinde Gly389Arg polimorfizminin etkili olduğunu göstermiştir.

Aynı hasta grubunda çarpıntısı olan ve olmayanlar ile aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular arasında ADR β 1 Gly389Arg polimorfizmi açısından değerlendirme yaptığımızda aralarında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$). Aynı grupların haplotip analizleri karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$). Bu sonuçlar Gly389Arg polimorfizminin, MVP olgularında çarpıntı veya aritmi gelişimi üzerinde bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir.

Kontrol ve çalışma gruplarının, Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizi sonuçlarını değerlendirdiğimizde, MVP grubunda her iki polimorfizmin yabanil haplotiplerin (A / G) anlamlı

olarak azaldığı ($X^2=5,13$, $p<0,05$) mutant haplotiplerin (G / C) ise anlamlı olarak arttığı ($X^2=4,99$, $p=0,03<0,05$ →tek taraflı) gözlenmiştir. Buna göre; ADR β 1 genindeki Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri beraber değerlendirildiğinde MVP gelişimi üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

MVP patogenezinde önemli olabilecek diğer bir polimorfizm olan ADR β 2 Arg16Gly polimorfizmi için yaptığımız incelemede kontrol ve çalışma grubumuzu oluşturan toplam 115 olguda allel sıklıkları; A (yabanil) alleli için % 53,48 ve G (mutant) alleli için % 46,52 olarak belirlenmiştir. Aynacıoğlu A.S ve ark.'nın, Türk popülasyonundaki Arg16Gly polimorfizm sıklığını belirlemek üzere yaptıkları 104 olgudan oluşan gruptaki; A (yabanil) allel sıklığını bizim bulgularımıza kıyasla daha düşük (% 40,4) G (mutant) allel sıklığını ise daha yüksek (% 59,6) olarak saptamışlardır (3).

ADR β 2 Arg16Gly polimorfizminin genotip dağılımına bakıldığında ise, çalışmamızda yabanil tip genotipin (A / A) görülme oranı % 32,17, heterozigot genotipin oranı (A / G) % 42,61 ve mutant genotipin oranı (G / G) ise % 25,22 olarak bulunmuştur. Yine aynı grup olan Aynacıoğlu A.S ve ark. ise bu oranları; % 15,4 (A / A) % 50,0 (A / G) ve % 34,6 (G / G) olarak tespit etmişlerdir (3). Araştırmamızdaki kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olgular ADR β 2 Arg16Gly polimorfizmi için hem genotip analizi ($X^2= 1,30$, $p>0,05$) hem de haplotip analizi ($X^2=0,57$, $p>0,05$) açısından karşılaştırıldıklarında, bu iki grup arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

MVP olgularında çarpıntısı olan ve olmayan gruplar arasında ADR β 2 Arg16Gly polimorfizmi açısından değerlendirme yapıldığında; çarpıntısı olan grupta yabanil tip genotip (AA) sıklığının anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. ($X^2=3,96$, $p=0,0403 <0,05$ →tek taraflı). Aynı gruptaki aritmi

gözlenen ve gözlenmeyen olgular da ise; mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen olgularda anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir ($X^2=13,53$, $p<0,05$). Buna göre mutant genotipin aritmi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu yorumu yapılmıştır.

ADRB β 2 genindeki diğer bir polimorfizm olan Gln27Glu polimorfizminin toplam 115 olgunun allel sıklıklarına bakıldığında; C (yabanil) allelinin % 63,91, G (mutant) allelinin % 36,09 olduğu gözlenmiştir. Aynacıoğlu A.S ve ark. da bizim sonuçlarımıza yakın olarak C (yabanil) allel sıklığını % 68,3, G (mutant) allel sıklığını ise % 31,7 olarak saptamışlar ve ADRB β 2 Glu27 varyantının, Kafkas popülasyonu ile karşılaştırıldığında ülkemizde daha nadir bulunduğunu bildirmişlerdir. (3).

ADRB β 2 Gln27Glu polimorfizminin genotip dağılımı çalışmamızda; yabanil tip genotip (C / C) % 43,48, heterozigot genotip (C / G) % 40,87 ve mutant genotip (G / G) % 15,65 oranında bulunmuştur. Aynacıoğlu A.S ve ark. bu oranları; % 47,1 (C / C), % 42,3 (C / G) ve % 10,6 (G / G) olarak belirlemişlerdir (3). Kontrol ve çalışma grubumuzu oluşturan olguların ADRB β 2 Gln27Glu polimorfizmi açısından genotip analizleri ($X^2=1,23$, $p>0,05$) ve haplotip analizleri ($X^2=1,25$, $p>0,05$) kıyaslandığında, ADRB β 2 Gln27Glu polimorfizmi ile MVP gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Çarpıntısı olan ve olmayan gruplarda ADRB β 2 Gln27Glu polimorfizmi için genotip ($X^2=0,781$, $p>0,05$) ve haplotip ($X^2=0,38$, $p>0,05$) oranlarına bakıldığında, iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu sonuç bize Gln27Glu polimorfizminin, hasta olgularda çarpıntı oluşması üzerinde bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir. Aritmi gözlenen ile gözlenmeyen hasta olgularda ise mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen olgularda anlamlı

derecede artış gösterdiği saptanmıştır ($X^2=7,03$, $p<0,05$). Bu sonuç mutant genotipin aritmi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

MVP için bir risk oluşturduğunu düşündüğümüz ADR β 2 genindeki, Ile164Thr polimorfizm allel sıklıkları çalışmamızda; T (yabanil) alleli için; % 57,39, C (mutant) alleli için ise % 42,61 olarak belirlenmiştir. Aynacioğlu A.S ve ark. ise bu oranları; % 99,5 (T) ve % 0,5 (C) olarak tespit etmişler ve Kafkas popülasyonunda benzer sıklıkta görüldüğünü bildirmişlerdir (3). Bizim çalışmamızda 115 olguda gözlenen C (mutant) allel sıklığının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bu polimorfizmin genotip dağılımında ise; yabanil tip genotip (T / T) oranı % 33,91, heterozigot genotip (T / C) oranı % 46,96 ve mutant genotip (C/C) oranı ise % 19,13 olarak bulunmuştur (73). Aynacioğlu A.S ve ark. ise bu oranları; % 99,0 (T / T), % 1,0 (T / C), % 0,0 (C / C) olarak saptamışlardır (3). Kontrol ve çalışma gruplarımızdaki olguların ADR β 2 Ile164Thr genotipleri kıyaslandığında; MVP olgularında heterozigot genotip (T/C) sıklığının anlamlı olarak artış gösterdiği ($X^2=9,74$, $p<0,05$), yabanil genotip (T / T) sıklığının ise anlamlı olarak azaldığı ($X^2=9,67$, $p<0,05$) gözlenmiştir ve bu sonuçlar Ile164Thr polimorfizmi ile MVP arasındaki olası ilişkiyi güçlendirmektedir.

MVP grubunda çarpıntısı olan ile olmayan olgular ve aritmi gözlenen ve gözlenmeyen olgular ADR β 2 Ile164Thr polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde; çarpıntısı olan grupta heterozigot genotipin (T / C) anlamlı düşüşü ($X^2=37,41$, $p<0,05$) ve aritmi gözlenen olgularda mutant genotip (C / C) sıklığının anlamlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir ($X^2=7,67$, $p<0,05$). Bu sonuca göre Ile164Thr polimorfizmi ile hasta

olgularda aritmi oluşması arasında anlamlı bir ilişkinin varlığından söz etmek mümkündür.

Kontrol ve çalışma gruplarının, Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr ADR β 2 gen polimorfizmlerinin bileşik haplotipleri irdelendiğinde; MVP grubunda **G** (mutant) / **C** (yabanil) / **T** (yabanil) haplotipinin anlamlı olarak azaldığı ($X^2=5,23$, $p<0,05$) gözlenirken, **G** (mutant) / **G** (mutant) / **T** (yabanil) haplotipinin ise anlamlı olarak arttığı ($X^2=4,91$, $p=0,035$ →tek taraflı) gözlenmiştir. MVP olgularında bu polimorfizmlerden Arg16Gly polimorfizminin **G** (mutant) ve Ile164Thr polimorfizminin **T** (yabanil) haplotipi değişmezken, Gln27Glu' ın **C** (yabanil) haplotipinin anlamlı azalışı ve **G** (mutant) haplotipinin anlamlı artışı; MVP gelişiminde tek başına anlamlı olmayan Gln27Glu polimorfizminin Arg16Gly ve Ile164Thr ile birlikte değerlendirildiğinde MVP gelişimi üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir.

Bu polimorfizmlerin haricinde, beta adrenerjik reseptörlerin hücre içi etkilerinde aracı protein olan Gs-proteinin β -3 alt birimini kodlayan GNB3 genindeki C825T polimorfizminin MVP gelişimine olan etkisi 115 olguda incelenmiş ve allel sıklıkları; 825C alleli için % 68,70, 825T alleli için ise, % 31,30 olarak tespit edilmiştir. Ancak kontrol ve çalışma grubundaki olguların haplotip analizleri karşılaştırıldığında ise aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($X^2=1,16$, $p>0,05$).

Çalışmamızda GNB3 genindeki C825T polimorfizminin genotip dağılımına bakıldığında; yabanil tip genotipin (C / C) görülme oranı % 48,70, heterozigot genotipin (C / T) % 40, mutant genotipin (T / T) ise, % 11,30 olarak saptanmıştır. Kontrol ve çalışma grubunu oluşturan olguların GNB3 C825T polimorfizmi için yabanil (C / C), heterozigot (C / T) ve mutant

genotip (T / T) sıklıkları karşılaştırıldığında ise; çalışma grubunu oluşturan MVP olgularında heterozigot genotip (CT) sıklığının, anlamlı olarak artışı gözlenmiştir ($X^2=5,95$, $p<0,05$). Bu konuda yapılan herhangi bir araştırma olmadığından, bu polimorfizmin farklı populasyonlardaki oranları bulunmamaktadır. Ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılığın bulunması bu polimorfizmde MVP gelişiminde etkili olan diğer bir polimorfizm olarak değerlendirilmesinin önemli olacağını düşündürmüştür.

MVP olgularında çarpıntısı olan ile olmayan gruplarda, bu polimorfizm açısından hem genotip analizi ($X^2=0,34$, $p>0,05$) hem de haplotip analizi ($X^2=0,14$, $p>0,05$) yapıldığında aralarında bir ilişki saptanamamıştır. Aritmi gözlenen ile gözlenmeyen olguların genotip analizi ($X^2=0,013$, $p>0,05$) ve aynı zamanda haplotip analizi ($X^2=0,009$, $p>0,05$) değerlendirildiğinde ise; yine anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Bu sonuçlar C825T polimorfizminin, MVP gelişiminde önemli rol oynayabileceğini ancak çarpıntı veya aritmi üzerinde bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir.

Araştırmamız ADR β 1, ADR β 2 ve GNB3 gen polimorfizmlerinin MVP gelişimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı ilk çalışma olması nedeniyle, elde ettiğimiz sonuçlara göre, MVP gelişimde ve MVP riskinde rol oynayan bu polimorfizmlerin belirlenmesinin, hastalığın gelişmeden önce saptanmasında ve daha ileri çalışmaların yapılabilmesinde önemli katkılar sağlayacağına inanmaktayız.

5. BÖLÜM

5.1 SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda Mitral valv prolapsusu (MVP) tanısı konmuş 39 hasta ve 76 sağlıklı bireyden oluşan toplam 115 olguda, $\beta 1$ adrenerjik reseptörünü kodlayan ADR $\beta 1$ genindeki; Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmleri, $\beta 2$ adrenerjik reseptörünü kodlayan ADR $\beta 2$ genindeki; Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmleri ve reseptör fonksiyonunda birinci derecede öneme sahip Gs-proteininin β -3 alt birimini kodlayan GNB3 genindeki; C825T polimorfizmlerinin genotip ve haplotip incelemeleri yapılarak MVP gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Elde edilen bulguların değerlendirilmesi ile aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

Çalışmamızda ADR $\beta 1$ Ser49Gly polimorfizmi ile MVP gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak hastalarda gözlenen çarpıntı ve aritmi üzerinde Ser49Gly polimorfizminin etkisi değerlendirildiğinde; çarpıntısı olan grupta yabani tip genotipin (A/A) yüksek bulunması sonucunda Ser49Gly polimorfizmin çarpıntı üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu düşünülmüştür. Aynı polimorfizmin MVP olgularında aritmi gelişmesi üzerinde ise herhangi bir rolü olmadığı gözlenmiştir.

ADR $\beta 1$ Gly389Arg polimorfizminin heterozigot (GC) genotipinin ve mutant allel (C) sıklığının çalışma grubunda anlamlı olarak yüksek bulunması sonucunda, Gly389Arg polimorfizminin MVP gelişimi üzerinde

etkili olabileceği düşünölmüştür. Gly389Arg polimorfizminin çarpıntı ve aritmi üzerindeki etkisi araştırıldığında ise anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

ADRβ2 genindeki; Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr polimorfizmlerinin MVP gelişimi üzerindeki etkileri incelendiğinde ise;

Arg16Gly polimorfizmi ile MVP gelişimi arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiş ancak MVP olgularında çarpıntı ve aritmi üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen olgularda anlamlı derecede artış göstermesi; bu genotipin aritmi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Gln27Glu polimorfizmin MVP üzerindeki etkisi irdelendiğinde; benzer şekilde bu polimorfizm ile MVP gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak tek başına etkili olmayan bu polimorfizmin Arg16Gly ve Ile164Thr polimorfizmleri ile bileşik haplotip analizleri incelendiğinde MVP gelişimi üzerinde etkili olabileceği gözlenmiştir. Ayrıca Gln27Glu polimorfizminin, MVP olgularında çarpıntı oluşmasında herhangi bir etkisinin olmadığı ancak mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen olgularda anlamlı derecede artış göstermesi bu polimorfizmin aritmi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

ADRβ2 genindeki Ile164Thr polimorfizmi ile MVP arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise; MVP olgularında heterozigot genotip (TC) sıklığının anlamlı artışı ve yabani genotip (TT) sıklığının anlamlı azalışı; bu polimorfizmi ile MVP gelişimi arasındaki anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir. Bu polimorfizmin çarpıntı ve aritmi gelişimi üzerindeki etkisi araştırıldığında; aritmi gözlenen MVP olgularında mutant genotip (C / C) sıklığının anlamlı

olarak artışı Ile164Thr polimorfizmi ile MVP olgularında gözlenen aritmi arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğunu işaret etmiştir.

Çalışmamızda ele aldığımız son polimorfizm olan GNB3 C825T polimorfizminin kontrol ve çalışma grubumuzu oluşturan toplam 115 olgudaki değerlendirilmesi sonucunda; çalışma grubumuzu oluşturan MVP olgularında heterozigot genotip (CT) sıklığında anlamlı olarak artış gözlenmesi, bu polimorfizmin MVP gelişiminde etkili olan diğer bir polimorfizm olabileceğini göstermiştir. Ancak bu polimorfizmin çarpıntı veya aritmi üzerinde bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir.

Araştırmamız sonucunda; ADR β 1 geni; Gly389Arg polimorfizmi, ADR β 2 geni; Ile164Thr polimorfizmi ve GNB3 geni C825T polimorfizmi analizlerinin yapılmasının, MVP gelişme riski konusunda oldukça anlamlı bir fikir vereceğini, klinik alanda ailesel MVP çalışmalarında faydalı olacağını ve daha önce herhangi bir çalışma yapılmayan bu konuda ileriki çalışmalara önemli fayda ve destek sağladığımızı düşünmekteyiz.

6. BÖLÜM

6.1 ÖZET

Mitral valv prolapsusu (MVP), benign (iyi huylu) ancak mitral kaçak (regurjitasyon), atrial fibrilasyon, kalp krizi ve ani ölümlere bile neden olabilen yaygın bir kalp kapak hastalığıdır.

Bireyin genomunda meydana gelen bazı mutasyon ve polimorfizmler MVP' nin ortaya çıkışı, gelişmesi ve ilerlemesinde etkili olabilmektedir.

Bu çalışmada, toplam 115 (39 hasta ve 76 sağlıklı birey) olguda, şimdiye kadar incelenmemiş olan ADR β 1 Ser49Gly, Gly389Arg; ADR β 2 Arg16Gly, Gln27Glu ile Ile164Thr ve GNB3 C825T polimorfizmleri araştırılmış ayrıca çarpıntı ve aritmi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

ADR β 1 geninde Ser49Gly polimorfizminin MVP gelişiminde ve aritmi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı ancak çarpıntı üzerinde koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir. Gly389Arg polimorfizminin ise heterozigot (GC) genotip ve mutant allel (C) sıklıkları hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve bu polimorfizmin MVP gelişiminde etkili olduğu ancak çarpıntı ve aritmi gelişiminde herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

ADR β 1 geni Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin bileşik haplotip analizleri yapıldığında, çalışma grubunda her iki polimorfizm için de yabancı haplotiplerin (**A/G**) anlamlı azalışı ve mutant haplotiplerin (**G/C**) anlamlı artışı gözlenmiştir.

MVP gelişimindeki etkisi açısından ADR β 2 Arg16Gly polimorfizminin gruplar arasında farklılık oluşturmadığı ancak mutant genotipin (GG) aritmi gözlenmeyen olgularda anlamlı derecede artış göstererek aritmi üzerinde koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda aynı gene ait Gln27Glu

polimorfizminin de Arg16Gly gibi anlamlı bir etki göstermediği saptanmıştır. Ayrıca bu polimorfizmin çarpıntısı olan hastalarda etkili olmadığı, sadece aritmi gözlenmeyen olgularda mutant genotipin (GG) anlamlı derecede arttığı ve böylece aritmi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu gözlenmiştir. Bu polimorfizmlerden başka Ile164Thr ADRβ2 gen polimorfizminin, çalışma grubunda heterozigot genotip (TC) sıklığının artışı ile yabanil genotip (TT) sıklığının azalışının MVP gelişimi üzerinde, aritmi gözlenen olgularda ise mutant genotip (CC) sıklığının artışının aritmi gelişiminde rolü olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda Arg16Gly, Gln27Glu ve Ile164Thr ADRβ2 gen polimorfizmlerinin birleşik haplotipleri incelendiğinde; MVP grubunda **G** (mutant) / **C** (yabanil) / **T** (yabanil) haplotipin anlamlı olarak azaldığı ($p<0,05$), **G** (mutant) / **G** (mutant) / **T** (yabanil) haplotipinin ise anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir.

GNB3 C825T polimorfizmindeki heterozigot genotip (CT) sıklığının, MVP olgularında anlamlı olarak arttığı ancak çarpıntı veya aritmi gelişiminde herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir.

Sonuç olarak; Gly389Arg ADRβ1, Ile164Thr ADRβ2 ve C825T GNB3 gen polimorfizmlerinin ve tek başına anlamlı olmayan Gln27Glu ADRβ2 gen polimorfizminin Arg16Gly ve Ile164Thr ile birlikte değerlendirilmesi halinde MVP gelişimi üzerinde etkili olabileceği belirlenmiştir.

6.2 ABSTRACT

Mitral valve prolapse (MVP) is a common heart valve disease, which is clinically benign but can also cause mitral regurgitation, atrial fibrillation, heart failure and even sudden death.

Mutations and polymorphisms that occur in the human genome may be involved in the occurrence, evolution and progression of MVP.

In this study ADR β 1 Ser49Gly, Gly389Arg; ADR β 2 Arg16Gly, Gln27Glu, Ile164Thr and GNB3 C825T polymorphisms were investigated the first time in relationship with palpitation and arrhythmia in total 115 cases (39 MVP and 76 healthy group).

It was found that the Ser49Gly polymorphism in ADR β 1 does not play a role in the development of MVP ($p > 0,05$) but has a protective effect on palpitation. The heterozygous genotype (GC) and mutant allelic (C) frequency of the Gly389Arg polymorphism were found to be significantly higher in the MVP group. Therefore, we concluded that this polymorphism might have an effect on MVP evolution, but not on palpitation and arrhythmia.

After the compound haplotype analysis of the ADR β 1 Ser49Gly and Gly389Arg polymorphisms, a significant decrease of wild type haplotypes (A/G) and increase of mutant haplotypes (G/C) were observed in the MVP group.

We found that the existence of the ADR β 2 Arg16Gly polymorphism does not create any difference between the MVP and healthy groups, meaning that it has no role in the development MVP; but the mutant genotype of this polymorphism (GG) shows a protective effect on

arrhythmia, because it is significantly increased in cases which do not have arrhythmia. Similarly the Gln27Glu polymorphism occurs in the same gene, does not have any significant effect on MVP evolution. We also found that this polymorphism was not effective in patient with palpitation, but had an protective effect on arrhythmia by showing an significant increase of the mutant genotype (GG) in patients which do not have arrhythmia. Except these polymorphisms, the ADR β 2 Ile164Thr gene polymorphism has a role in MVP evolution with an increased frequency of the heterozygous genotype (TC) and an decreased frequency of wild type genotype (TT) in the MVP group and also has a role in the evolution of arrhythmia with an increased frequency of the mutant genotip (CC) in the MVP group with arrhythmia.

When the compound haplotype analysis of Arg16Gly, Gln27Glu and Ile164Thr ADR β 2 gene polymorphisms were investigated, it was found that the **G** (mutant) / **C** (wild type) / **T** (wild type) haplotypes decreased significantly ($p < 0,05$) and the **G** (mutant) / **G** (mutant) / **T** (wild type) haplotypes increased significantly in the MVP group.

The heterozygous genotype (CT) frequency of the GNB3 C825T polymorphism showed a significantly increase in the MVP group but seemed to has no effect on the evolution of palpitation and arrhythmia.

In conclusion, it was found that the Gly389Arg ADR β 1, Ile164Thr ADR β 2 and C825T GNB3 gene polymorphisms may have an important effect on the evolution of MVP and also the Gln27Glu ADR β 2 gene polymorphism may have an effect on the MVP evolution when analyzed together with the Arg16Gly and Ile164Thr polymorphisms, but not on its own.

7. BÖLÜM

7.1 YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Abu-Amero KK, Al-Boudari OM, Mohamed GH, Dzimir N. The Glu27 genotypes of the beta2-adrenergic receptor are predictors for severe coronary artery disease. *BMC Med Genet.* 2006;7: 31.
2. Avierinos JF, Gersh BJ, Melton LJ 3rd, Bailey KR, Shub C, Nishimura RA, Tajik AJ, Enriquez-Sarano M. Natural history of asymptomatic mitral valve prolapse in the community. *Circulation.* 2002; 106:1355-61.
3. Aynacioglu AS, Cascorbi I, Güngör K, Ozkur M, Bekir N, Roots I, Brockmöller J. Population frequency, mutation linkage and analytical methodology for the Arg16Gly, Gln27Glu and Thr164Ile polymorphisms in the beta2-adrenergic receptor among Turks. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;48:761-764.
4. Barlow JB, Bomsan CK. Aneurysmal protrusion of the posterior leaflet of the mitral valve: an auscultatory-electrocardiographic syndrome. *Am Heart J.* 1966; 71:166-178.
5. Bessen D, Jones KF, Fischetti VA. Evidence for two distinct classes of streptococcal M protein and their relationship to rheumatic fever. *J Exp Med* 1989; 169:269-83.
6. Bonow RO, Braunwald E. Valvular Heart Disease. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, Bonow RO, eds. *Braunwald's Heart Disease: A textbook Cardiovascular Medicine.* 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.1577-82.
7. Börjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, Andersson B. A novel polymorphism in the gene coding for the beta(1)-adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J.* 2000;21: 1853–1858.
8. Braunwald E. Valvular heart disease. In: Braunwald E, ed. *Heart Disease*, 4th ed. Philadelphia: Saunders; 1992:1007-1077.

9. Brodde OE, Bruck H, Leineweber K. Cardiac adrenoceptors: physiological and pathophysiological relevance. *J Pharmacol Sci.* 2006;100(5):323-337.
10. Brodde OE, Bruck H, Leineweber K, Seyfarth T. Presence, distribution and physiological function of adrenergic and muscarinic receptor subtypes in the human heart. *Basic Res Cardiol.* 2001;96: 528–538.
11. Brodde OE, Büscher R, Tellkamp R, Radke J, Dhein S, Insel PA. Blunted cardiac responses to receptor activation in subjects with Thr164Ile beta(2)-adrenoceptors. *Circulation.* 2001;103:1048–1450.
12. Brodde O-E, Leineweber K. β_2 -Adrenoceptor gene polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15: 267–275.
13. Brodde OE, Stein CM. The Gly389Arg beta1-adrenergic receptor polymorphism: a predictor of response to beta-blocker treatment? *Clin Pharmacol Ther.* 2003;74: 299–302.
14. Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP, Molinoff PB, Ruffolo RR Jr, Trendelenburg U. International Union of Pharmacology: nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol Rev.* 1994; 46:121-136.
15. Cabrera-Vera TM, Vanhauwe J, Thomas TO, Medkova M, Preininger A, Mazzoni MR, Hamm HE. Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev.* 2003 ;24: 765-781.
16. Cardiology, by Michael H. Crawford & John P. DiMarco.
17. Cardiovascular Pharmacology Concepts. Richard E. Klabunde, Ph.D. Beta-Adrenoceptor Antagonists (Beta-Blockers).
18. Cardiovascular Physiology Concepts, Lippincott Williams & Wilkins, 2005. (ISBN: 078175030X)
19. Chou HT ve ark. Association between angiotensin 1-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and mitral valve prolapse syndrome.
20. Chou HT, Chen YT, Wu JY, Tsai FJ. Association between urokinase-plasminogen activator gene T4065C polymorphism and risk of mitral valve prolapse. *Int J Cardiol.* 2004; 96:165–70.

21. Chou HT, Hung JS, Chen YT, Wu JY, Tsai FJ. Association between COL3A1 collagen gene exon 31 polymorphism and risk of floppy mitral valve/mitral valve prolapse. *Int J Cardiol.* 2004; 95:299-305.
22. Concepts Of Genetics / William S. Klug, Michael R. Cummings.
23. Covolo L, Gelatti U, Metra M, Nodari S, Picciche A, Pezzali N, Zani C, Alberti A, Donato F, Nardi G, Dei Cas L. Role of beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study. *Eur Heart J.* 2004;25: 1534–1541.
24. Dajani AS, Taubert KA, Wilson W, Bolger AF, Bayer A, Ferrieri P, Gewitz MH, Shulman ST, Nouri S, Newburger JW, Hutto C, Pallasch TJ, Gage TW, Levison ME, Peter G, Zuccaro G Jr. Prevention of bacterial endocarditis: recommendations by the American Heart Association. *Circulation* 1997; 96:358-366.
25. Devereux RB, Brown WT, Kramer-Fox R, Sachs I. Inheritance of mitral valve prolapse: effect of age and sex on gene expression. *Ann Intern Med.* 1982; 97:826-832.
26. Devereux RB, Kramer-Fox R, Kligfield P. Mitral valve prolapse: causes, clinical manifestations, and management. *Ann Intern Med.* 1989;111:305-17.
27. Devereux RB. Mitral valve prolapse. In: Crawford MH, Di Marco J, eds. *Cardiology.* 1th ed. Mosby; 2001. p. 6,6.1-6,6.10.
28. Dikmen M. (2004). Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enziminin Moleküler Biyolojisi ve Hastalıklarla ilişkisi, *Kocatepe Tıp Dergisi The Medical Journal of Kocatepe* 5.
29. Dixon RA, Sigal IS, Candelore MR, Register RB *et al.* Structural features required for ligand binding to the betaadrenergic receptor. *EMBO J* 1987; 6: 3269–3275.
30. Elektrokardiyografi El Kitabı, Doç.Dr. Bahar Boydak, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi.
31. Feldman RD. Adrenergic receptor polymorphisms and cardiac function (and dysfunction): a failure to communicate?. *Circulation.* 2001;103:1042-1043.
32. Forleo C, Resta N, Sorrentino S, Guida P, Manghisi A, De Luca V, Romito R, Iacoviello M, De Tommasi E, Troisi F, Rizzon B, Guanti G, Rizzon

P, Pitzalis MV. Association of beta-adrenergic receptor polymorphisms and progression to heart failure in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Med.* 2004;117 :451-458.

33. Fragoso J.M. ve ark. β 1-adrenergic receptor gene polymorphisms in Mexican patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Experimental and Molecular Pathology.* 2006; 279-282.

34. Freed LA, Acierno JS Jr, Dai D, Leyne M, Marshall JE, Nesta F, Levine RA, Slaugenhaupt SA. A locus for Autosomal Dominant Mitral Valve Prolapse on chr 11p15.4. *Am.J.Hum.Genet.* 2003; 72:1551-1559.

35. Freed LA, Levy D, Levine RA, Larson MG, Evans JC, Fuller DL, Lehman B, Benjamin EJ. Prevalence and clinical outcome of mitral-valve prolapse. *N Engl J Med.* 1999;341:1-7.

36. Frielle T, Collins S, Daniel KW, Caron MG, Lefkowitz RJ, Kobilka BK. Cloning of the cDNA for the human beta 1-adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84: 7920–7924.

37. Grigioni F, Enriquez-Sarano M, Ling LH, Bailey KR, Seward JB, Tajik AJ, Frye RL. Sudden death in mitral regurgitation due to flail leaflet. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34:2078-85.

38. Hayek E, Gring CN, Griffin BP. Mitral Valve Prolapse. *Lancet* 2005; 365:507-18.

39. <http://ardb.bjmu.edu.cn/default.htm>

40. <http://genome.ucsc.edu/>

41. <http://www.adrenoceptor.com/alphaintro.htm>

42. Hurst's The Heart Manual of Cardiology. by Robert A. O'Rourke (Author), Valentin Fuster (Author), R. Wayne Alexander (Author), Robert Roberts (Author), Spencer B. King (Author), Ira Nash (Author), Eric N. Prystowsky (Author).

43. Johnson M. Beta2-adrenoceptors: mechanisms of action of beta2-agonists. *Paediatr Respir Rev.* 2001; 2: 57–62.

44. K. Leineweber, R. Büscher, H. Bruck, O.E.Brodde. β -Adrenoceptor polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (2004) 369:1-22.

45. Kalp Kapak Hastalıkları, Doç.Dr. Enis Oğuz

- 46.** Kiani JG, Saeed M, Parvez SH, Frossard PM. Association of G-protein beta-3 subunit gene (GNB3) T825 allele with Type II diabetes. *Neuro Endocrinol Lett.* 2005 ;26:87-88.
- 47.** Kolling K, Ndrepepa G, Koch W, Braun S, Mehilli J, Schomig A, Kastrati A. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels and the extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2004;93:1201-1206.
- 48.** Lax D, Eicher M, Goldberg SJ. Mild dehydration induces echocardiographic signs of mitral valve prolapse in healthy females with prior normal cardiac findings. *Am Heart J.* 1992;124(6):1533-1540.
- 49.** Lee CN, Su YN, Cheng WF, Lin MT, Wang JK, Wu MH, Hsieh FJ. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation with congenital heart diseases. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005;84:1134-1140.
- 50.** LightCycler System, Roche Molecular Biochemicals, Mannheim/Germany.
- 51.** Lindroos M, Kupari M, Heikkila J, Tilvis R. Prevalence of aortic valve abnormalities in the elderly: an echocardiographic study of a random population sample. *J Am Coll Cardiol.* 1993;21(5):1220-5.
- 52.** Lohmann S., Lehmann L., Tabiti K. (2000). Fast and Flexible Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Detection with the LightCycler System, *Biochemica*; 4: 23-28.
- 53.** Moore JD, Mason DA, Gren SA, Hsu J, Liggett SB. Racial difference in the frequencies of cardiac β 1-adrenergic receptor polymorphisms: analysis of c145A→G and c1165G→C. *Hum Mut* 1999;14: 271.
- 54.** Multidisipliner kardioloji 2002, Dr. Cem Heper.
- 55.** O'Rourke RA. Mitral Valve Prolapse Syndrome. In Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA , editors. *Hurst's The Heart.* 10th ed. McGraw-Hill;2001. p.1729-1740.
- 56.** Otto CM. Right-sided valve disease. In: Otto Cm, ed. *Valvular Heart Disease.* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2004. p.415-36.
- 57.** Otto CM. *Valvular Heart Disease.* 2nd ed. Philadelphia: Sounders; 2004. p.368-87.

- 58.** Paraskos JA. Combined valve disease. In Alpert JS, Dalen JE, Rahimtoola SH, eds. Valvular heart disease. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p.291-337.
- 59.** Podlowski S, Wenzel K, Luther HP, Müller J, Bramlage P, Baumann G, Felix SB, Speer A, Hetzer R, Köpke K, Hoehe MR, Wallukat G. Beta1-adrenoceptor gene variations: a role in idiopathic dilated cardiomyopathy?. *J Mol Med.* 2000;78: 87–93.
- 60.** Pollex RL, Hanley AJ, Zinman B, Harris SB, Hegele RA. Clinical and genetic associations with hypertriglyceridemic waist in a Canadian aboriginal population. *Int J Obes (Lond).* 2006;30: 484-491.
- 61.** Rahimtoola SH. Recognition and management of acute aortic regurgitation. *Heart Dis Stroke.* 1993;2:217-221.
- 62.** Rahimtoola SH. Valvular heart disease. In: Stein J, ed. (O'Rourke RA, Cardiology Section ed.). *International Medicine*, 4th ed. St. Louis: Mosby- Year Book; 1994:202-234.
- 63.** receptors.med.uc.edu/Polymorphisms.html
- 64.** Renner W, Hoffmann MM, Grunbacher G, Winkelmann BR, Boehm BO, Marz W. G-protein beta3 subunit (GNB3) gene polymorphisms and cardiovascular disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Atherosclerosis.* 2007;192: 108-112.
- 65.** Rens-Domiano S, Hamm HE. Structural and functional relationships of heterotrimeric G-proteins. *FASEB J.* 1995; 9: 1059-1066.
- 66.** S.Anders ve ark. Mitral valve prolapse syndrome as cause of sudden death in young adults. *Forensic Sci. Int.* (2006).
- 67.** Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mullikin JC, Mortimore BJ, Willey DL, Hunt SE, Cole CG, Coggill PC, Rice CM, Ning Z, Rogers J, Bentley DR, Kwok PY, Mardis ER, Yeh RT, Schultz B, Cook L, Davenport R, Dante M, Fulton L, Hillier L, Waterston RH, McPherson JD, Gilman B, Schaffner S, Van Etten WJ, Reich D, Higgins J, Daly MJ, Blumenstiel B, Baldwin J, Stange-Thomann N, Zody MC, Linton L, Lander ES, Altshuler D. The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature.* 2001;409:928-933.

68. Schoneberg T, Schultz G, Gudermann T. Structural basis of G protein-coupled receptor function. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;151: 181-193.
69. Sherry S.T. et al. (2001) dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.*; 29,308-311.
70. Siffert W, Forster P, Jöckel KH, et al. Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol.* 1999 ;10:1921-1930.
71. Siffert W, Roszkopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann HE, Jakobs KH, Horsthemke B. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 1998;18:45-48.
72. Singh RG, Cappucci R, Kramer-Fox R, Roman MJ, Kligfield P, Borer JS, Hochreiter C, Isom OW, Devereux RB. Severe mitral regurgitation due to mitral valve prolapse: risk factors for development, progression, and need for mitral valve surgery. *Am J Cardiol.* 2000;85:193-8.
73. Singth JP, Evans JC, Levy D, et al. Prevalance and clinical determinants of mitral, tricuspid, and aortic regurgitation (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 1999; 83:897-902.
74. Sotoodehnia N, Siscovick DS, Vatta M, Psaty BM, Tracy RP, Towbin JA, Lemaitre RN, Rea TD, Durda JP, Chang JM, Lumley TS, Kuller LH, Burke GL, Heckbert SR. Beta2-adrenergic receptor genetic variants and risk of sudden cardiac death. *Circulation.* 2006;113:1842–1848.
75. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, Kitzman DW, Otto CM. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. *Cardiovascular Health Study. J Am Coll Cardiol.* 1997;29(3):630-4.
76. Stollerman GH. Rheumatogenic streptococci and autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol.* 1991;61:131-42.
77. Stoneking M. (2001). Single Nucleotide Polymorphisms. From the Evolutinary Past, *Nature*; 15:821-822.
78. Temzikan G., Arda N. (2004). *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler.* ISBN: 9754203474.73–111
79. Tunçbilek E. (2005). *Tıbbi Genetik Kitabı*; 73-93.

80. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2005, 1(3):93-96
81. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci. 2006, 2(15):14-21.
82. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci. 2006, 2(15):1-5.
83. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci. 2006, 2(15):6-13.
84. Weis AJ, Salcedo EE, Stewart WJ, Lever HM, Klein AL, Thomas JD. Anatomic explanation of mobile systolic clicks: implications for the clinical and echocardiographic diagnosis of mitral valve prolapse. *Am Heart J.* 1995;129:314-320.
85. Winfried Siffert. A single nucleotide polymorphism in G Protein — a powerful pointer to several diseases. Institute for Pharmacology, University Hospital, Essen Germany.
86. Winkle RA, Lopes MG, Fitzgerald JW, Goodman DJ, Schroeder JS, Harrison DC. Arrhythmias in patients with mitral valve prolapse. *Circulation.* 1975;52:73-81.
87. www.kalpsagligi.net
88. www.ncbi.nlm.nih.gov
89. Yamagishi K, Tanigawa T, Cui R, Tabata M, Ikeda A, Yao M, Shimamoto T, Iso H. G-protein beta-3 subunit C825T polymorphism, sodium and arterial blood pressure: a community-based study of Japanese men and women. *Ann Hum Genet.* 2006;70:759-766.
90. Yang-Feng TL, Xue FY, Zhong WW, Cotecchia S, Frielle T, Caron MG, Lefkowitz RJ, Francke U. Chromosomal organization of adrenergic receptor genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87: 1516–1520.
91. Zhao-qian LIU, Jie LIU, Zhi-hua XIANG, Min-yu HU, Wei MO, Lian-sheng WANG, Dong-sheng OU-YANG, Nan HE, Dan WANG, Hong-hao ZHOU. Distributive characteristics of Ser49Gly and Gly389Arg genetic polymorphisms of β 1-adrenoceptor in Chinese Han and Dai populations. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006; 27 : 254–258.
92. Zuppiroli A, Mori F, Favilli S, Dolara A, Roman MJ, Fishman D, Devereux RB. "Natural histories" of mitral valve prolapse. Influence of patient selection on cardiovascular event rates. *Ital Heart J.* 2001;2:107-14.
93. Zuppiroli A, Rinaldi M, Kramer-Fox R, Favilli S, Roman MJ, Devereux RB. Natural history of mitral valve prolapse. *Am J Cardiol.* 1995;75:1028-32.

7.2 KISALTMALAR

A: Adenin
ACE: Angiotensin Converting Enzyme
ADRA1: α_1 -adrenerjik reseptör
ADRA2: α_2 -adrenerjik reseptör
ADR β 1: β_1 -adrenerjik reseptörü
ADR β 2: β_2 -adrenerjik reseptörü
Arg: Arjinin
ATP: Adenozin Trifosfat
bp: baz çifti
C: Sitozin
Ca⁺⁺: Kalsiyum
cAMP: siklik AMP
COL3A1: Kollajen 3A1 geni
C-terminal: Karboksi terminal
DNA: Deoksiribonükleik asit
dNTP: Deoksinükleotid trifosfat
dsDNA: Çift iplikli DNA
EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EKG: Elektrokardiyografi
EKO: Ekokardiyografi
FRET: Floresan Rezonans Enerji Transferi
G: Guanin
GDP: Guanozindifosfat
Gln: Glutamin
Glu: Glutamik asit
Gly: Glisin
GNB3: Guanine Nucleotide-Binding Protein, Beta-3
G-proteini: Guanine Nucleotide Binding Protein
G_s: Stimülatör G-proteini
GTP: Guanozintrifosfat
IDC: İdiyopatik Dilate Kardiyomiyopati

Ile: İzolösün
IP3: İnositol trifosfat
LC: LightCycler
MI: Miyokardiyal infarktüs
MMVP1: Miksomatöz Mitral Valv Prolapsusu 1 geni
MMVP2: Miksomatöz Mitral Valv Prolapsusu 2 geni
MTHFR: Metilentetrahidrofolat Redüktaz
MVP: Mitral valv prolapsusu
MY: Mitral Yetmezlik
N-terminal: Amino terminal
PCR: (Polymerase Chain Reaction) Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIP2: Fosfatidil inositol 4,5-bifosfat
PLAU: Ürokinaz-Plazminojen Aktivatör
RFLP: Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
RT-PCR: Real Time Polymerase Chain Reaction
Ser: Serin
SNP: (Single Nucleotide Polymorphism) Tek Nükleotid Polimorfizmi
T: Timin
TAE: Tris-Asetat-EDTA
Thr: Treonin
Tm: Erime Sıcaklığı
UTR: untranslated region

7.3 ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İstanbul' da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimimi Balıkesir' de tamamladım. 2000–2001 öğretim yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne başladım ve 2005 yılında mezun oldum. 2005 yılında, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü' nün açtığı Tıbbi Biyoloji lisansüstü eğitim programında yüksek lisansa başladım. Yabancı dilim İngilizce' dir.