**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# MANGAN SÜPEROKSİT DÜSMUTAZ (MnSOD) ALA16VAL GEN POLİMORFİZMLERİNİN KORONER ARTER OLAYLARINDA KORUYUCU ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HALE ATMACA

526103982

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı

**DANIŞMAN**

Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN

İSTANBUL, 2013

**MARMARA UNIVERSITY**
**INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES**
**IN PURE AND APPLIED SCIENCES**

# INVESTIGATION OF THE PREVENTIVE ROLES OF MANGANESE SUPEROXIDE DISMUTASE (MnSOD) ALA16VAL GENE POLYMORPHISM IN CORONARY ARTERY EVENTS

HALE ATMACA
526103982

**MASTER THESIS**
Department of Environmental Science

**ADVISOR**
Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN

ISTANBUL, 2013

# MARMARA ÜNİVERSİTESİ
## FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Hale Atmaca'nın "Mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) Ala16Val gen polimorfizminin koroner arter olaylarında koruyucu rollerinin araştırılması" başlıklı tez çalışması, …/…/….. tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri**

Prof.Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN (Danışman)
Marmara Üniversitesi .....(İMZA).....

Doç.Dr. Figen Esin KAYHAN (Üye)
Marmara Üniversitesi .....(İMZA).....

Yrd.Doç.Dr. Orhan GÖKYAY (Üye)
Marmara Üniversitesi .....(İMZA).....

**ONAY**

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …/…/…… tarih ve ……. sayılı kararı ile Hale Atmaca'nın Çevre Bilimleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü**
**Prof. Dr. Abdülkerim KAR**

ISTANBUL, 2013

# MARMARA UNIVERSITY
## INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES IN PURE AND APPLIED SCIENCES

Hale Atmaca, a Master of Science student of Marmara University Institute for Graduate Studies in Pure and Applied Sciences, defended her thesis entitled "Investiation of the preventive roles of Manganese superoxside dismutase (MnSOD) Ala16Val gene polymorphism in coronary artery events", on …../…../……. and has been found to be satisfactory by the jury members.

**Jury Members**

Prof.Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN (Advisor)
Marmara University .....(SIGN).....

Assoc.Prof. Figen Esin KAYHAN (Jury Member)
Marmara Üniversitesi .....(SIGN).....

Assist.Prof. Orhan GÖKYAY (Jury Member)
Marmara Üniversitesi .....(SIGN).....

**APPROVAL**

Marmara University Institute for Graduate Studies in Pure and Applied Sciences Executive Committee approves that Hale Atmaca be granted the degree of Master of Science in Department of Environmental Science, on …../…../…….. (Resolution no: ……..).

**Director of the Institute**
**Prof. Dr. Abdülkerim KAR**

ISTANBUL, 2013

**TEŞEKKÜR/ACKNOWLEDGMENT**

Deneyimleriyle ve bilgi birikimiyle, yüksek lisans tezimin her aşamasında bana yol gösteren, anlayışını ve sevgisini benden esirgemeyen kıymetli danışman hocam Sn. Prof. Dr. Belgin SÜSLEYİCİ DUMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaya dahil edilmiş olan hasta ve kontrollere ait kan örnekleri ve bilgilerin sağlanmasındaki yardımlardan dolayı Sn. Prof. Dr. Mustafa TAŞKIN'a, çalışma verilerinin istatistiksel analizlerini ve değerlendirmelerini yapan Sn. Yrd. Doç. Dr. Penbe ÇAĞATAY'a, tez hazırlık sürem boyunca göstermiş oldukları destek ve hoşgörüden dolayı Biyoloji Bölüm Başkanlığı ve Dekanlık görevlerini yürüten Sn. Prof. Dr. Meral Ünal'a ve engin tecrübelerini aktararak beni çalışmayı tercih ettiğim Moleküler biyoloji alanına yönlendiren Sn. Prof. Dr. Adnan AYDIN'a teşekkür ederim.

Lisans eğitimim süresince bana bilgilerini aktarıp, bugünlere gelmemi sağlayan Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalında çalışan öğretim üyesi hocalarıma, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarım Uzm. Meliha GÜNDÜZ, Bio.Hasan Mert BOZKUŞ, Bio. Öğrt. Emine DURNA ve Bio. Öğrt. Nur BAKIR'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen aileme şükranlarımı sunarım.

**İÇİNDEKİLER/TABLE OF CONTENTS**


| | SAYFA |
|---|---|
| **ÖNSÖZ (PREFACE) / TEŞEKKÜRLER (ACKNOWLEDGMENT)** | **i** |
| **İÇİNDEKİLER/TABLE OF CONTENTS** | **ii** |
| **ÖZET** | **v** |
| **ABSTRACT** | **vi** |
| **SEMBOLLER/ SYMBOLS** | **ix** |
| **KISALTMALAR/ ABBREVIATIONS** | **x** |
| **ŞEKİL LİSTESİ/ LIST OF FIGURES** | **xiii** |
| **TABLO LİSTESİ/ LIST OF TABLES** | **xiv** |
| **1. GİRİŞ/INTRODUCTION** | **1** |
| 1.1. Koroner Dolaşım | 2 |
| 1.1.1. Dolaşım Sisteminin Yapısı | 2 |
| 1.1.2. Arter Yapısı | 2 |
| 1.1.3. Koroner Arter Hastalığı | 3 |
| 1.1.4. Koroner Arter Epidemiyolojisi | 6 |
| 1.1.5. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri | 6 |
| 1.1.5.1. Serum Lipidleri | 7 |
| 1.1.5.2. Dislipidemi | 7 |
| 1.1.5.3. Hipertansiyon | 8 |
| 1.1.5.4. Tip 2 Diyabet | 8 |
| 1.1.5.5. Diyet | 9 |
| 1.1.5.6. Obezite | 9 |
| 1.1.5.7. Yaş ve Cinsiyet | 9 |
| 1.1.5.8. Sigara | 9 |
| 1.1.5.9. Aile Hikayesi | 10 |
| 1.1.6. Koroner Arter Hastalılarında Oksidatif Stres ilişkisi | 10 |
| 1.2. Serbet Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri | 11 |
| 1.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Gen Ailesi | 13 |
| 1.2.2. SOD Genleri ve Yapıları | 13 |
| 1.2.3. Mn-SOD Geninin Yapı ve Fonksiyonu | 14 |
| 1.2.3.1. Mn-SOD Proteini | 15 |

1.2.3.2. Mn-SOD Gen Polimorfizmleri 16
1.2.3.3. Ala-16Val Polimorfizminin Koroner Arter Hastalığı ile ilişkisi 18

**2. MATERYAL VE YÖNTEM/MATERIAL AND METHOD**

2.1. MATERYAL 21
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler 21
2.1.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 21
2.1.1.2. Kullanılan Çözeltiler 21
2.1.2. Araç ve Gereçler 22
2.1.3. Çalışma Grubu 23
2.1.3.1. Koroner Arter Hastası ve Koroner Arter Hastası Olmayan Gruplara Ait Klinik Veriler 23
2.1.4. Temel Gıda Alımıve İlişkili Parametreler 24
2.1.5. Vücut Yağı Ölçümü 24
2.2. KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ 24
2.2.1. Glisemik Yük 24
2.2.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanma Koşulları 24
2.2.3. Uygulanan Biyokimyasal Laboratuar Analizleri 25
2.2.4. Kandan Genomik DNA İzolasyonu 25
2.2.4.1. *High Pure PCR Template Preparation* Kit Protokolü İle Genomik DNA İzolasyonu 25
2.2.4.2. Yüksek Tuz Konsantrasyonları Kullanılarak Genomik DNA İzolasyonu 26
2.2.5. DNA Miktarının Ölçülmesi 27
2.2.6. DNA Saflaştırılması 28
2.2.7. MnSOD geninin Çoğaltılması ve Ala16Val Gen Polimorfizminin Tespiti ile İlgili Yöntemler 28
2.2.7.1. Kantitaif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile MnSOD Ala16Val Genotiplerinin Belirlenmesi 29
2.2.7.2. MnSOD Ala16Val Genotiplerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü 31

2.2.8. MnSOD aktivitesinin belirlenmesi 35
2.2.9. İstatistiksel Analizler 35

**3. BULGULAR VE TARTIŞMA/RESULTS AND DISCUSSION**
3.1. Bulgular 37
3.2. Tartışma 49
**4. SONUÇLAR/CONCLUSIONS 57**
**KAYNAKLAR 61**
**EKLER 75**
**ÖZGEÇMİŞ**

**ÖZET**

## MANGAN SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (MnSOD) ALA16VAL GEN POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER OLAYLARINDA KORUYUCU ROLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Çalışma, 43 koroner arter hastası ve 58 koroner arter hastası olmayan bireyde uygulandı. MnSOD geni Ala16Val genotipleri kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile saptandı. MnSOD geni Ala16Val polimorfizmi için genotip sıklıkları KAH grubunda C/C (Homozigot yabanil tip), C/T (Heterozigot), T/T (Homozigot polimorfik tip) genotipler için sırasıyla % 20.9, %41.9, % 37.2 ve KAH olmayan grupta %15.5, %51.7, %32.8 olarak tesbit edildi. Her iki çalışma grubumuzda MnSOD geni Ala16Val polimorfizmlerinden heterozigot genotiplerin sıklığı, homozigot yabanil tip ve homozigot polimorfik tipteki genotiplerin sıklığından yüksek olarak saptandı. Tüm çalışma grubumuzdaki mitokondriyal MnSOD aktiviteleri, MnSOD geni Ala16Val genotiplerine göre karşılaştırıldığında homozigot yabanıl genotip taşıyıcılarının en yüksek, homozigot polimorfik genotip taşıyıcılarının en düşük MnSOD aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Koroner arter hastalığı bulunmayan çalışma grubunda MnSOD Ala16Val polimorfizminin yağsız vücut kütlesi ($p=0.01$) ve yağ kütlesi ($p=0.05$) üzerine anlamlı etkileri olduğu saptandı. Heterozigot genotipe sahip (C/T) koroner arter hastalığı bulunmayan kişilerdeki yağsız vücut kütlesi ve yağ kütlesi değerlerinin homozigot yabanıl genotipteki (C/C) kişilere oranla daha düşük olduğu gözlendi. Tüm çalışma grubunda ise sadece yağsız vücut kütlesi değerlerinin MnSOD genotipleri tarafından etkilendiği ve heterozigot genotipteki bireylerin yağsız vücut kütlelerinin homozigot yabanıl ve homozigot polimorfik genotipteki bireylere kıyasla daha düşük olduğu belirlendi. KAH grubunda MnSOD geni Ala16Val polimorfizminin beslenme alışkanlıklarına etkileri belirlendi. Ala16Val polimorfizminin heterozigot genotipe sahip KAH'larında yağdan zengin gıdalarla beslenme alışkanlıkları diğer genotiplere kıyasla daha düşük seviyelerde görülürken, homozigot polimorfik genotipe sahip KAH'larının diğer genotiplere kıyasla proteinden fakir beslenme alışkanlıklarını benimsedikleri görüldü. Tüm çalışma grubu değerlendirildiğinde ise MnSOD Ala16Val genotiplerinin beslenme alışkanlıkları ile anlamlı bir etkileşim göstermediği ve sadece yağsız vücut kütlesi üzerinde etkisinin varlığı saptandı.

**Mayıs/ 2013** **Hale ATMACA**

**ABSTRACT**

**INVESTIGATION OF THE PREVENTIVE ROLES OF MANGANESE SUPEROXIDE DISMUTASE (MNSOD) ALA16VAL GEN POLYMORPHISM IN CORONARY ARTERY EVENTS**

The study was performed in 43 patients with coronary artery disease and 58 patients without coronary artery disease. MnSOD gene Ala16Val genotypes were determined with quantitative polymerase chain reaction (PCR) method. MnSOD Ala16Val genotype frequencies were determined as 20.9%, 41.9%, 37.2% respectively for C/C (homozygous wild type), C/T (heterozygous), T/T (homozygous polymorphic type) genotypes in the coronary artery disease patients; whereas 15.5%, 51.7% and 32.8% for the patients without coronary artery disease. The frequency of heterozygous genotypes of MnSOD gene Ala16Val polymorphism was found to be higher than homozygous wild-type and homozygous genotypes in both study groups. In our total study group, the homozygous wild type genotype carriers were detected to have the highest, whereas homozygous polymorphic genotype carriers were detected to have the lowest mitochondrial MnSOD activities when compared according to MnSOD Ala16Val genotypes. In the patients without coronary arttery disease, MnSOD Ala16Val polymorphism was found to have significant effects on lean body mass ($p=0.01$) and fat mass ($p=0.05$). The lean body mass and fat mass values were found to be lower in the heterozygous (C/T) individuals compared to homozygous wild type (C/C) in the patients without coronary artery disease. Whereas in the whole study population, only the lean body mass was found to be effected by MnSOD genotypes and heterozygous individuals to have lower lean body mass levels in comparison to homozygous wild type and homozygous polymorphic. The effects of MnSOD gene Ala16Val polymorphism on eating habits was also evaluated. In CAD disease patients with Ala16Val polymorphism heterozygous genotype nutritional habits rich in lipids were lower to that of other genotypes, whereas CAD patients with homozygous polymorphic genotype was detected to prefer poor protein diet. When all the study group was evaluated, MnSOD Ala16Val genotypes were not found to have statistically significant relationship with nutritional habits, but found to be effective only on lean body mass.All values in the study group of lean body mass is only affected by the MnSOD genotype homozygous and heterozygous genotypes of individuals homozygous

for the wild and polymorphic genotypes were lower than the individuals. Ala16Val MnSOD gene polymorphism in patients with CAD were the effects of nutrition alışkalıklarına. Heterozygous genotypes with CAD compared to oil-rich foods, eating habits, low levels of other genotypes, whereas homozygous genotypes of polymorphic was adopted by poor eating habits. In the entire study group evaluated Ala16Val MnSOD genotypes show a significant interaction with dietary habits and not just an effect on lean body mass were.

**May/ 2013** **Hale ATMACA**

**SEMBOLLER/SYMBOLS**

**A** : Adenozin

**C** : Sitozin

**Cu** : Bakır

**°C** : Santigrat derece

**cm** : Santimetre

**dk** : Dakika

**dl** : Desilitre

**Fe** : Demir

**Hg** : Civa

**kb** : Kilobaz

**KCl** : Potasyum klorür

**$KHCO_3$** : Potasyum bi karbonat

**l** : Litre

**M** : Molar

**Mn** : Mangan

**$m^2$** : Metre kare

**ml** : Mililitre

**mg** : Miligram

**mm** : Milimetre

**nm** : Nanometre

**NaCl** : Sodyum klorür

**$NH_4Cl$** : Amonyum klorür

**$NO_2$** : Azot dioksit

**ng** : Nanogram

**MgCl** : Magnezyum klorür

**T** : Timin

**rpm** : Dakikada dönme hızı

**µl** : Mikrolitre

**µg** : Mikrogram

**µM** : Mikromolar

**Zn** : Çinko

## KISALTMALAR/ABBREVIATIONS

**A** : Adenin

**Abob** : Abdominal obezite

**ADP** : Adenozin Di fosfat

**Ala** : Alanin

**ATP** : Adenozin Tri fosfat

**AMİ** : Akut Miyokart İnfarktüsü

**Bç** : Baz çifti

**BKİ** : Beden Kütle İndeksi

**C** : Sitozin

**CAD** : Coroner Artery Disaase

**CAT** : Katalaz

**Cu-Zn SOD, SOD1** : Bakır-çinko süperoksit dismutaz

**DKB** : Diastolik Kan Basıncı

**DNA** : Deoksiribo Nükleik Asit

**dNTP** : Deoksi Nükleotid Trifosfat

**EDTA** : Etilen diamid tetraasetik asit

**ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbennt Assay

**eNOS** : Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

**ECSOD, SOD3** : Ekstrasellüler süperoksit dismutaz

**FGF** : Fibroblast Büyüme Faktörü

**Fe-S** : Demir-sülfür kümesi

**G** : Guanin

**HDL** : Yüksek Dansiteli Lipoprotein

**IFN γ** : İnterferon γ

**IL-1** : İnterlökin 1

**IL-4** : İnterlökin 4

**IL-6** : İnterlökin 6

**KAH** : Koroner Arter Hastalığı

**KABG** : Koroner Arter Bypass Graft

**Kb** : Kilobaz

**L** : Litre

**LDL** : Düşük Dansiteli Lipoprotein

**Lp (a)** : Lipoprotein (a)

**LPS** : Lipopolisakkarit

**µ** : Mikro

**M** : Mü

**MAC-1** : Makrofaj Antijen-1

**$MgCl_2$** : Magnezyum Klorür

**Ml** : Mililitre

**MMP** : Metalloproteinaz

**MnSOD**, **SOD2** : Mangan Süperoksit Dismutaz

**MSD** : Mitokondriyal Sinyal Dizisi

**MS** : Metabolik Sendrom

**MVA** : Mevcut Vücut Ağırlığı

**NaCl** : Sodyum Klorür

**NO** : Nitrik Oksit

**NOS** : Nitrik Oksit Sentetaz

**oxLDL** : Okside düsük yogunluklu lipoprotein

**OD** : Optik Dansite

**P** : Pi

**PCR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**PDGF** : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

**RNA** : Ribo Nükleik Asit

**ROT** : Reaktif Oksijen Türleri

**SOD** **:** Superoksid Dismutaz

**SKB** : Sistolik Kan Basıncı

**T** : Timin

**TBE** : Tris Borik Asit-EDTA

**TE** : Tris Edta

**TEKHARF** : Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı Risk Faktörleri

**TG** : Trigliserid

**Tm** : Erime ısısı

**TNF α** : Tümör Nekroz Faktörü alfa

**T2DM** : Tip 2 Diyabetus Mellitus

**UV** : Ultra Viyole

**Val** : Valin

**VCAM-1** : Vasküler Hücre Adezyon Molekül-1

**VSA** : Vazospastik Angina Pektoris

**VLDL** : Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinlerin

**YBK** : Yağsız Beden Kütlesi

**YK** : Yağ Kütlesi

**YVK** : Yağsız Vücut Kütlesi

## ŞEKİL LİSTESİ/LIST OF FIGURES


| | SAYFA |
|---|---|
| **Şekil 1.1** Normal arter duvarı | 3 |
| **Şekil 1.2.** Aterosklerotik arter duvarı | 4 |
| **Şekil 1.3.** Aterosklerotik arter duvarı | 5 |
| **Şekil 1.4.** Amerikan kalp derneğinin hazırladığı koronerde plak oluşum evreleri | 5 |
| **Şekil 1.5.** Oksidatif stresin damar sisteminde sebep ve sonuç ilişkisi | 11 |
| **Şekil 1.6**. Süperoksit dismutaz enziminin rol aldığı reaksiyonlar | 13 |
| **Şekil 1.7.** 6.kromozom üzerinde SOD2 geninin lokalizasyonu | 15 |
| **Şekil 1.8.** SOD2 geninin ekson ve intronları | 15 |
| **Şekil 1.9.** İnsandaki MnSOD proteinin aktif bölgesindeki kristal yapısı | 16 |
| **Şekil 1.10.** İnsan MnSOD geni ve polimorfik bölgeleri | 16 |
| **Şekil 1.11.** İnsan MnSOD proteinin prekürsörünün alt biriminin amino asit dizisi ve polimorfik bölgeleri | 18 |
| **Şekil 2.1** Kandan genomik DNA izolasyonu | 26 |
| **Şekil 2.2** DNA'nın miktar ve saflığının spektrofotometrik olarak belirlenmesi | 27 |
| **Şekil 2.3.** MnSOD Ala16Val genotiplerinin standart erime eğrileri | 32 |
| **Şekil 2.4** *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti | 33 |
| **Şekil 2.5.** Tüplere qPZR reaksiyon karışımının dağıtılması | 33 |
| **Şekil 2.6.** Tüplerin qPZR cihazına yerleştirilme işlemi | 33 |
| **Şekil 2.7.** Tm: 65.4$^0$C. Ala16Val geni homozigot yabanıl tip genotip (C/C) | 34 |
| **Şekil 2.8.** Tm: 57.07$^0$C ve 64.87$^0$C. Ala16Val geni heterozigot tip genotip (T/C) | 34 |
| **Şekil 2.9.** Tm: 57.47$^0$C. Ala16Val geni homozigot polimorfik tip genotip (T/T) | 35 |
| **Şekil 3.1** Koroner arter hastası olan ve koroner arter hastası olmayan kontrol gruplarında MnSOD Ala16Val genotip dağılımlarının grafik ile gösterilmesi | 38 |

## TABLO LİSTESİ/LIST OF TABLES

**SAYFA**

**Tablo 1. 1.** Süperoksit dismütaz enzimlerinin metalleri, protein yapıları, molekül ağırlıkları ve kromozom lokalizasyonları 14

**Tablo 2. 1.** MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan qPRZ reaksiyon karışımı 30

**Tablo 2. 2.** *LightCycler®1.0* Programı 30

**Tablo 3. 1.** Tüm çalışma grubunda (KAH ve KAH olmayan) MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları 37

**Tablo 3. 2.** Tüm çalışma grubunda (KAH ve KAH olmayan) şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler 39

**Tablo 3. 3.** Tüm çalışma grubunda MnSOD Ala16Val polimorfizminin mitokondriyal MnSOD aktivitesi üzerine etkileri 40

**Tablo 3. 4.** Tüm çalışma grubuna (KAH ve KAH olmayan) ait glisemik yük değerleri 40

**Tablo 3. 5.** MnSOD gen polimorfizmininin belirlenmesinde beslenme yoluyla alınan yağ ve protein kullanımına etkisi 41

**Tablo 3. 6.** Tüm çalışma grubuna (KAH ve KAH olmayan) ait hastalık profilleri 42

**Tablo 3. 7.** Tüm çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri 43

**Tablo 3. 8.** Koroner arter hastası olmayan çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri 44

**Tablo 3. 9.** Koroner arter hastası olmayan çalışma gruplarında MnSOD Ala16Val genotiplerine göre hastalık profilleri 45

**Tablo 3. 10.** Koroner arter hastalarında MnSOD Ala 16 Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyonla ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri 46

**Tablo 3. 11.** Koroner arter hastası olan çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerine göre hastalık sıklıkları 47

**Tablo 3. 12.** Tüm çalışma grubunda çoklu lojistik regresyon analizi ile koroner arter hastalığı ile ilişkili bağımsız risk faktörleri 48

# BÖLÜM 1

## 1. GİRİŞ/INTRODUCTION

Oksidatif stres ateroskleroz ve ilgili kalp hastalıklarının gelişiminde önemli rol oynamaktadır [1-3]. Reaktif oksijen türevleri (ROT) damar duvarı hücrelerinin işlevini bozmaktadır. ROT lipit peroksidasyonu ve LDL'nin oksidasyonunu sağlayarak aterogenezi uyarır ve damar içi oluşan plakları endotel hücrelerinin apoptozunu uyararak destabilize eder [4-7]. Mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) sitoplazmada yer alan endojen antioksidatif bir enzim olup transkribe edildikten sonra mitokondriye iletilir [8,9] ve süperoksit radikallerini hidrojen peroksid ve oksijene indirger. Literatürde MnSOD'un ateroskleroz ve kalp damar hastalıklarında oluşan kırılgan plakların oluşumunu engelleyici rolü bulunduğuna dair bulgular yer almaktadır. MnSOD' un kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkisini, makrofajların okside LDL aracılı apoptozunu engelleyerek [10,11], endotel fonksiyon bozukluğunu inhibe ederek [12] ya da endotel hücreleri tarafından LDL oksidasyonunu önleyerek gerçekleştirdiği öngörülmektedir [13].

MnSOD'un iki adet genetik varyantının fonksiyonların yürütülmesinde etkili olduğu bilinmektedir. MnSOD'un en dikkat çekici polimorfizmi mitokondri hedefleyici bölgede yer alan sinyal peptidinin 16. aminoasidini kodlayan Alanin (GCT) – Valin (GTT) değişimi ile sonuçlanan C>T varyasyonundan kaynaklandığı bilinmektedir [14]. Bu değişim MnSOD'un mitokondriyal hedefleme bölgesinin yapısal özelliğini değiştirerek oksidatif hasara karşı savunmadaki gücünün azalmasına yol açar [9,14]. Literatürde MnSOD polimorfizmi ile oksidatif hasara bağlı gelişen kronik hastalığın ilişkili olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır [9,14,15]. Ancak, MnSOD aktivitesindeki değişikliklerin farklı MnSOD genotipleri ile ilişkili olup olmadığı ve genotiplerin patolojik fonksiyonları halen araştırma konusudur.

Araştırmamızın amacı, MnSOD genine ait Ala16Val polimorfizminin koroner arter hastalığı olan kişilerdeki genotip sıklıklarını belirlemek ve genotip-kalp damar hastalığı ve genotip-biyokimyasal parametreler (kan yağları, yağ kütlesi, beden kütle indeksi, boy, kilo, açlık kan şekeri) ve serum MnSOD aktivitesi ile etkileşimin tespit edilmesidir.

## 1.1. Koroner Dolaşım

### 1.1.1. Dolaşım Sisteminin Yapısı

Dolaşım sistemi, pulmoner ve sistemik olmak üzere iki çeşittir. Pulmoner dolaşım, sağ ventrikülden akciğerlere pompalanan kanın gaz değişimi gerçekleştikten sonra sol atriyuma dönmesi şeklinde gerçekleşir. Sistemik dolaşımda ise arteriyal kan dokulara taşındıktan sonra ince bağırsaklardan emilen besinler ve akciğerlerden alınan $O_2$ ile sağ atriyumla kalbe geri döner. Dolaşım sisteminin, temel görevlerinin yanısıra hormonların taşınması ve vücut sıcaklığının düzenlenmesi şeklinde de görevleri mevcuttur.

Dolaşım sistemi arter, arteriyol, kapiller, venüller ve ven'ler olmak üzere beş temel bölümde incelenir.

**Arter:** Kanı dokulara taşımaktadır. Arterler, yüksek kan basıncına sahip olduklarından kan arterlerde hızlı akar ve arterlerin güçlü damar çeperleri vardır.

**Arteriyol:** Arteriyel sistemin en küçük dallarıdır.

**Kapiller:** Kan ve interstisiyel sıvı arasında, sıvı, besin, elektolit ve hormonların değişimini sağlarlar.

**Venüller:** Kapillerden gelen kanı toplarlar.

**Ven:** Dokulardaki kanı kalbe getirirler.

### 1.1.2. Normal Arter Yapısı

Normal arter duvarı histolojik olarak üç tabakadan oluşur: İntima, media ve adventisya **(Şekil 1.1)**.

**İntima**

En içte bulunan ve lümeni çevreleyen tabakadır. Tek sıralı endotel hücre tabakası ile düz kas hücrelerini çevreleyen ince bir bağ dokusundan meydana gelip aterosklerotik lezyonların oluştuğu yerdir. İntimada düz kas hücreleri tarafından üretilen, tip IV kollajen, laminin, fibronektin bulunmaktadır. İntimada makrofajlar, mast hücreleri ve ekstrasellüler matriksde bulunmaktadır. Yaşın ilerlemesiyle bağ doku miktarı ve düz kas hücre sayısı artar [16,17]. Düz kas hücreleri, damar duvarındaki kan

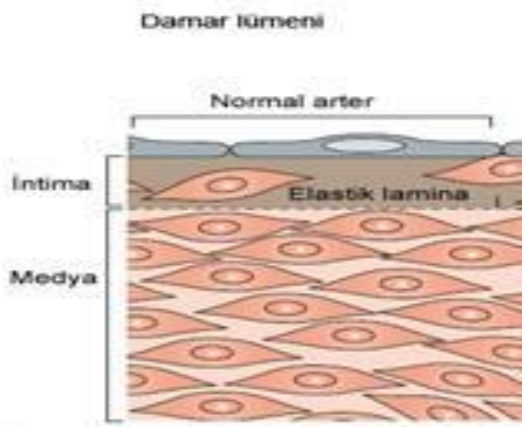
akımı ile uyarılarak intimanın kalınlığını arttıran proteoglikan üretirler. Kalınlığı artan bölgelerde makrofaj üretimide eş zamanlı olarak artar [18,19]. İntimadaki kalınlaşmalar damar lümenini daraltmaz ancak ateroskleroz daha çok bu bölgelere yerleşir [20].

**Media**

Arter duvarının orta tabakasıdır. Tip 1 ve Tip 3 kollajen lifleri, elastik lifler, glikozaminoglikanlar ve yapısal proteinlerden meydana gelen matriks ve düz kas hücrelerinden oluşan en geniş tabakadır. İntimadan internal elastik membranla, adventisyadanda eksternal elastik membranla ayrılır [16,17]. Düz kas hücrelerinin bir fonksiyonu da yukarıda belirtilen ekstraselüler matriks proteinlerini üretmektir. Arter çapı arttıkça mediadaki düz kas hücrelerinin sayısı da artmaktadır.

**Adventisya**

Damar duvarının en dış tabakasıdır. Adventisyada, kollajen fibriller, elastik fibriller, fibroblastlar, düz kas hücreleri ile sinir hücreleri yer alır [16,20].

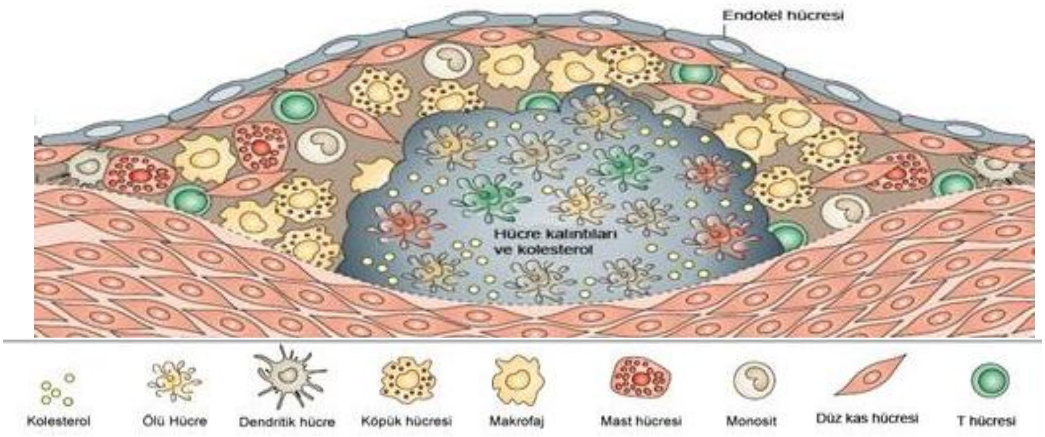



**Şekil 1.1** Normal arter duvarı [21]

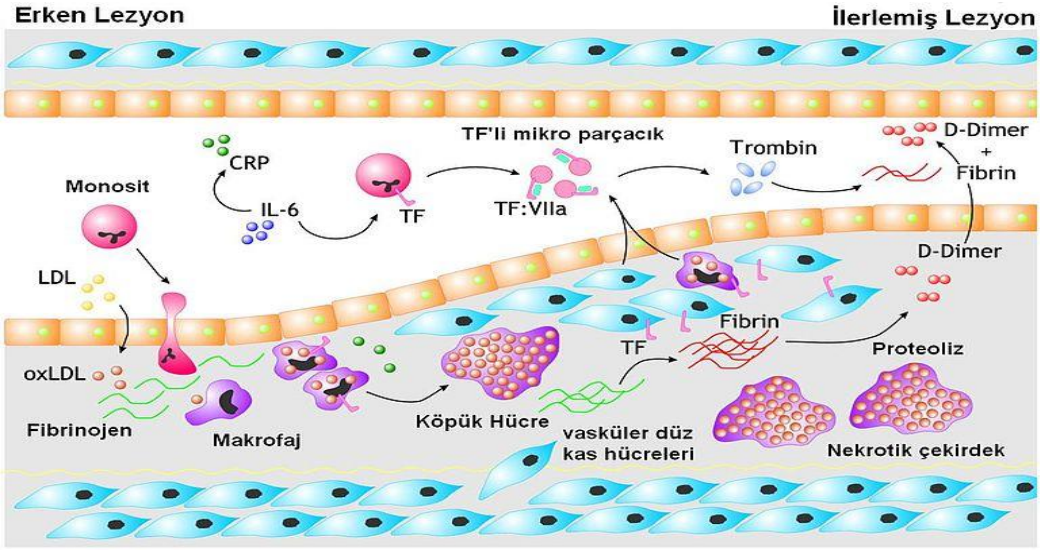
### 1.1.3. Koroner Arter Hastalığı

KAH'nın en temel nedeni aterosklerozdur. Genetik ve çevresel faktörlerle ortaya çıkan KAH damar hastalıklarını da içine alan farklı hastalık gruplarını kapsar. Damar hastalıklarının temelinde yatan neden aterosklerozdur. Ateroskleroz çeşitli organlara kan iletiminin bozulmasına neden olur [23]. Endoteldeki fonksiyon bozukluğu, lipid birikmesi, monosit ve trombositlerin etkileşmesi ile intima tabakasında yağ, hücre birikmesine neden olup koroner aterosklerotik plak oluşturur **(Şekil 1.2.)**. Bu plak koroner arterlerin lümeninde darlıklara ve pıhtı oluşumuna neden olacaktır.

Aterosklerozun etken olayı yağ izleri ve fibröz plaklardır 3 yaş altındaki çocuklarda da gözlenebilen yağ izleri, içinde lipidler taşıyan köpük görünümlü büyük hücrelerin (köpük hücreleri) endotelyuma toplanmasıyla ortaya çıkarlar **(Şekil 1.3.)**. Köpük hücrelerinin bir kısmı düz kas hücresi kökenli olsada esas olarak lipidlerle yüklü makrofajlardır. Köpük hücresine dönüşen makrofajlar, yağ lezyonu oluşumuna yol açar. Bu olaylar, trombus oluşumuna ve daha ileri lezyon komplikasyonlarına neden olur [21] **(Şekil 1.4.)**. Fibröz plaktaki değişiklikler ise genellikle intima tabasında meydana gelerek burada lenfosit, monosit, köpük hücreleri ve kolesterol kristalleri oluşturur. Fibröz plaklarda köpük hücrelerinin çoğunu düz kas hücreleri oluşturur [24]. Ateroskleroz, fetal yaşamda başlayan bir süreçtir. Çocukluk ve ergenlik döneminde yavaş bir ilerleme gösterir; erişkin yaşamda ise daha hızlı ilerleyerek ölümcül olabilecek durumlara yol açar [25].

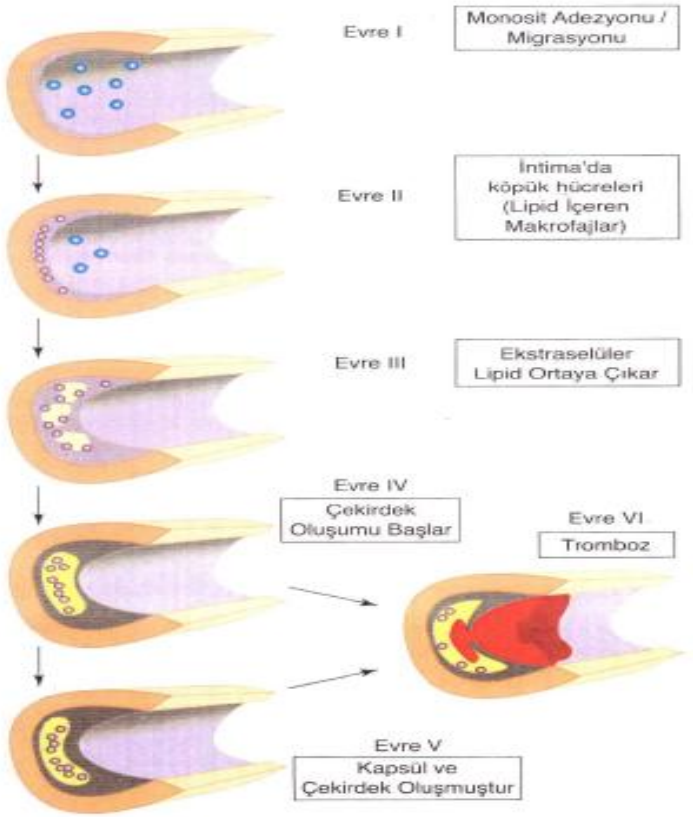



**Şekil 1.2.** Aterosklerotik arter duvarı[21]




**Şekil 1.3.** Aterosklerotik arter duvarı

Ox-LDL'nin intimada oksitlenmesi aterosklerozu başlatır. Endotel hücreleri ox-LDL ile uyarılınca kandaki monositler damar duvarına girer. Monositler makrofaja dönüşür ve kümeleşmiş ox-LDL Avcı reseptör tarafından makrofajların içine alınıp, köpük hücrelerini oluşturur. Böylece uyarılan damardaki düz kas hücreleri köpük hücrelerinin harekete geçmelerine ve çoğalmalarına neden olur. Doku faktörü (TF), düz kas hücreleri ve makrofajların yüzeylerinde oluşarak birikmiş fibrinin fibrinojene dönüşmesine neden olur[22].




**Şekil 1.4.** Koronerde plak oluşumunun evreleri [27]

### 1.1.4. KAH Epidemiyolojisi

Bayan ve erkeklerde tüm ölümlerin %33-50'sinin nedeni olan KAH, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise %50-75'inin nedeni olarak saptanmıştır [26,27]. Dünya genelinde insanların her yıl 19 milyondan fazlasının koroner hastalık geçirdiği tahmin edilmektedir. Koroner hastalarının sayısı ABD'de 1 milyon, Türkiye'de 300.000'den fazladır [28]. Onat ve ark. tarafından gerçekleştirilen TEKHARF araştırmasında KAH sıklığının erişkin nüfusta % 2.7 ve hastalığın klinik açıdan bulgu verdiği 45-74 yaş arasında ise %10.2'yi geçtiği saptanmıştır [29]. Türk Kardiyoloji Derneği (TKD)'nın yayınladığı verilere göre KAH'ından meydana gelen ölümler tüm ölümlerin % 43'ünü oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre dünya ülkelerinde KAH, ölüm nedenleri arasında ilk sırada bulunmaktadır [30].

### 1.1.5. Koroner Arter Risk Faktörleri

Kalp hastalıkları arasında en çok ölümle sonuçlanan hastalık koroner hastalıklarıdır. 45 yaş üzeri kişilerde ilk sırada ölüm nedenleri arasında iken, 45 yaş altı bireylerde ikinci sırada yer alır. Yaşam şartlarının etkisi KAH hastalığı oluşumda etkilidir.

KAH risk faktörleri 2001'de yapılan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) III. Yetişkin Tedavi Paneline (ATP III) göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır [31].

1. Serum lipidleri (HDL<40 mg/dl -LDL≥130 mg/dl-Trigliseridler)
2. Dislipidemi
3. Hipertansiyon (Kan basıncı ≥140/90 mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı )
4. Tip 2 Diyabet
5. Diyet
6. Obezite
7. Yaş ve Cinsiyet (erkeklerde ≥45, kadınlarda ≥55 )
8. Sigara
9. Aile öyküsü

#### 1.1.5.1 Serum lipidleri:

**Total kolesterol**

KAH görülme riski serum kolesterol seviyesi %30 mg'ın üzerine yükseldikçe artar [32].

**Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)**

HDL-kolesterol (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol) ile KAH arasında ters bir ilişki vardır. Aterosklerotik lezyonlardan kolesterolün uzaklaştırılmasına yol açtığından ve LDL birikimini azalttığından KAH'da koruyucu bir faktördür. HDL-kolesterolde 1 mg/dl'lik bir azalma KAH riskini % 2-3 artırmaktadır [33]. KAH'da HDL-kolesterol seviyelerinin 40 mg/dl'den düşük olması risk oluşturmaktayken, 60 mg/dl'den yüksek olması koruyucu etki sağlamaktadır [31]. Plazmada HDL'nin miktarını alkol ve hareket arttırıp; sigara, diyabet, obezite ve hareketsizlik azaltmaktadır [34].

**Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL)**

LDL-kolesterol (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol) düzeyleri KAH'nın en önemli risk faktörlerindendir. Genetik faktörlerlede plazmadaki düzeyleri değişen LDL-kolesterolünün artışı sonucunda ise koroner arter hastalığı meydana gelmektedir [35]. LDL düzeyleri arttığında, arterin endotelyal bölgelerindeki makrofajlar bu parçacıkları alarak köpük hücrelerine dönüşürler. Köpük hücreleri de yağ plaklarının oluşumuna neden olurlar.

**Trigliserid**

Trigliserid düzeyi KAH'ı için bir risk faktörüdür. Trigliseridlerle KAH ilişkisi diyabet, obesite, hipertansiyon, yüksek LDL-kolesterol ve düşük HDL-kolesterol gibi diğer faktörlerle bağlantılıdır [36]. Trigliserid düzeyleri sınır (150-199 mg/dl) ya da yüksek (200 mg/dl'den yüksek) olması KAH için bağımsız bir risk faktörüdür [37,38].

#### 1.1.5.2. Dislipidemi:

Lipoprotein yapımında artış veya lipoprotein uzaklaştırmasında azalma sonucunda dislipidemi meydana gelir. Lipoproteinler, hücrelere lipid taşıyan yüksek molekül ağırlıklı lipid ve proteinden oluşan yapılar olarak tanımlanabilir. Genç yaşta

KAH olan bireylerde dislipidemi sıklığı % 75-80 iken, aynı yaş grubunda KAH olmayan bireylerde sıklık % 40-48'lere düşer [39].

#### 1.1.5.3. Hipertansiyon:

Aterosklerozu hızlandıran etkenlerden olan hipertansiyon, koroner kalp hastalığı için çok önemli bir risk faktörüdür [40]. Koroner kalp hastalığı, hipertansiyon hastalarında 2-3 kat daha fazla gözlenmektedir [41]. Diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak diyastolik kan basıncında 15 mmHg'lik artış KAH riskini %40, sistolik kan basıncında ise 25 mmHg'lık bir artış ise %37 artırmaktadır [42]. Yüksek kan basıncı, lökositlerin endotele yapışmasınıda uyarır. HOPE, EUROPA ve CAMELOT çalışmalarında kan basıncının KAH riski olan hastalarda kan basıncı değerlerinin daha altına düşürülmesinin yararını göstermiştir [43,44]. Kan basıncı ≥140/90 mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı olması durumunda KAH riski taşıdığı ortaya konmuştur. Koroner kalp hastalığı olanlarda hedef kan basıncı değeri ≤130/80 mmHg'nin altında olmalıdır.

#### 1.1.5.4. Tip 2 diyabet:

Tip 2 diyabet, aterosklerotik kalp hastalığı sıklığını ve aterosklerozun yaygınlığını arttıran önemli bir risk faktörüdür [32]. Tip 2 diyabet varlığı KAH riskini erkeklerde 2 kat kadınlarda 4 kat arttırır [45]. Tip 2 diyabet olmayan koroner arter hastalarının sağ kalma şansı, Tip 2 diyabetli koroner arter hastasından daha fazladır [46,47]. Tip 2 diyabetli hastalarda LDL-kolesterol seviyeleri sıklıkla normale yakın seyrederken, LDL parçacıklarının küçüldüğü böylece daha aterojenik olma eğilimi kazandığı saptanmıştır [48]. Tip 2 diyabet ateroskleroza yol açma mekanizmaları, düşük düzeylerde yüksek dansiteli lipoprotein, artmış düzeylerde düşük dansiteli lipoprotein, yüksek düzeylerde lipoprotein (a) (Lp(a)) konsantrasyonu, artmış lipoprotein oksidasyonu, LDL glikozilasyonu, artmış fibrinojen, artmış trombosit agregasyonu, artmış PAI-1, bozulmuş fibrinoliz, yüksek von Willebrand faktör seviyeleri, hiperinsülinemi ve bozulmuş endotel fonksiyonları şeklindedir [49].

2002 Ulusal Kolesterol Eğitim Programı tip 2 diyabeti koroner arter hastalığında yüksek risk faktörü olarak kabul etmiştir [50]. Yüksek kan şekeri seviyelerinin diyabet varlığı ya da yokluğunda KAH riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir [58].

#### 1.1.5.5. Diyet:

Ateroskleroz riskini, doymuş yağlar (kalori değeri yüksek, yağ miktarı fazla olan yağlar) kolesterol ve karbonhidrat miktarı fazla ve tuzlu diyetle beslenmek arttırmaktadır [40]. Diyette tüketilen sebze ve meyve içeriği ve yüksek lif alımı arttıkça koroner arter hastalık riski düşmektedir [52].

#### 1.1.5.6. Obezite:

Obezite tedavi edilmediğinde hipertansiyon, dislipidemi ve diyabeti tetiklediğinden KAH'lığı için risk taşımaktadır. Karın bölgesindeki yağ kitlesinin artması meydana gelen abdominal obezitede KAH riski arttırmaktadır.

#### 1.1.5.7. Yaş ve Cinsiyet:

Erkeklerde 45, kadınlarda 55 yaşın üstünde olmak, KAH riskini arttırır. Ateroskleroz erken yaşlarda başlar ancak orta yaşlarda sonuçları ortaya çıkar. Ateroskleroz 10 yaşlarında başlayabilir ve 30-35 yaşın üzerinde ise damarı daraltacak boyutlara ulaşabilir. KAH görülme sıklığı erkeklerde kadınlara kıyasla daha fazladır [40]. KAH riski, 60 yaş altında erkeklerde 1/5, 60 yaş altında kadınlarda ise 1/17'dir. 60 yaşından büyük kadın ve erkeklerde ise bu oran eşitlenmektedir. Menopoz dönemindeki kadınlarda azalan östrojen seviyesi sebebiyle KAH'da artış gözlenir. Kadın erkek arasında KAH'ındaki bu farklılık HDL/total-kolesterol oranı ve sigara içiciliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 1.1.5.8. Sigara:

Cinsiyet ayrımı yapmaksızın tüm yaş gruplarında, tüketilen sigaranın miktarı ve içme süresi etkili olsada içenlerde KAH riski %24 daha fazladır. Sigara diğer risk faktörleriylede etkileşince KAH riskinin artışına neden olur. Sigara kan basıncı ve sempatik tonus üzerindeki etkileri, plazma lipid seviyesini değiştirmesi, serum serbest yağ asitlerini, plazma fibrinojen düzeyini, trombosit aktivasyonunu ve kan vizkositesini artırması, NO düzeyini ve miyokardın oksijenlenmesini azaltması nedeniyle çeşitli mekanizmalarla aterosklerotik süreci hızlandırır [53]. Sigarada bulunan diğer kimyasallar, endotelde hasara neden olur. Sigara içme, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini düşürürken, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu

arttırmaktadır [54]. KAH riski günde bir paket sigara içenlerde hiç sigara içmeyenlere göre 4 kat daha fazladır [55]. Sigarayı bırakma, yaşam süresini uzatmakta ve ortalama 4 yıl içinde KAH riskini % 50-80 azaltmaktadır [56].

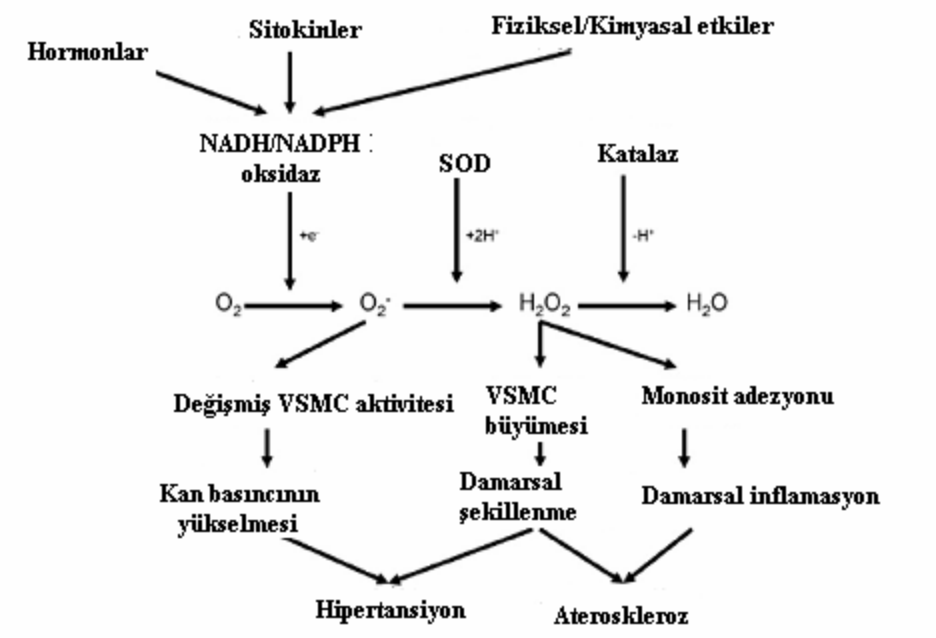
#### 1.1.5.9. Aile Hikayesi:

KAH risk faktörleri kalıtımla geçebileceği gibi ailenin sosyoekonomik yapısı, aynı çevreyi ve olumsuz yaşam alışkanlıkları ve beslenme alışkanlığınında etkisi olacağı düşünülmektedir [40]. Annede 65 yaşından ve babada 55 yaşından önce KAH gözlenen bireylerde belirgin olarak KAH riskinin arttığı saptanmıştır [57]. Aile öyküsü olan kişilerde KAH riski %12 artar.

### 1.1.6. Koroner Arter Hastalıklarında Oksidatif Stres İlişkisi

Serbest oksijen radikalleri ve oksidatif stres, DNA mutasyonları oluşturma yanı sıra aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde önemli etkiye sahiptir [58,59]. Oksidatif stres, özelliklede düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL-kolesterol) oksidatif modifikasyonları, KAH'ında önemli rol oynayabilir [60]. Hiperlipidemi, diyabet, hipertansiyon, sigara ve yaşlanma gibi etkenler arter endoteli, düz kas hücresi ve adventisyal hücrelerden reaktif oksijen türlerinin salınmasına neden olur [61]. Reaktif oksijen türleri, adezyon moleküllerinin anlatımları, vasküler düz kas hücre çoğalması ve göçü, endotelde programlı hücre ölümü, lipidlerin oksidasyonu (okside LDL), proteolitik matriks metalloproteinazların (MMP) aktivasyonu ve vazomotor aktivitede değişiklikler gibi aterogenezde rol alan olayları tetikleyebilir. Aterogenez sürecinde, ksantin oksidaz, NAD(P)H oksidaz, nitrik oksit sentetaz (NOS) ve mitokondriyal enzimler görev yapar [62,63]. Erken dönemde endotel fonksiyon bozukluğu ile başlayan süreç, oksidan uyarının devamı ve antioksidan enzim aktivitesinde azalma ile birlikte aterosklerotik plakların oluşumuna neden olarak koroner arter hastalığına yol açabilir [64]. Oksidatif stres ve ateroskleroz arasındaki ilişkinin varlığı koroner arter örneklerinde SOD gibi antioksidan enzim aktivitelerindeki düşüş ile gösterilmiştir [65]. Hipertansif hastalarda kanda SOD aktivitesinin düşük olduğu gösterilmiştir. Süperoksit dismutazın, in vitro olarak endotel disfonksiyonunu düzeltebildiği ve SOD benzeri maddelerin deney hayvanlarında kan basıncını düşürebildiği bilinmektedir [66,67]. Sigara dumanı, çevresel kirleticiler ve UV ışınları gibi çeşitli etmenler sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen türleri (ROT) hücrelerde mutasyona ya da hatalı gen

anlatımına sebep olurlar. Bu nedenle oksidatif stresin aterosklerozun başlamasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir [68]. Oksidatif stres nedenleri **Şekil 1.5**.'de özetlenmiştir.




**Şekil 1.5.** Oksidatif stresin damar sisteminde sebep ve sonuç ilişkisi [21].

## 1.2. Serbet oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Serbest radikaller, en dış yörüngelerde tek sayıda elektron taşıyan yüksek enerjili bileşiklerdir. Moleküler oksijen ($O_2$) radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyon verirken, serbest radikallerle çok çabuk reaksiyona girer. Serbest radikallerdeki tek sayıda bulunan elektron bu moleküllere reaktiflik kazandırmıştır. Bu reaktiflikte protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır [69].

Serbest radikallerin oluşumunda etkili faktörler ise hücrelerdeki oksijen metabolizması, radyasyon, pestisitler, kontamine sular sayılabilir. Serbest radikallere örnek olarak süperoksit anyonu ($\cdot O_2$),$O_2$, hidroksi (OH) ve NO verilebilir.

Moleküler oksijen yaşam için önemli olmasına rağmen, metabolik faaliyetler ile oluşan bazı reaktif oksijen türleri organizmaya zarar vermektedir [69].

$O_2$'nin kısmi olarak indirgenmesi ile oluşan süperoksit anyonu, hidroksil radikali gibi dış yörüngelerinde paylaşılmamış bir elektron içeren bileşikler ve hidrojen peroksit gibi radikal olmayan moleküllere reaktif oksijen türleri (ROT) adı verilmektedir [70]. ROT' lar kimyasal yapıları nedeniyle normal oksijen molekülü ile karşılaştırıldığında yüksek reaktifliğe sahip oksijen formlarıdır. ROT, vücudumuzun temel yapısal molekülleri olan lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasarına neden olur. Oksijene devamlı maruz kalınması, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu da beraberinde getirir.

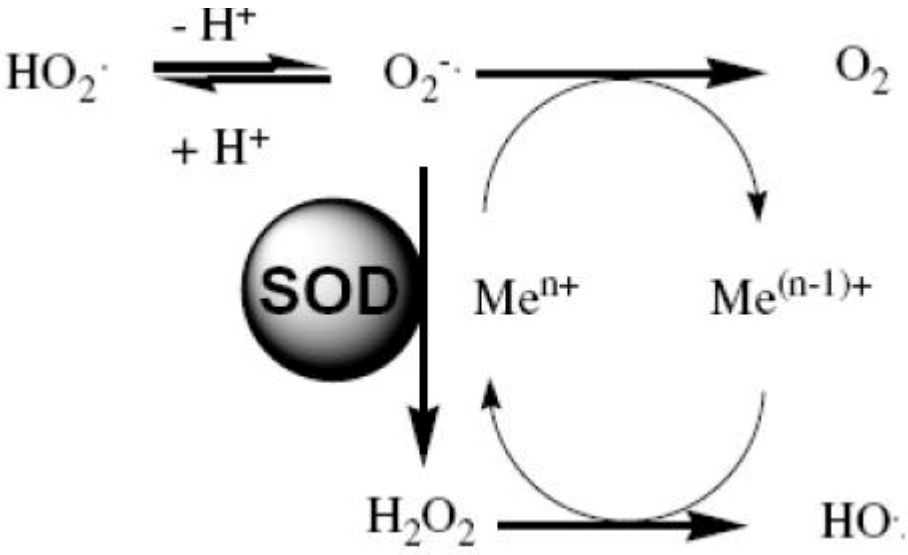
Oksidatif stres ile oluşan ROT'nin etkisi ile DNA'da yapısal değişimler meydana gelir. ROT'nin doğrudan DNA hasarına yol açarak çeşitli mutasyonlara neden olduğu bilinmektedir. DNA'da meydana gelebilecek yapısal hasarlar; baz oksidasyonu (8-oksiguanozin) ve kırılmaları, tek - çift zincir kırıkları, zincirler arası - zincir içi çapraz bağ oluşumu, DNA - protein çapraz bağ oluşumu, şeker kırılmalarını kapsar [71]. Oksidatif stresin kanser oluşumunun yanında Tip 2 diyabet [72], yaşlanma [73], ateroskleroz [74] ve diğer birçok hastalıkta etkin rol oynadığı saptanmıştır.

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu, enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek kısmi oksijen basıncı ($pO_2$), kirli hava, ozon ($O_3$), azot dioksit ($NO_2$•), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyaranların etkisiyle artar. Reaktif oksijen türlerinin çoğu serbest radikaller tarafından oluşturulmaktadır.

Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşı vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir [69]. Serbest radikallerin vereceği zarara karşı koruyucu enzimler arasında ön plana çıkan enzimlerden biri süperoksit dismütaz (SOD) dır.

### 1.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Gen Ailesi

SOD, 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından keşfedilmiş bir antioksidandır [75]. Süperoksit dismutaz enzimi süperoksit serbest radikalinin ($\cdot O_2^-$), hidrojen perokside ($H_2O_2$) ve moleküler oksijene dönüşümünü kataliz ederek serbest radikallerin etkisini azaltmaktadır **(Şekil 1.6.)**.




**Şekil 1.6.** Süperoksit dismutaz enziminin rol aldığı reaksiyonlar (Me; SOD enziminin yapısındaki metal)

### 1.2.2. SOD Genleri ve Yapıları

SOD'ların kofaktörleri farklı olan 3 çeşidi bulunur **(Tablo 1.1.)**:

1. **Cu-ZnSOD (SOD1):** Sitozolde sentezlenip, nukleus ve peroksizomda bulunur. Siyanid ile inhibe edilir. SOD1 proteinini kodlayan gen 21q22.1'de yer alır.
2. **MnSOD (SOD2):** Mitokondride bulunup, geni 6q25.3'de lokalize olmuştur. Siyanidle inhibe edilemez.
3. **ECSOD (SOD3):** Yapısında Cu ve Zn içerir. Ekstrasellüler matrikste bulunup 4p15.3-15.1'de lokalizedir [76].

**Tablo 1.1.** Süperoksit dismütaz enzimlerinin metalleri, protein yapıları, molekül ağırlıkları ve kromozom lokalizasyonları

| | **SOD1** | **SOD2** | **SOD3** |
|---|---|---|---|
| **Metaller** | Cu ve Zn | Mn | Cu ve Zn |
| **Protein yapıları** | Homodimer | Homotetramer | Homotetramer |
| **Molekül ağırlığı(kDa)** | 32 | 86-88 | 135 |
| **Kromozom lokalizasyonu** | 21q22.1 | 6q25.3 | 4p15.3-15.1 |

### 1.2.3. Mn-SOD Geninin Yapı ve Fonksiyonu

Creagan ve ark. 1973 yılında fare insan melezlerinde SOD2 geninin 6. kromozom üzerinde olduğunu belirlemiştir. Church ve ark. 1992 yılında genin 6q25 bölgesinde bulunduğunu keşfetmişlerdir **(Şekil 1.7)**[77, 87].

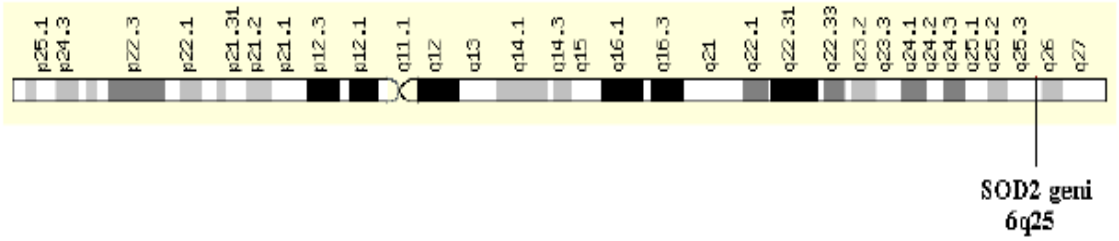
SOD2 geni 5 ekson ve 4 introndan oluşur **(Şekil 1.8)** [78].

MnSOD geni promotöründe; TATA ya da CAAT kutusu bulunmaz ancak %78 oranında GC içeren bölge yer alır. Bu nedenle *housekeeping* genlere benzetilmektedir. MnSOD geninin anlatımının kontrolü transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı bölgeden yapılır [79].

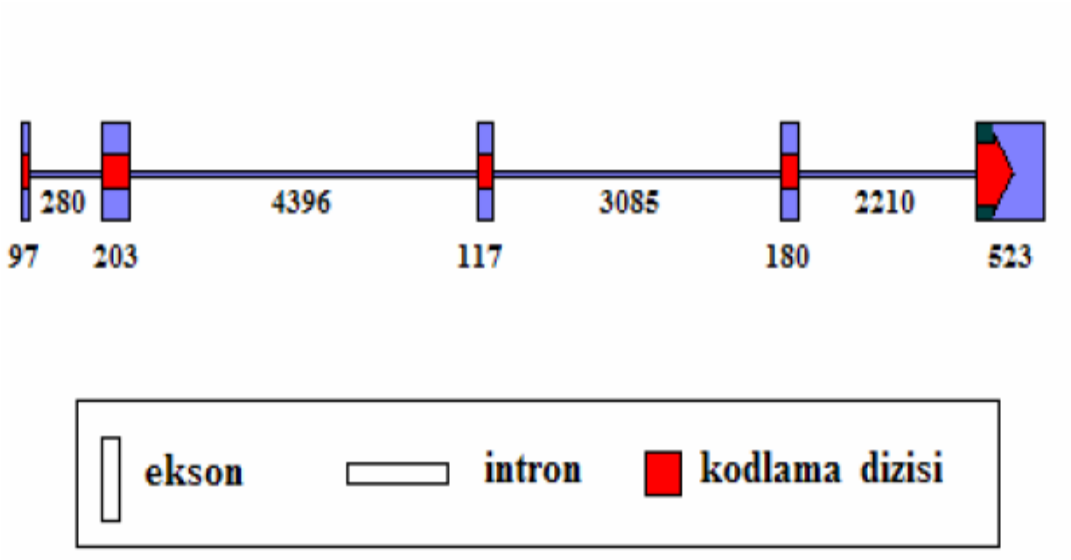
MnSOD, organizmadaki tüm SOD aktivitesinin sadece %10-15'ini oluşturduğu halde [80], doğuştan MnSOD eksikliği olan fareler, 5-10 gün içinde ölürken [81,82], CuZnSOD [83] ve ECSOD [84] eksikliği olan farelerin yaşayabildikleri bilinmektedir.

1026 baz çiftinden ve 198 aa'den oluşan MnSOD'un N-terminal bölgesi α1 ve α2 sarmallarından oluşur. C-terminal bölge ise beş α-sarmal (α3-α7) ve üç β-ipliğinden (β1-β3) meydana gelir [85]. MnSOD, sitoplazmada sinyal dizisi içeren öncü bir molekül olarak sentezlenmekte, daha sonra mitokondri içine girerek bu sinyal dizisini kaybetmektedir [86] .

Memeli organizmalarda SOD2'nin işlevinin önemi farelerde nörodejenerasyona ve kalp hasarlarına neden olup ölümcül olabilmesi dolayısıyla anlaşılmıştır [82].




**Şekil 1.7.** 6.kromozom üzerinde SOD2 geninin lokalizasyonu [87]

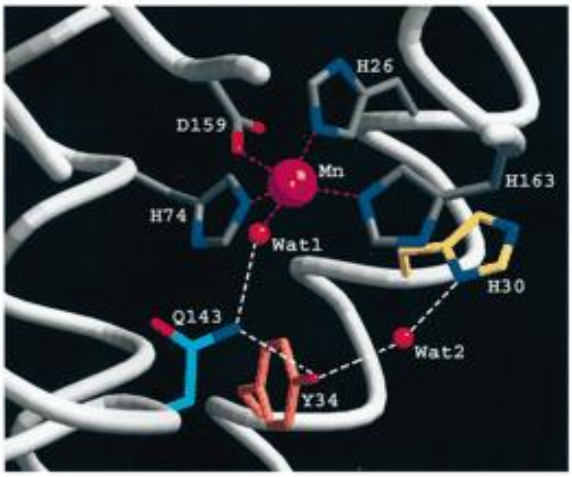



**Şekil 1.8.** SOD2 geninin ekson ve intronları [78]

### 1.2.3.1. MnSOD Proteini

**Mangan süperoksit dismütaz enzimi (MnSOD, SOD2, EC 1.15.1.1, rs4880):**

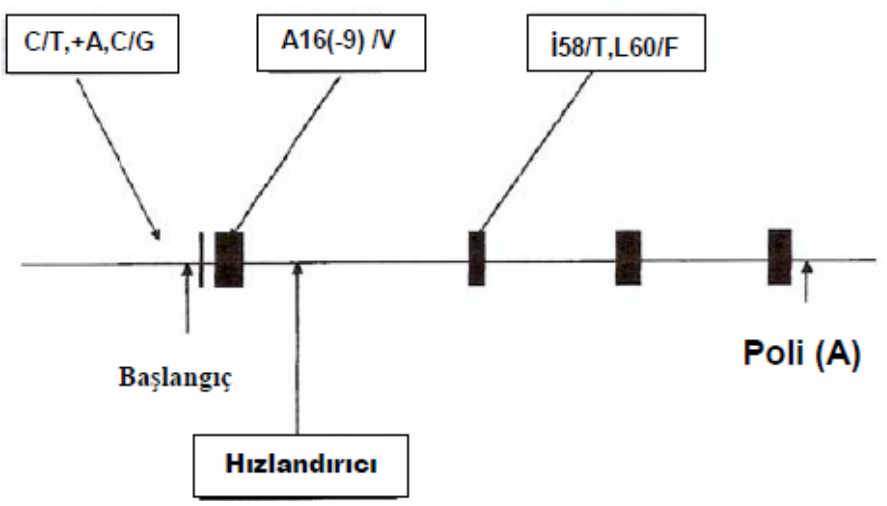
Mitokondride serbest radikalleri temizleyerek oksidatif strese karşı savunma sağlayan yegane enzimdir. Mangan süperoksit dismutaz, bakteriden insana kadar, bütün aerobik organizmalarda bulunan bir metalloenzimdir [75]. İnsan Mn-SOD enzimi homotetramer yapıda olup 22-kD'luk her monomeri aktif bölgesinde bir manganez atomu bulundurmaktadır **(Şekil. 1.9)**.




**Şekil 1.9.** İnsandaki MnSOD proteinin aktif bölgesindeki kristal yapısı [88]

MnSOD sentezi oksidatif stres, hipoksi, sitokinler (IL-1, IL-4, IL-6, TNF-α), lipopolisakkarit (LPS) ve alkol ile arttırılabilir [89,90].

### 1.2.3.2. Mn-SOD Gen Polimorfizmleri




**Şekil 1.10.** İnsan MnSOD geni ve polimorfik bölgeleri [90]

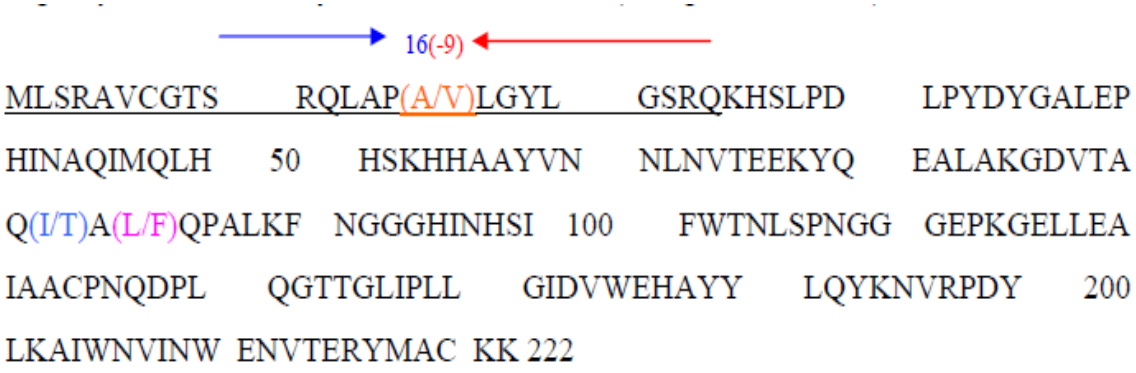
Mn-SOD enzimi sentezlendikten sonra, -9. aminoasit olan Valin (Val) yerine gendeki bir nükleotid değişimi sonucu Alanin (Ala) amino asiti gelmesi, enzimin mitokondriye girişini ve fonksiyonelliğini etkilemektedir [9].

Mn-SOD genine ait polimorfik formlardan hangisinin bulunduğu ile ilişkili olarak mitokondri gibi ROT oluşumunun çok aktif olduğu bir organelde ve hücrenin bütününde (çoğunlukla membranlarda) fonksiyon bozuklukları meydana gelebilir. Hücrelerin sentezlediği enerjinin büyük bir kısmı hücre membran bütünlüğünün

sağlanması ve transport için harcanmaktadır. Mn-SOD enziminin daha az etkili çalışması sonucunda ROT'un artması ile membranlarda lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları oluşup, membran fonksiyonlarını bozabilir. Özellikle taşıma ve pompa görevi yapan proteinler, lipid peroksidasyonuna bağlı değişikliklerden etkilenerek değişime uğrarlar.

MnSOD genine ait pek çok mutasyon tanımlanmıştır. MnSOD, mitokondriyal sinyal dizi (MSD) gen bölgesinde enzimin çalışmasını etkileyen polimorfik bölgeye sahiptir. Bunlar 3. ekzonda 58. pozisyonda izolösin/treonin (ACA→ATA), 60. pozisyonda lösin/fenilalanin (CTT→TTT) polimorfizmleridir. Enzimin prekürsörünün 16. kodonda genetik dimorfizmi, enzimin MSD'ında alanin/valin dönüşümüne yol açar. Aktif enziminin -9. pozisyonunda alanin/valin dönüşümü olduğu için bu polimorfizm A-9V MnSOD polimorfizmi olarak da adlandırılır. **(Şekil 1.10)**

Alanin içeren MSD, α-heliks ikincil yapısına sahiptir ve mitokondri içerisine engelsiz girebilir. MnSOD geninin 2. ekzonunda bir baz çiftinde sitozin yerine timin gelmesi durumunda (GCT→GTT), MSD'ın 16. pozisyonunda alanin (Ala) yerine valin (Val) geçer **(Şekil 1.11.)**. Dolayısıyla, enzimin ikincil yapısı α-heliksten, β-kırmalı tabakaya değişir [9,14]. Böylelikle, enzimin V izoformu mitokondriye taşınırken iç mitokondriyal membran tarafından durdurulmuş olur ve sonuç olarak aktif enzim miktarında azalma meydana gelir. V-MnSOD prekürsörünün mitokondriye MnSOD aktivitesi değişerek mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen ROT'a karşın etkin mücadele sağlanamaz [91]. Mitokondride MnSOD enziminin yeterli olmamasından dolayı seviyesi artan süperoksit anyonu, nitrik oksit ile reaksiyona girerek nitrojen metabolitlerin oluşmasıyla solunum zincirini inaktive eder [92]. Nitrik oksitin yanında $O_2^{\cdot -}$ mitokondrideki Fe-S kümeleri ile de reaksiyona girerek demir serbest hale geçer ve bu organel için son derecede önemli olan Fe-S kümeleri etkisiz hale gelir [93]. ROT aynı zamanda organizmaya zarar vererek farklı hastalıklara ve kansere neden olur. MnSOD'ın tümör baskılayıcı etkisi olabileceği gibi [94] T allelinin varlığı, enzimin bu etkisini yerine getirmesini engelleyerek, kanser oluşumu ihtimalini arttırır [95].




**Şekil 1.11.** İnsan MnSOD proteinin prekürsörünün alt biriminin amino asit dizisi ve polimorfik bölgeleri. MSD'nin 24 aminoasitlik bölgesi altı çizili olarak gösterilmiş-tir [96].

### 1.2.3.3. MnSOD Ala-16Val Polimorfizminin Koroner Arter Hastalığı ile İlişkisi

Kalp hastalıklarına karşı savunma birkaç aşama gösterir. Birincil savunma hücre içi antioksidanlarla [süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GSH-redüktaz), vb.] sağlanırken ikincil savunma, lipolitik ve proteolitik enzimlerle (proteaz, fosfolipaz, vb.), üçüncül savunma ise, oksidatif stres sonucunda artan ROT'larla başa çıkabilmek amacıyla, hücre içi antioksidanların üretiminin artırılmasıdır [58]. Bazı araştırmacılar prooksidan-antioksidan dengesizliği ve koroner lezyonların şiddeti arasında bir bağlantı olduğunu belirtmişlerdir [97,98]. MnSOD'un ateroskleroz ve kırılgan plak oluşumunu önleyici etki mekanizmaları ile ilgili birkaç farklı görüş bulunmaktadır. MnSOD, makrofajlarda ox-LDL ile indüklenen apoptozun miktarını azaltmaktadır [99, 11]. Bu şekilde endotel fonksiyon bozukluğu ile endotel hücrelerinde LDL oksidasyonu önlenmiş olur [13]. MnSOD'un mitokondriyal hedeflenen bölgesindeki sinyal peptidi 16. Amino asidinin dönüşümüne neden olan Ala16Val polimorfizminin MnSOD'un mitokondrideki hedefleme bölgesindeki konformasyonel yapısını değiştirdiği düşünülmektedir. Bu sayede MnSOD'un oksidatif hasara karşı savaş gücünün değiştiği varsayılabilir [9,14]. Literatürde yer alan çalışmalar MnSOD polimorfizminin oksidatif hasar ile uyarılan ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğuna dair veriler yayınlamıştır [9,15,100]. Ancak yayınlanan çalışmaların hiçbiri MnSOD'un değişik genotipleri arasında MnSOD'a ait enzimatik aktivite farklılığı bildirmemişlerdir. Son yıllarda

yapılmış olan bir çalışmada MnSOD Ala16Val polimorfizmi ile Tip 2 diyabetli karotid atreskleroz hastalığı arasında ilişki bulunmamıştır [100]. MnSOD polimorfizmlerinin patojenik fonksiyonları halen netlik kazanmamıştır. Eğer Ala16Val varyasyonu mitokondriyal MnSOD aktivitesini değiştiriyor ise MnSOD polimorfizmi vasküler duvar hücrelerinin ox-LDL ile indüklenen apoptozunu etkileyebilir. Bu yol ile ateroskleroz ve plak kırılganlığı oluşabilir.

# BÖLÜM 2 MATERYAL VE YÖNTEM/ MATERIAL AND METHOD

## 2.1 MATERYAL

### 2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

#### 2.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

**1)** LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe, 96 rxn (Roche, 3003248001)
**2)** High Pure PCR Template Preparation Kit2 (Roche, 11796828002)
**3)** Ala16Val geni için Primer-probe set; 1Nm (TıbMolBiol)
**4)** Tris baz, (Roche, 10708976001)
**5)** Magnezyum klorür (MgCl), (Merck)
**6)** Potasyum klorür (KCl), (Merck)
**7)** Borik asit, (MBG, A-2940)
**8)** Proteinaz K (Roche, 03 115 879)
**9)** Sodyum klorür (NaCl), (MBG, A-2942)
**10)** Sodyum hidroksit (NaOH), (MBG, A-6829)
**11)** Sodyum dodesil sülfat (SDS), (Roche, 11 667 289)
**12)** Amonyum klorür ($NH_4CI$), (MBG, A-3260)
**13)** Potasyum bi karbonat ($KHCO_3$), (BDH)
**14)** Etanol, (MBG, A-3678)
**15)** Absolü etanol, (Merck, 100986)
**16)** EDTA, (MBG, A-5097)
**17)** Fenol/Kloroform/İzoamil alkol (SİGMA, 25:24:1)

#### 2.1.1.2 Kullanılan Çözeltiler

**1.** Proteinaz K: çift distile suda 20mg/ ml
**2.** TE : Tris 1M, EDTA 0.5 M
**3.** Nükleaz Tamponu
Tris baz 10mM
NaCl 400 mM
EDTA 2 mM
**4.** Lizis Tamponu

$NH_4Cl$ 155 mM

$KHCO_3$ 10 mM

EDTA 0.1 Mm

**5.** %10 SDS

Tris baz 15.1 g

Glisin 72 g

SDS 5 g

$H_2O$ 1 lt

**6.** 1 M EDTA (ph: 8)

$Na_2EDTA$ X $2H_2O$ 37.2 g

NaOH 10 M

$H_2O$ 0.1 lt

**7.** 1 M KCl

KCl 74.6 g

$H_2O$ 1 lt

**8.** 5M NaCl

### 2.1.2 Araç ve Gereçler

Otoklav,

Etüv,

Pastör fırını

Vorteks,

Elektronik Hassas Terazi,

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı,

Soğutmalı Mikrosantrifüj,

Çeker Ocak,

UV Kabin,

UV görüntüleme sistemi,

Eş Zamanlı Termal Döngü Cihazı (qPZR sistemi),

Yatay elektroforez,

Buzdolabı,

$-20^0$C Derin Dondurucu,

Elektronik Pipet Seti (10µl, 100µl, 1000µl)

Spektrofotometre

### 2.1.3 Çalışma Grubu

#### 2.1.3.1 Koroner Arter Hastası ve Koroner Arter Hastası Olmayan Gruplara Ait Klinik Veriler

Yaş ortalaması 58.83± 1.83; 58 (minimum 33-maksimum 82 yaş) olan 43 koroner arter hastası hasta grup ve yaş ortalaması 54.10± 2.01; 58 (minimum 18-maksimum 79 yaş) olan 58 koroner arter hastası olmayan kontrol grubu ile çalışıldı [20]. Koroner arter hasta grubunda 28 kadın 15 erkek, koroner arter hasta olmayan grupta ise 32 kadın 26 erkek birey bulunmaktaydı. Koroner arter hastaları Şubat 2012-Temmuz 2012 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde ayaktan tedavi gören hastalar arasından seçildi. Kontrol grubu Şubat 2012- Temmuz 2012 tarihleri arasında rutin sağlık kontrolü için müracaat eden sağlıklı kişilerden oluşturuldu. Hasta ve kontrol gruplarındaki kişiler arasında akrabalık ilişkisi bulunmamasına dikkat edildi. Hasta ve kontroller yaş, cinsiyet, vücut yağı ve beden-kütle indeksi (BKİ) değerleri açısından eşleştirilerek seçildi. Hasta ve kontrol gruplarındaki kişilere çalışmanın amacı açıklanarak imzalı izinleri alındı. Hastaların yaş, boy, kilo, sigara, içki, alışkanlıkları soru cevap tarzında kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol kişilere ait olarak Ek 2.1'de belirtilen 132 adet besin içerisinden günlük olarak hangilerini tükettiği ortalama olarak soru cevap şeklinde kaydedildi. Ayrıca glisemik yük; alınan besinlerin karbonhidrat miktarlarının glisemik indeksleri ile çarpımlarının aynı besini tüketim sıklığına bölünmesi sonucu elde edilen değerin, tüm diğer besinlerden alınan karbonhidrat içeriği ile toplamı şeklinde hesaplandı [101]. Böylece araştırmaya katılan kişilerin, glisemik yük değerleri, besin yoluyla alınan karbohidratların kalite ve miktarları belirlendi. Hesaplanan her bir glisemik yük ünitesi glikozdan elde edilen 1gr. karbonhidrata eşdeğer kabul edildi. Ayrıca hastaların, kendilerinde ve ailelerinde diyabet, kalp hastalığı, anne ve baba arasında akrabalık olup olmadığı bilgisi kaydedildi.

### 2.1.4 Temel Gıda Alımı ve İlişkili Parametreler

Çalışmaya dahil edilen kişilerin, günlük gıda tüketim miktarları temel besin tablosunda **(Ek 2.1)** yer alan besin gruplarına (karbohidrat, protein, yağ) göre kaydedildi. Ayrıca çalışmaya dahil edilen kişilerin glisemik yük ve vücut yağı miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplandı

#### 2.1.4.1 Vücut Yağı Ölçümü

İnsanlardaki yağsız vücut kütle (YVK) ölçüm formülü [102], erkekler için;

YBK (kg)= 0.32810 X ağırlık (kg) + 0.33929 X boy (cm) - 29.5336, bayanlar için; YBK (kg)= 0.29569 X ağırlık (kg) + 0.41893 X boy (cm) - 3.2933. Vücut yağı ölçümü, mevcut vücut ağırlığından (MVA) yağsız beden kütlesinin çıkarılmasıyla hesaplandı.

## 2.2 KULLANILAN İNCELEME YÖNTEMLERİ

### 2.2.1 Glisemik Yük

Belirli miktardaki özgül bir besinin oluşturduğu insülin ihtiyacı ve glisemik yanıt seviyesinin belirlenmesi glisemik yük olarak tanımlanmaktadır.

Çalışma grubumuzdaki kişilere ait beslenme alışkanlıklarına göre *International table of glycemic index and glycemic load* kriterlerine göre [103] glisemik yükler hesaplandı.

Glisemik yük ölçümü**;** alınan besinlerin karbonhidrat miktarılarının glisemik indeksleri ile çarpımlarının aynı besini tüketim sıklığına bölünmesi sonucu elde edilir

$$\text{Glisemik yük} = \frac{\text{Glisemik indeks x karbonhidrat miktarı(gram)}}{100}$$

### 2.2.2 Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanma Koşulları

Hasta ve kontrol grupların açlık periferik kan örnekleri 5 ml'lik vakumlu steril $K_3$- EDTA'lı steril tüplere alındı. $K_3$- EDTA'lı kanlar alındıkları andan itibaren ilk 1 hafta içerisinde genomik DNA'ları izole edilene kadar $+4^0$C'de saklandı. Çalışmada gen polimorfizmi ile ilişkilendirmede kullanılacak olan lipid ölçümleri İ.Ü Hastanesi kayıtlarından temin edildi.

### 2.2.3. Uygulanan Biyokimyasal Laboratuvar Analizleri

Hasta ve kontrol örneklerinin biyokimyasal analizlerinden total-kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, trigliserid, açlık kan şekeri ölçüm sonuçları M.Ü Hastanesi Biyokimya laboratuvarından temin edilmiştir. Şişmanlığı değerlendirmede, beden kütle indeksi (BKİ) *Quatelet's* (ağırlık (kg)/ uzunluk$^2$ (m$^2$)) formülüne göre hesaplanacaktır. BKİ 25 ve üzeri olan kişiler şişman olarak değerlendirilecektir.

### 2.2.4 Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubuna ait kişilerden $K_3$-EDTA'lı tüplere alınan venöz kan örneklerinden "High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche" protokolü [104] ile ve yüksek tuz konsantrasyonları [105] yöntemleri kullanılarak genomik DNA'lar izole edildi **(Şekil 2.1)**.

#### 2.2.4.1 *High Pure PCR Template Preparation* Kit Protokolü ile Genomik DNA İzolasyonu

1. Steril bir ependorf tüpteki 200 µl $K_3$-EDTA'lı kan üzerine 200 µl bağlama tamponu ve 40 µl proteinaz K eklenerek karıştırılır ve 70$^0$C de 10 dk inkübe edilir.
2. Tüpe 100 µl izopropanol eklenerek iyice karıştırılır.
3. Kit içinde bulunan filtreli tüp, toplayıcı tüpe geçirilip, ependorf tüpteki karışım filtreli tüpe aktarılır.
4. 8000xg de 1 dk santrifüj edilir.
5. Filtreli tüp yeni bir toplayıcı tüp ile birleştirilip üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklenir.
6. 8000xg de 1 dk santrifüj edilir.
7. Filtreli tüp yeni bir toplayıcı tüp ile birleştirilip üzerine 500 µl yıkama tamponu eklenir.
8. 8000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
9. 7. ve 8. basamaklar bir kez daha tekrar edilir.
10. Filtreli tüp steril bir ependorf tüp üzerine alınarak üzerine 200 µl 70$^0$C'ye ısıtılmış toplayıcı tampon ilave edilir.
11. 8000g'de 1 dk. santrifüj edilir.
12. Ependorf tüpe süzülmüş olan DNA saflık ve miktar tayinleri yapıldıktan sonra

-20 $^{0}$C'de muhafaza edilir.

### 2.2.4.2 Yüksek Tuz Konsantrasyonları Kullanılarak Genomik DNA İzolasyonu

**1.** 0.5 ml $K_3$-EDTA`lı kan üzerine 1.5 ml Lizis Tamponu eklendi

(Lizis Tamponu: 155 mM $NH_4Cl$; 10 mM $KHCO_3$; 0.1 mM EDTA)

**2.** +4 $^{o}$ C`de 15 dakika (dk) inkübe edildi.

**3.** 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.

**4.** Supernatant atıldı ve pellet üzerine lizis tamponu eklendi

**5.** 5000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.

**6.** 4. ve 5. basamaklar 2-3 kez tekrar edildi.

**7.** Nukleus pelleti üzerine 150 µl nükleaz tamponu (Nükleaz tamponu: 10 mM Tris-base; 400 mM NaCl; 2 mM EDTA), 20 µl çift distile su, 1.5 µl proteinaz K ve 2.5 µl %10 SDS eklendi.

**8.** Karışım 37$^{o}$C`de bir gece inkübasyona bırakıldı.

**9.** İnkubasyon sonrası 1.1 oranında çift distile su ve 5M NaCl karışıma ilave edildi.

**10.** 10000 rpm'de 20 dk. santrifüj edildi.

**11.** Süpernatant başka bir tüpe aktarılarak üzerine saf etanol eklendi ve tüp birkaç kez altüst edilerek karıştırıldı.

**12.** 10000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi.

**13.** Pellet üzerine %70 izopropanol eklendi ve DNA çöktürüldü

**14.** Süpernatant atıldı ve pellet 200 µl 1 X TE içerisinde çözdürüldü.



**Şekil 2.1.** Kandan genomik DNA izolasyonu

### 2.2.5 DNA Miktarının Ölçülmesi

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyundaki ışığı maksimum düzeyde absorbe etmektedir. Bu dalga boyundaki absorbsiyon derecesi nükleik asitlerin miktarını göstermektedir. DNA'nın miktar ve saflığnı belirlemek amacıyla her bir örnek spektrofotometrede 260 nm (DNA için) ve 280 nm (protein için) dalga boylarında ölçülerek belirlendi [106]. 1 optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml'ye karşılık gelmektedir. İzole edilen DNA çift iplikli oldukları için, miktarının belirlenmesinde 260 nm'deki absorbsiyon degeri 50 ile çarpıldı [107, 108].

DNA(µg/ml) = 260 nm'deki OD x seyreltme oranı x katsayı [109]

260 nm OD ölçümünün 280 nm OD ölçümüne oranı bize sırasıyla DNA'da protein ya da RNA kontaminasyonu olup olmadıgı hakkında bilgi vermektedir. Saglıklı bir PCR analizi için $OD_{260}$ / $OD_{280}$ oranı 1.8 ile 2.0 arasında olmalıdır. OD'nin 2.0'nin üzerinde olması protein kontaminasyonuna, 1.8'in altında olması da RNA kontaminasyonunu göztermektedir.

İzole edilen DNA'ların spektrofotometrede (Shimadzu/ UV-1800) konsantrasyonlarını ölçmek üzere 2 µl DNA solüsyonu 1698µl suya ilave edilerek 1/850 oranında seyreltildi ve DNA'ların absorbans değerleri 260 ve 280 nm dalga boylarında okundu **(Şekil 2.2).** Elde edilen değerlerin $OD_{260}$ / $OD_{280}$ oranlarınının 1.8 ile 2.0 arasında olmasına dikkat edildi.



**Şekil 2.2.** DNA'nın miktar ve saflığının spektrofotometrik olarak belirlenmesi

DNA'ların optik dansitesi Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Enstrümental Analiz Araştırma Laboratuarındaki Shimadzu/ UV-1800 model spektrofotometre ile ölçüldü.

Genomik DNA'lara ait OD $_{260}$ / OD $_{280}$ nm oranları 1.8-2.0 arasında olan DNA örnekleri direkt olarak qPZR reaksiyonuna alındı. Ancak OD $_{260}$ / OD $_{280}$ nm oranı 1.8'in altındaki ve 2.0'ın üzerindeki örneklerdeAla16Val genipolimorfizminin belirleneceği PZR ürünlerinin çoğaltımında başarılı olunamadığından bu örneklere Fenol/ Kloroform yöntemi uygulanarak saflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Saflaştırılan DNA örneklerinde ölçülen OD $_{260}$ / OD $_{280}$ nm oranı 1.8-2.0 arasında olan örneklere qPZR işlemi uygulanarak Ala16Val geni genotipleri belirlendi.

### 2.2.6 DNA'nın Saflaştırılması [110]

Fenol/ Kloroform/ İzoamil alkol kullanılarak aşağıdaki yöntemle saflaştırma işlemi yapıldı.

**1.** Saflaştırılması istenen DNA'ya eşit miktarda Fenol/Kloroform (25:24:1) (fenol fazı: 10 mM Tris, pH 8.0, 1 mM EDTA ile tamponlanmış fenol pH: 6.7 ± 0.2) karışımı eklendi.

**2.** Karışım süt rengine gelene kadar vorteks ile iyice karıştırıldı.

**3.** 13000 rpm'de 10 dakika(dk) santrifüj edildi.

**4.** Süpernatant temiz bir tüpe alındı.

**5.** Üzerine 1:2 oranında saf etanol eklendi.

**6.** 14000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.

**7.** Süpernatant atılarak üzerine 200 µl %70'lik etanol eklendi.

**8.** 14000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.

**9.** Süpernatant atıldı ve pellet 200 µl 1XTE içerisinde çözündürüldü.

### 2.2.7 MnSOD Geninin Çoğaltılması ve Ala16Val Gen Polimorfizminin Tespiti ile İlgili Yöntemler

*LightCycler® FastStart DNA Master* hibridizasyon probu; kolay kullanımlı, yüksek performanslı, tekrarlanabilirliği olan ve minimum kontaminasyon riskine sahip bir kittir.

*LightCycler® FastStart DNA Master* hibridizasyon prob kiti, hibridizasyon probu belirleme formatı için özel olarak oluşturulmuş kullanıma hazır bir reaksiyon

karışımı olup, LightCycler nano sisteminde kullanılmaktadır. Reaksiyonlar 20µl' lik tüplerde sıcak başlangıçlı (*Hot-start*) PZR ile gerçekleştirilmektedir. Sıcak başlangıçlı PZR, polimeraz zincir reaksiyonunun başlangıcında spesifik olmayan çoğaltım ürünlerinin oluşumunu en aza indirerek reaksiyonun hassasiyet ve özgüllüğünü arttırır [111 - 112].

*FastStart Taq* DNA polimeraz, $75^0$C'ye kadar aktivite göstermeyen termostabil rekombinant *Taq* DNA polimerazın modifiye formudur. Enzim sadece yüksek sıcaklıklarda aktive olduğundan, primerler spesifik olmayan bağlanma yapamazlar. PZR öncesinde uygulanan $95^0$ C'de, 10 dk'lık bir ön muamele ile enzim tamamen aktive edilir.

#### 2.2.7.1 Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile MnSOD Ala16Val Genotiplerinin Belirlenmesi

Çalışmada *LightCycler nano* (Roche, Almanya) qPZR cihazına uygun *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti **(Şekil 2.3.)** ve *Simple* prob (*TıbMolBiol LightSNiP* Kiti) kullanılarak MnSOD geni Ala16Val genotipleri belirlendi.

Erime eğrisi (*Melting curve*) analizi kullanılarak, uygun erime sıcaklıklarının incelenmesiyle genotipler belirlendi.

Genotipleri belirlemek için hazırlanan karışımda $ddH_2O$, primer-prob karışımı (*LightSNiP*), *FastStart DNA Master (LightCycler FastStart* enzim, *FastStart Taq* DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı, 10mM $MgCl_2$), $MgCl_2$ ve DNA örnekleri kullanıldı **(Tablo 2.1)**.

Bir primer-prob karışım tüpü 96 reaksiyonluk PZR için kullanılmaktadır. Liyofilize halde temin edilen primer-prob karışım tüpüne ilk olarak kısa süreli santrifüj uygulandı. Tüpün dibinde sarı renkli gözlemlenen pellet (primer-prob karışımı) üzerine 100µl $ddH_2O$ eklendi, pipetaj yapılarak karıştırıldı ve kısa süreli santrifüj uygulandı. 1µl primer-prob karışımı 20µl'lik PZR reaksiyonu için kullanıldı.

**Tablo 2.1.** MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlenmesinde kullanılan qPZR reaksiyon karışımı

| **Kullanılan malzemeler** | **Final Konsantrasyon** |
|---|---|
| Çift distile su | 10.4 µl |
| Primer-prob karışımı | 1 µl (0.4 µM) |
| *Fast Start DNA master* karışımı | 2.0 µl (1X) |
| $MgCl_2$ (25mM) | 1.6 µl (3mM) |
| Kalıp DNA | 5 µl ( ~50 ng) |

MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlenecek olan DNA örneklerine ait reaksiyon karışımlarının toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

Ala(-9)Val Polimorfizmi primerleri : F:5`-CAGCCCAGCCTGCGTAGACG-3`
R:5`-GCGTTGATGTGAGGTTCCAG-3`

MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan karışımlara, "*LightCycler* nano (*Roche Applied Science*, Almanya)" sisteminde **Tablo 2.2**'de belirtilen şartlarda gen çoğaltımı yapıldı.

**Tablo 2.2.** *LightCycler®1.0* Programı

| **Program:** | **Denatürasyon** | **Döngü** | | | **Erime** | | | **Soğutma** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Parametre | | | | | | | | |
| Analiz Modu | Hiçbiri | Ölçme | | | Erime Eğrisi | | | Hiçbiri |
| Döngüler | 1 | 45 | | | 1 | | | 1 |
| Bölüm | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 |
| Sıcaklık [$^0$C] | 95 | 95 | 60 | 72 | 95 | 40 | 75 | 40 |
| Süre [ss:dd:ss] | 00:10:00 | 00:00:10 | 00:00:10 | 00:00:15 | 00:00:30 | 00:02:00 | 00:00:00 | 00:00:30 |
| Cihaz işlem hızı [$^0$C/s] | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 2 | - | 20 |
| Elde Etme Modu | Hiçbiri | Hiçbiri | Tek | Hiçbiri | Hiçbiri | Hiçbiri | Devamlı | Hiçbiri |

Kantitatif PZR'nunu takiben erime eğrisi analizi yapılarak, standart erime eğrisi analiz grafiğine göre genotipler belirlendi. MnSOD Ala16Val genotiplerinin polimorfizmi C/T nükleotid değişimi sonucunda oluşmaktadır. MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlemek amacıyla polimorfizme ait standart eğri grafiği temel alınarak her bir örnek değerlendirildi. Kullandığımız *Simple* prob mutant tipteki genotipe göre tasarlandığından, polimorfik tip genotipin Tm sıcaklığı yabanil tip genotipinin Tm sıcaklığından daha düşüktür. Standart eğri grafiğinde **(Şekil 2.3.)** "T" allelinin sıcaklık derecesindeki ($60.44^0$C) eğri homozigot polimorfik tip genotipi, "C" allelinin sıcaklık derecesindeki ($68.36^0$C) eğri heterozigot yabanıl tip genotipi ve her iki sıcaklık derecesindeki eğri heterozigot genotipi göstermektedir. Sıcaklık derecelerinde gözlemlenen $2^0$C'lik farklar dikkate alınmamaktadır. MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlenmesindeki tüm uygulamalarda *LightCycler® 1.0* yazılımı kullanıldı.

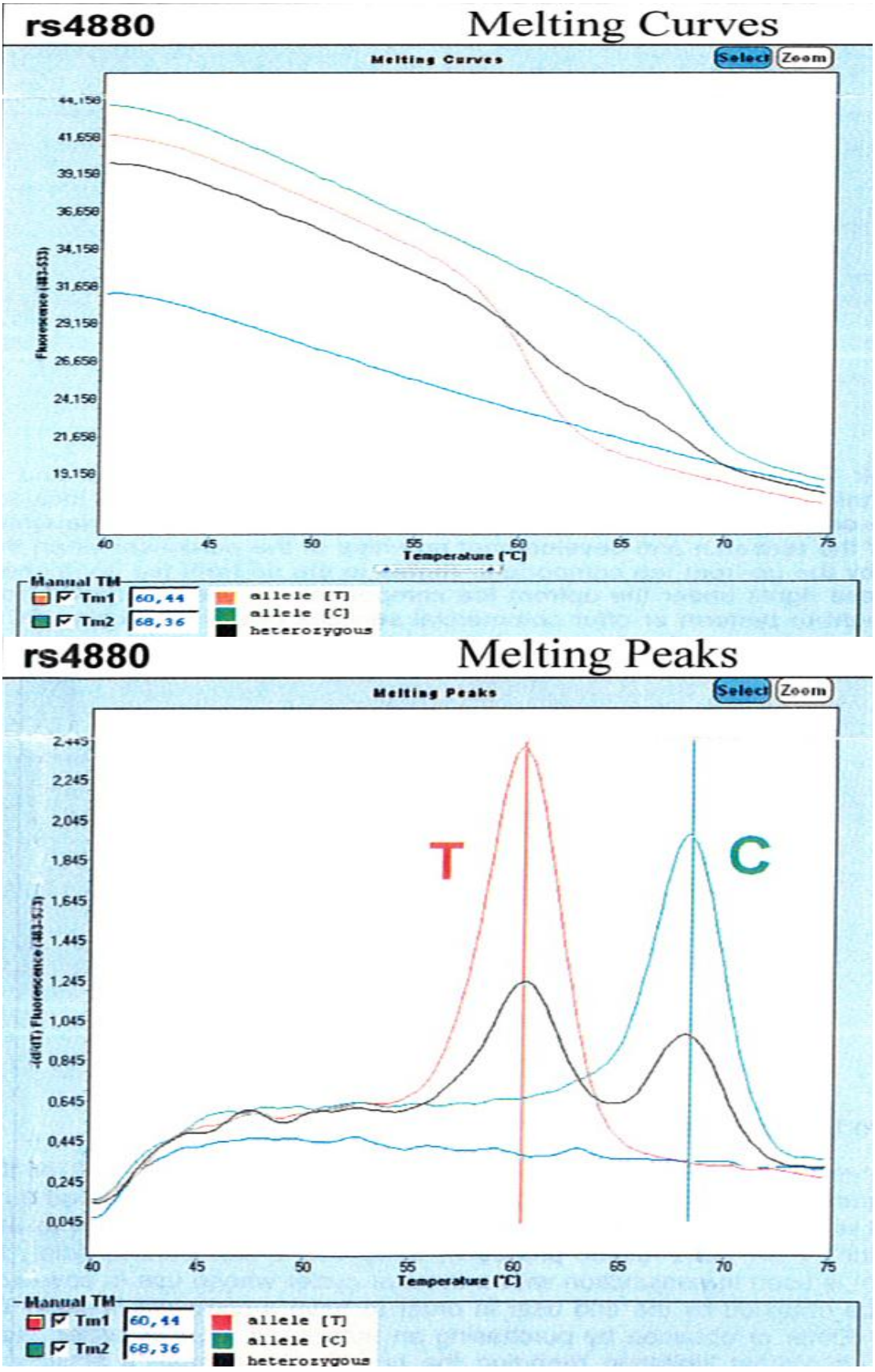
#### 2.2.7.2. MnSOD Ala16Val Genotiplerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

Çalışmada genotipleri belirlenecek olan tüm örneklerin genomik DNA'ları elde edildi.

Kantitatif PZR *LightCycler®* nano, (*Roche Applied Science*, Almanya) sistemine sırasıyla SNP çalışma protokolü ve örnekler kaydedildi.

PZR reaksiyon karışımının tüm basamakları steril UV kabin içinde buzda gerçekleştirildi. Bütün reaktifler çözündürülerek pipetaj ile iyice karıştırıldı. Tüp içeriklerinin dibe toplanması için kısa süreli santrifüj edildi. Reaksiyon karışımı **Tablo 2.1**'de belirtilen miktarlarda karanlıkta hazırlandı.

Tüpler (20µl) soğuk bloğa yerleştirildi **(Şekil 2.4)** ve her bir tüpe reaksiyon karışımından 15µl dağıtıldı **(Şekil 2.5)**. Karışıma DNA örneklerinden 5µl ilave edildi ve tüplerin kapakları kapatıldı. Reaksiyon karışımının tüplerin dibinde toplanması için kısa süreli satrifüj uygulandı.




**Şekil 2.3.** MnSOD Ala16Val genotiplerinin standart erime eğrileri



**Şekil 2.4.** *LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe* kiti



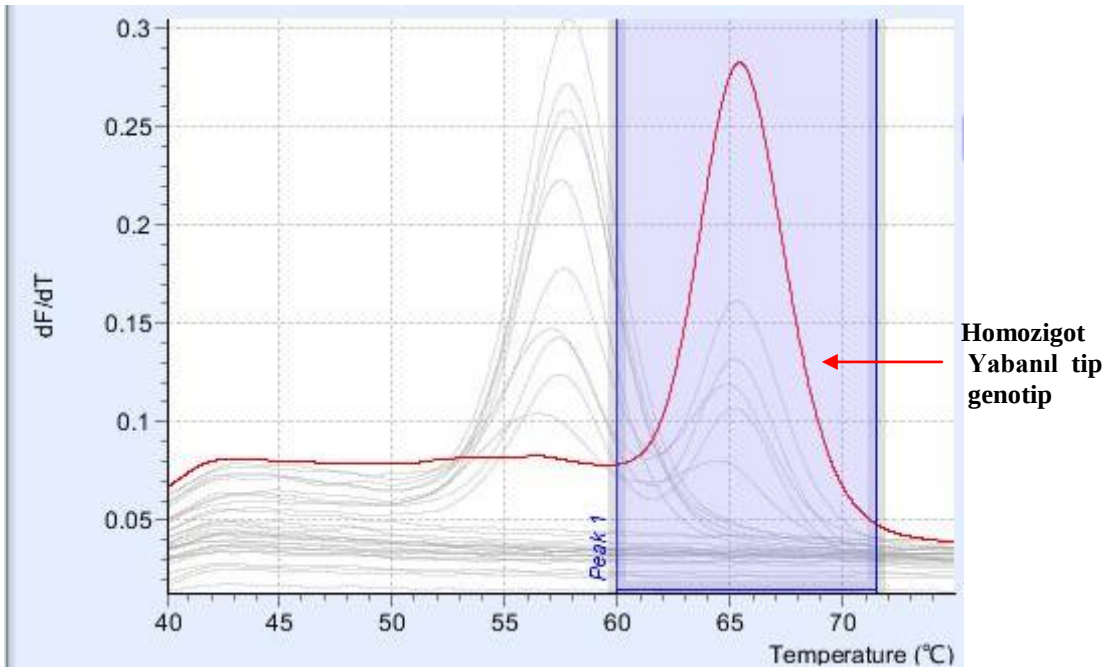
**Şekil 2.5.** Tüplere qPZR reaksiyon karışımının dağıtılması

Tüpler dikkatlice "LightCycler nano (Roche Applied Science, Almanya)" cihazında konumlandırılarak sistem çalıştırıldı **(Şekil 2.6)**.

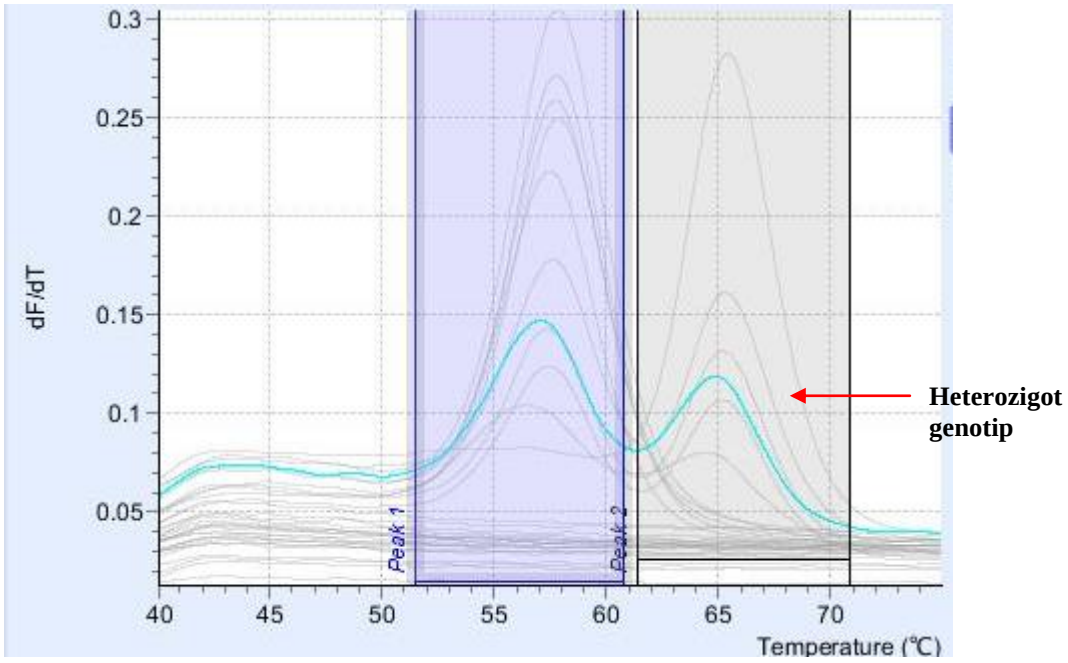


**Şekil 2.6.** Tüplerin qPZR cihazına yerleştirilme işlemi

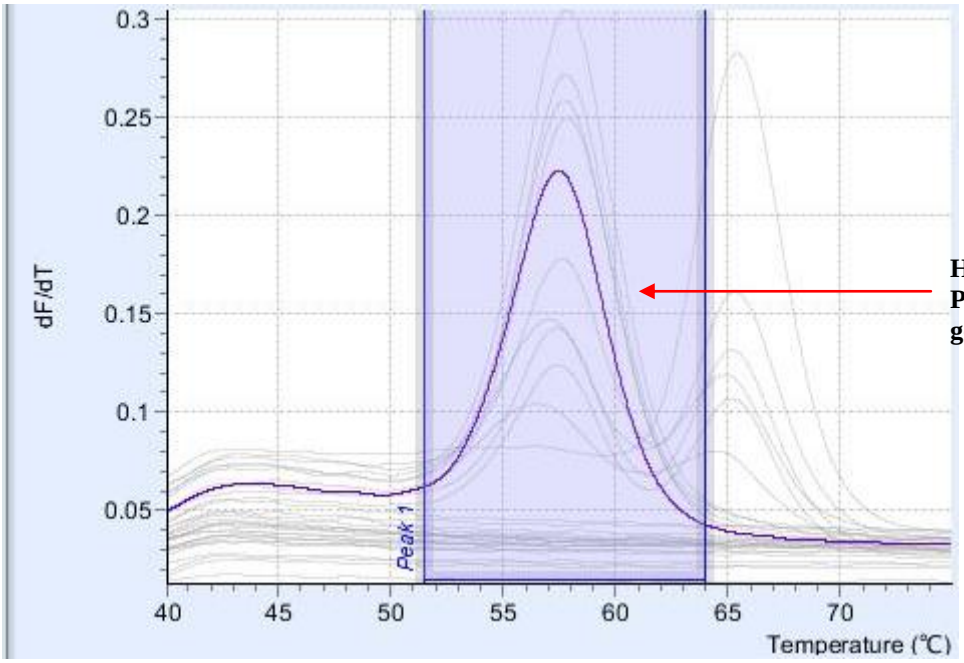
PZR işlemi bittikten sonra MnSOD Ala16Val genotiplerinin belirlemek amacıyla, PZR ürünlerine erime eğrisi analizi yapılarak sonuçlar aşağıda belirtildiği gibi değerlendirildi **(Şekil 2.7, Şekil 2.8, Şekil 2.9)**.




**Şekil 2.7.** Tm: 65.4$^0$C. Ala16Val geni homozigot yabanıl tip genotip (C/C)




**Şekil 2.8.** Tm: 57.07$^0$C ve 64.87$^0$C. Ala16Val geni heterozigot tip genotip (T/C)




**Şekil 2.9.** Tm: 57.47$^0$C. Ala16Val geni homozigot polimorfik tip genotip (T/T)

### 2.2.8. MnSOD aktivitesinin ELİSA ile belirlenmesi

Serum mitokondriyal MnSOD aktivitesi ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbennt Assay) yöntemi ile saptandı. Bu yöntem bir örnekte antijen veya antikor varlığını göstermek için kullanılan biyokimyasal bir tekniktir. İki antikor kullanılır. Birinci antikor antijene spesifiktir, diğeri ise enzimle bağlıdır ve antijen-antikor kompleksi ile etkileşir. İkinci antikor sinyal üretimini sağlayan substrat oluşumuna neden olur. Serumda mitokondriyal MnSOD aktiviteleri sandviç ELISA yöntemi ile ticari kit kullanım kılavuzundaki basamaklar uygulanarak belirlendi.

### 2.2.9 İstatistiksel Analizler

İstatistik analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı değerler ortalama ±standart sapma (SH) ve medyan ( minimum- maksimum) olarak verildi. Kategorik değişkenler olgu sayıları ve yüzde değer olarak ifade edildi. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testi ile incelendi. Gruplar (koroner arter hastası ve koroner arter hastası olmayan) arasındaki karşılaştırmada normal dağılım gösteren değişkenlerin karşılaştırmasında student t testi, normal

dağılmayan değişkenlerin karşılaştırmasında Mann-Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılması Ki-kare ve Fisher kesin olasılık testleri ile yapıldı. (homozigot polimorfik tip (T/T) için %35, heterozigot (T/C) için %55 ve homozigot yabanil tip %20 (C/C)) Değişkenler normal dağılım göstermediği için karşılaştırmasında Kruskal Wallis test, ikili karşılaştırmalarında ise bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney-U test kullanıldı (anlamlılık düzeyi $p<0,016$ olarak kabul edildi.). MnSOD geni Ala16Val polimorfizminin koroner arter hastalığında etkileri ve oluşumunu öngörmede belirleyici olabilecek değişkenler kullanılarak lojistik regresyon analizi yapıldı. $p< 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

# BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA/ RESULTS AND DISCUSSION

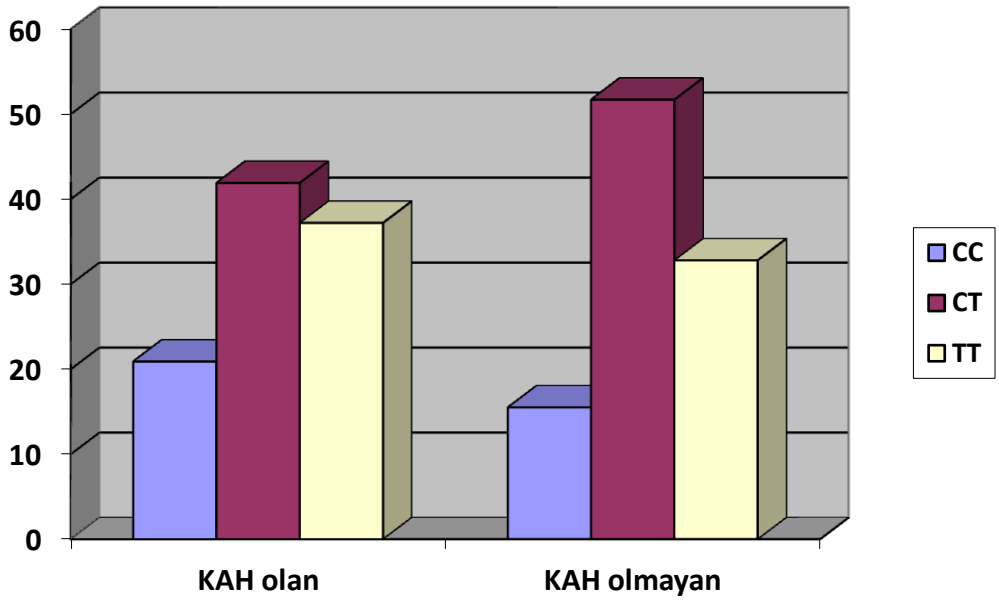
## 3.1 BULGULAR

Çalışmamızda yer alan koroner arter hastası olan ve olmayan gruplara ait MnSOD Ala16Val geni genotip sıklıkları **Tablo 3.1**'de verildi. MnSOD Ala16Val geni polimorfizmi için genotip sıklıkları koroner arter hastası grubunda C/C (Homozigot yabanil tip), C/T (Heterozigot), T/T (Homozigot polimorfik tip) genotipler için sırasıyla % 20.9, %41.9, % 37.2 ve koroner arter hastası olmayan grupta %15.5, %51.7, %32.8 olarak tesbit edildi. MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları çalışma grupları arasında istatiksel anlamlı olarak farklı bulunmadı ($\chi^2$ = 0.741, p = 0.493). Koroner arter hastası olan ve koroner arter hastası olmayan gruplar içerisinde en sık gözlenen genotip heterozigot (C/T) tip olarak bulundu (**Tablo 3.1, Şekil 3.1).**

**Tablo 3. 1.** Tüm çalışma grubunda (KAH ve KAH olmayan) MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | |
|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), n(%)** | **Heterozigot (C/T),n(%)** | **Homozigot polimorfik Tip (T/T), n(%)** |
| **Koroner arter hastası** | 9 (20.9) | 18 (41.9) | 16 (37.2) |
| **Koroner arter hastası olmayan** | 9 (15.5) | 30 (51.7) | 19 (32.8) |

Sonuçlar sayı (%) değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. Çalışma gruplarında gözlemlenen genotip sıklıkları chi-square ($\chi^2$) testi ile karşılaştırıldı. $\chi^2$ = 0.741 , p = 0.493




**Şekil 3.1.** Tüm çalışma grubunda (KAH ve KAH olmayan) MnSOD Ala16Val genotip dağılımlarının grafik ile gösterilmesi

Tüm çalışma grubuna (KAH ve KAH olmayan) ait şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler **Tablo 3.2**'de verildi. Kilo, yağsız vücut kütlesi, trigliserid, yüksek yoğunluklu lipoprotein ölçümleri, koroner arter hastası olan ve koroner arter hastası olmayan gruplarda istatiksel olarak farklılık göstermedi ($p>0.05$). Bel çevresi ($p<0.001$), vücut kütle indeksi ($p<0.001$), yağ kütlesi ($p<0.001$), düşük yoğunluklu lipoprotein ($p<0.001$), sistolik kan basıncı ($p<0.001$), diyastolik kan basıncı ($p<0.001$) ve total-kolesterol ($p<0.01$) ölçümleri koroner arter hastalarında koroner arter hastası olmayan bireylere göre daha yüksek bulundu **(Tablo 3.2)**

**Tablo 3.2.** Tüm çalışma grubunda (KAH ve KAH olmayan) şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler

| | **Koroner Arter Hastası (n= 43)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Koroner Arter Hastası Olmayan (n=58)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **P** |
|---|---|---|---|
| **Kilo (kg)** | 80.86± 2.28; 82 (56-99) | 68.51± 1.82; 66.50 (41-110) | 0,735 |
| **Yaş (yıl)** | 58.83± 1.83; 58 (33-82) | 54.10± 2.01; 58 (18-79) | 0,365 |
| **Boy (m)** | 1.61 ± 0.01; 1.60 (1.40-1.80) | 1.62 ± 0.01; 1.60 (1.40-1.85) | 0,735 |
| **Bel çevresi (cm)** | 100.43± 2.61; 101.05(72-125) | 82.32± 3.06; 77.50(67-113) | 0.0001** |
| **VKİ ($kg/m^2$)** | 31.10± 0.98; 31.16(21.33-42.29) | 25.97± 0.67; 23.93 (17,74-42,06) | 0.0001** |
| **YVK (kg)** | 50.34 ± 1.11; 50.97 (40.83-63.73) | 47.51± 0.90; 46.91 (32.50-69.32) | - |
| **YK (kg)** | 30.51 ± 1.62; 30.69 (12.19-45,68) | 21.00 ± 1.16; 18.04 (7.17-46.47) | 0,0001** |
| **T-kol (mg/dl)** | 211.96 ± 7.78; 210.63(124-295) | 181.29 ± 9.95; 180 (104.00-336.81) | 0,006* |
| **TG (mg/dl)** | 135.83 ± 12.26; 120 (55.79-383) | 120.05 ± 8.78; 111.59 (70-250) | 0,176 |
| **HDL-Kol(mg/dl)** | 47.23 ± 2.46; 48.16 (30-76.95) | 51.09 ± 2.50; 49.87 (33.50-69.58) | 0,189 |
| **LDL-Kol(mg/dl)** | 117.83 ± 10.17; 122.50 (30.15-221) | 65.22 ± 7.34; 47.16 (27.74-125) | 0,0001** |
| **SKB (mmHg)** | 148.89 ± 4.22; 140 (100-190) | 128.54 ± 5.43; 120 (100-220) | 0.0001** |
| **DKB (mmHg)** | 85.89 ± 2.12; 85 (60-110) | 75.00 ± 1.99; 70 (60-100) | 0.0001** |

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı**.** *$p<0.01$, **$p<0.001$.

Koroner arter hastalığı bulunan ve bulunmayan kişilerden oluşan tüm çalışma grubumuzda MnSOD Ala16Val genotipleri arasında mitokondriyal MnSOD aktiviteleri incelendiğinde; genotiplerin arasında anlamlı bir farklılık bulunduğu (p=0.001) ve homozigot yabanıl tipte en yüksek, homozigot polimorfik tipte ise en düşük MnSOD aktiviteleri saptandı **(Tablo 3.3)**.

**Tablo 3.3.** Tüm çalışma grubunda MnSOD Ala16Val polimorfizminin mitokondriyal MnSOD aktivitesi üzerine etkileri

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | |
|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), n:18** | **Heterozigot (C/T), n:48** | **Homozigot polimorfik Tip (T/T), n:35** |
| **MnSOD aktivitesi** (U /mg protein) | 534.2 ± 70.4 | 289.4 ± 92.34 | 128.5 ± 61.7 |

Tüm çalışma grublarına (KAH ve KAH olmayan) ait glisemik yük değerleri **Tablo 3.4**'de verildi. Karbonhidratlı beslenme sonucu oluşan glisemik yük, koroner arter hastası olan ve koroner arter hastası olmayan gruplarda istatiksel olarak farklılık göstermedi (p>0.05).

**Tablo 3. 4.** Tüm çalışma grubuna (KAH ve KAH olmayan) ait glisemik yük değerleri

| | **Koroner Arter Hastası (n=43)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Koroner Arter Hastası Olmayan (n=58)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **p** |
|---|---|---|---|
| **Glisemik Yük** | 77.50± 2.58; 75.50 (58-133) | 77.57± 1.24; 77.00 (68-88) | 0.504 |

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı.

MnSOD Ala16Val gen polimorfizmininin belirlenmesinde beslenme yoluyla alınan yağ ve protein kullanım dereceleri ile ilişkileri **Tablo 3.5**'de verildi. Yağ (p=0.581) ve protein (p=0.044) kullanımları, koroner arter hastalarında koroner arter olmayan çalışma grubuna kıyasla daha yüksek bulundu **(Tablo 3.5)**.

**Tablo 3. 5.** MnSOD gen polimorfizmininin belirlenmesinde beslenme yoluyla alınan yağ ve protein kullanımına etkisi

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | |
|---|---|---|---|
| | **Koroner Arter Hastası (n%)** | **Koroner Arter Hastası Olmayan (n%)** | **p** |
| **Yağ kullanım derecesi** | | | 0.581 |
| 1 | 13 (43,3) | 6(8.5) | |
| 2 | 8 (26,7) | 13(18.3) | |
| 3 | 6 (20,0) | 3(2.8) | |
| 4 | - | - | |
| 5 | - | - | |
| 6 | - | - | |
| 7 | - | - | |
| 8 | - | - | |
| 9 | - | - | |
| 10 | - | - | |
| **Protein kullanım derecesi** | | | 0.044* |
| 1 | 4 (13,3) | 4 (5.6) | |
| 2 | 8 (26,7) | 10(14.1) | |
| 3 | 3 (10,0) | 5(7) | |
| 4 | 5 (16,7) | - | |
| 5 | 2 (6,7) | 2(2.8) | |
| 6 | 3 (10,0) | - | |
| 7 | - | - | |
| 8 | - | - | |
| 9 | - | - | |
| 10 | - | - | |

Sonuçlar sayıdeğer (%) olarak ifade edilmiştir. n : kişi sayısı. *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001

Çalışmamızda yer alan kişilerin koroner arter hastası ve koroner arter hastası olmayan gruplarda var olan diğer hastalıkların sıklıkları **Tablo 3. 6**'de belirtildi. Koroner arter hastası grubunda en sıklıkla rastlanan hastalık hipertansiyon (%92.9), şişmanlık (%85.7), metabolik sendrom (%78.6), tip 2 diyabet (%67.9), abdominal şişmanlık (%67.9), dislipidemi (%50.0) olarak saptanırken; koroner arter hastası olmayan gruplarda hipertansiyon (%20.8), şişmanlık (%33.3), metabolik sendrom (%12.5), tip 2 diyabet (%16.7), abdominal şişmanlık (%26.1), dislipidemi (%29.2) olarak belirlendi **(Tablo 3.6).**

**Tablo 3. 6.** Tüm çalışma grubuna (KAH ve KAH olmayan) ait hastalık profilleri

| | **Çalışma Grupları** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Koroner arter hastası n (%)** | **Koroner arter hastası olmayan n (%)** | **p** | $\chi^2$ |
| **Hipertansiyon** | 26 (92.9) | 5 (20.8) | 0.0001** | 27.845 |
| **Şişmanlık** | 24 (85.7) | 8 (33.3) | 0.0001** | 14.981 |
| **T2DM** | 19 (67.9) | 4 (16.7) | 0.0001** | 13.729 |
| **Dislipidemi** | 14 (50.0) | 7 (29.2) | 0.162 | 2.330 |
| **MS** | 22 (78.6) | 3 (12.5) | 0.0001** | 22.599 |
| **Abob** | 19 (67.9) | 6 (26.1) | 0.005* | 8.816 |

Çalışma gruplarında gözlenen hastalıkların sıklıkları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar sayı % değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. T2DM : Tip 2 diyabet, MS: Metabolik sendrom, Abob : Abdominal Şişmanlık . *p < 0.01 , **p < 0.001

MnSOD Ala16Val genotiplerinin çalışmaya dahil edilen tüm kişilerde, vücut kütle indeksi, yağsız vücut kütlesi, serum lipitleri, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı üzerine olan etkileri **Tablo 3.7**'da verildi. MnSOD genotiplerinin ANOVA ile yağsız vücut kütlesi üzerine anlamlı etkisi saptandı (p= 0.018). Genotipler Man Whitney U testi ile ikili olarak parametrelere etkileri açısından karşılaştırıldığında Heterozigot bireylerdeki yağsız vücut kütlesinin homozigot yabanil tip genotipteki kişilere oranla daha düşük olduğu tesbit edildi (p=0,013) **(Tablo 3. 7)**.

**Tablo 3. 7.** Tüm çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), (n=18)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Heterozigot (C/T), (n=48)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Homozigot Polimorfik Tip (T/T), (n=35)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **ANOVA p** |
| **Kilo (kg)** | 75.66±3,63;75 (56-99) | 69.88±2.24; 69 (42-90) | 75.51±2.59; 73 (54-110) | 0.214 |
| **Yaş (Yıl)** | 59,19±3,75; 62,50 (24-82) | 54,87±2.13; 56(18-77) | 54,86±2.53; 59,50(23-78) | 0.542 |
| **Boy (m)** | 1.66±0,02; 1.64 (1.52-1.84) | 1.59±0.01; 1.58 (1.4-1.8) | 1.64±0.01; 1.65 (1.44-1.85) | - |
| **Bel çevresi (cm)** | 93.57±6.17; 100(72-111) | 92.03±3.46; 95 (67-125) | 92.79±3.47; 91 (72-108) | 0.928 |
| **VKİ (kg/m²)** | 27.51±1.54; 26.25 (21.33-42.29) | 27.50±0.94; 25.20 (17.74-40.81) | 28.06±0.87; 27.68 (22.49-42.06) | 0.722 |
| **YVK (kg)** | 51.06±1.56;49.46 (43.80-63.73) | 46.52±0.92; 45.53 (32.50-61.01)* | 50.23±1.34; 49.47 (40-69.32) | 0.018* |
| **YK (kg)** | 24.60±2.62; 22.58 (12.19-44.14) | 23.35±1.61; 20.57 (7.17-45.68) | 25.28±1.57; 24.93 (13.56-46.47) | 0.606 |
| **T-Kol (mg/dl)** | 200.76±12.58; 195.5 (170-247) | 195.09±9.55; 192.50 (104-336.8) | 200.9±11.29; 193 (115-295) | 0.842 |
| **TG (mg/dl)** | 128.24±9.95; 123.5 (94-160) | 138.32±12.17; 115,20 (77-383) | 110.03±9.00; 109 (55,79-194,92) | 0.258 |
| **HDL-Kol (mg/dl)** | 51.60±5.58; 52 (33.64-74) | 48.55±2.19; 48.66 (32-69.58) | 48.94±3.56; 46 (30-76.95) | 0.893 |
| **LDL-Kol (mg/dl)** | 107.25±12.35; 108.5 (59.53-147) | 84.80±9.86; 67.76 (24.74-177) | 103.05±14.73; 105 (30.15-221) | 0.420 |
| **SKB (mmHg)** | 148.57±7.69; 140 (120-180) | 138.67±4.67;130 (100-190) | 136.93±7.82; 130 (100-220) | 0.367 |
| **DKB (mmHg)** | 87.14±2.64; 85 (80-100) | 79.67±2.11; 80 (60-110) | 80.33±3.53; 80 (60-110) | 0.168 |

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol**,** SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı. *$p < 0.05$ , **$p < 0.01$

MnSOD Ala16Val genotiplerinin koroner arter hastalığı olmayan çalışma grubunda, vücut kütle indeksi, yağsız vücut kütlesi, serum lipitleri, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı üzerine olan etkileri **Tablo 3.8**'de verildi. Koroner hastası olmayan çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerinin yağ kütlesi ve yağsız vücut kütlesi üzerine etkisi saptandı. Şöyleki; Heterozigot genotipe sahip koroner arter hastası olmayan bireylerdeki yağsız vücut kütlesi ve yağ kütlesi değerleri yabanil tipte genotipe sahip olanlara kıyasla daha düşük olarak belirlendi ($p<0.05$) **(Tablo 3.8)**.

**Tablo 3. 8.** Koroner arter hastası olmayan çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), (n=9)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Heterozigot (C/T), (n=30)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Homozigot Polimorfik Tip (T/T), (n=19)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **ANOVA p** |
| **Boy (m)** | 1.69±0,02; 1.69 (1.60-1.82) | 1.60±0.01; 1.58 (1.40-1.80) | 1.63±0.02; 1.62 (1.45-1.85) | 0.029* |
| **Bel çevresi (cm)** | 93.57±6.17; 100 (72-111) | 92.03±3.46; 95 (67-125) | 92.79±3.47; 91 (72-108) | 0.083 |
| **VKİ(kg/m²)** | 26.03±1.30; 24.91 (21.79-33.98) | 25.07±0.99; 23.45 (17.74-40.81) | 27.47±1.15; 27.44 (22.49-42.06) | 0.158 |
| **YVK(kg)** | 51.06±1.56;49.46 (43.80-63.73) | 46.52±0.92; 45.53 (32.50-61.01) | 50.23±1.34; 49.47 (40-69.32) | 0.010** |
| **YK (kg)** | 22.94±2.73; 21.53 (13.86-37.53) | 18.73±1.54; 15.56 (7.17-37.53) | 23.93±2.14; 22.31 (13.56-46.47) | 0.05* |
| **T-kol(mg/dl)** | Veri mevcut değil. | 179.57±13.55; 180 (104-336.8) | 182.89±16.37; 175.17 (115-258) | 0.805 |
| **TG (mg/dl)** | Veri mevcut değil. | 125.96±11.14; 112,48 (89-250) | 111.12±16.31; 94.76 (70-194,5) | 0.290 |
| **HDL- Kol (mg/dl)** | Veri mevcut değil. | 50.82±3.19; 49 (33.5-69.58) | 50.96±4.90; 56 (35-66.88) | 0.972 |
| **LDL-Kol (mg/dl)** | Veri mevcut değil. | 56.30±8.58; 39.81 (24.74-125) | 75.95±12.29; 81 (30.15-112) | 0.169 |
| **SKB (mmHg)** | Veri mevcut değil. | 121.87±4.25;115 (100-160) | 137.85±14.55; 130 (100-220) | 0.180 |
| **DKB (mmHg)** | Veri mevcut değil. | 72.81±1.88; 70 (60-90) | 77.85±4.86; 70 (65-100) | 0.599 |
| **Glisemikyük** | Veri mevcut değil. | 77.47±1.37; 75 (69-87) | 77.83±2.89; 77.5 (68-88) | 0.907 |
| **Yağ (beslenme ile alınan)** | Veri mevcut değil. | 1.93±0.15;2 (1-3) | 1.5±0.22;1.5 (1-2) | 0.135 |
| **Protein (beslenme ile alınan)** | Veri mevcut değil. | 2.60±0.28;2.60 (1-5) | 1.67±0.33;1.50 (1-3) | 0.061 |

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol**,** LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol**,** SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı. *$p<0.05$ , **$p<0.001$

Koroner arter hastası olmayan çalışma grubunda yer alan kişilerin koroner arter ve koroner arterle ilişkili hastalıklara (hipertansiyon, şişmanlık, tip 2 diyabet, dislipidemi, metabolik sendrom ve abdominal şişmanlık) göre taşıdıkları MnSOD Ala 16Val genotip sıklıkları **Tablo 3.9**'de verildi. Koroner arter hastası olmayanlarda görülen hipertansiyon, şişmanlık, T2DM, dislipidemi, metabolik sendrom ve abdominal obezite gibi hastalıklardaki genotip dağılımlarının anlamlı bir farklılık göstermediği belirlendi **(Tablo 3.9)**.

**Tablo 3.9.** Koroner arter hastası olmayan çalışma gruplarında MnSOD Ala16Val genotiplerine göre hastalık profilleri

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), n (%)** | **Heterozigot (C/T), n (%)** | **Homozigot Polimorfik Tip (T/T), n (%)** | P |
| **Hipertansiyon** | 1 (100) | 2 (12.5) | 2 (28.6) | 0,130 |
| **Şişmanlık** | 0 (0) | 4 (25) | 4 (57.1) | 0.33 |
| **T2DM** | 0 (0) | 3 (18.8) | 1 (14.3) | 0.1 |
| **Dislipidemi** | 0 (0) | 6 (37.5) | 1 (14.3) | 0.55 |
| **MS** | 0 (0) | 2 (12.5) | 1 (14.3) | 1 |
| **Abob** | 0 (0) | 3 (20) | 3 (42.9) | 0.50 |

Çalışma gruplarında gözlenen hastalıkların sıklıkları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar sayı % değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. T2DM : Tip 2 diyabetes mellitus , MS: Metabolik sendrom, Abob : Abdominal Şişmanlık.

MnSOD Ala16Val genotiplerinin koroner arter hastalarında vücut kütle indeksi, yağsız vücut kütlesi, serum lipitleri, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı üzerine olan etkileri **Tablo 3.10**'da verildi. Heterozigot genotipe sahip koroner arter hastalarının homozigot polimorfik genotipe sahip olanlara kıyasla daha zengin bir protein diyeti ile (Mann Whitney U testi ile p= 0.002) ve daha fakir bir yağ diyeti ile (Mann Whitney U testi ile p=0.016) beslenmeyi tercih ettikleri; ayrıca homozigot yabanıl tip genotipteki KAH'larının da heterozigot bireylere oranla daha yüksek oranda yağ içeren gıdalar ile beslenmeyi tercih ettiklerini saptadık **(Tablo 3.10)**. Koroner arter hastalarında MnSOD

Ala16Val genotiplerinin şişmanlık ve hipertansiyon ile ilişkili parametreler üzerine istatistiksel anlamlı bir etkisine rastlanmadı **(Tablo 3.10).**

**Tablo 3.10.** Koroner arter hastalarında MnSOD Ala16Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon ile ilişkili göstergeler ve demografik özellikler ile ilişkili parametreler üzerine etkileri

| | **MnSOD Ala16Val genotip sıklıkları** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), (n=9)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Heterozigot (C/T), (n=18)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **Homozigot Polimorfik Tip (T/T), (n=16)** Ort. ± SH; Medyan (Min-Max) | **P** |
| **Kilo (kg)** | 77±7.62;78.5 (56-99) | 83.±3.02; 84 (64-95) | 80.11±3.01; 80 (62-92) | 0.667 |
| **Yaş (Yıl)** | 63 ±4.86; 59.5 (53-82) | 56.79±2.92; 57 (33-75) | 59.22±1.98; 62 (52-68) | 0.638 |
| **Boy (m)** | 1.61±0,04; 1.59 (1.52-1.84) | 1.59±0.01; 1.58 (1.50-1.75) | 1.65±0.03; 1.70 (1.44-1.77) | 0.131 |
| **Bel çevresi (cm)** | 94.17±7.26; 100(72-111) | 106.07±3.01; 103.5 (86-125) | 95.25±4.34; 97 (74-107) | 0.273 |
| **VKİ ($kg/m^2$)** | 29.73±3.30; 29.46 (21.33-42.29) | 32.88±1.20; 33.09 (24.38-40.05) | 29.24±1.21; 29.36 (23.62-35.20) | 0.194 |
| **YVK (kg)** | 49.91±3.23;46.63 (43.80-63.73) | 49.39±1.55; 49.30 (40.83-61.01) | 52.11±1.73; 51.58 (43.27-59.37) | 0.581 |
| **YK (kg)** | 27.08±5.32; 28.30 (12.19-44.14) | 33.60±2.08; 33.5 (20.5-45.68) | 27.99±1.81; 29.72 (16.22-33.93) | 0.201 |
| **T-Kol (mg/dl)** | 201.72±15.37; 195 (170-247) | 213±12.04; 207 (124-274,1) | 216.66±14.19; 222.66 (166-295) | 0.780 |
| **TG (mg/dl)** | 135.09±8.85; 130 (117-160) | 152.59±22.79; 131 (77-383) | 109±10.21; 109 (55-155) | 0.254 |
| **HDL- Kol (mg/dl)** | 50.72±6.75; 52 (33.64-74) | 45.92±2.92; 48.33 (32-63.41) | 47.17±5.36; 42.5 (30-76.95) | 0.885 |
| **LDL-Kol (mg/dl)** | 103.90±14.56; 96 (59.53-147) | 117.69±14.29; 130 (30.15-177) | 126.76±22.98;137.8 (34-221) | 0.716 |
| **SKB (mmHg)** | 145±8.06;140 (120-180) | 157.85±5.26;160 (130-190) | 136.12±8.41; 140 (100-180) | 0.109 |
| **DKB (mmHg)** | 86.66±3.07; 85 (80-100) | 87.5±2.81; 87.5 (70-110) | 82.5±5.26; 80 (60-110) | 0.591 |
| **Glisemikyük** | 78±2.5; 76 (72-88) | 78.07±4.59; 74.5 (63-133) | 76.13±4.17; 77 (58-90) | 0.786 |
| **Yağ (beslenme ile alınan)** | 2.17±0.30;2 (1-3) | 1.5±0.29;1 (1-5) | 2.25±0.31;2.5 (1-3) | 0.008* |
| **Protein (beslenme ile alınan)** | 3.67±0.91;2.5 (2-7) | 4.36±0.46;4 (2-7) | 1.88±0.39;1.50 (1-4) | 0.009* |

Değerler ortalama ± standart hata; medyan (minumum-maksimum) olarak ifade edildi. n: Kişi sayısı. VKİ: Vücut kütle indeksi, YVK: Yağsız vücut kütlesi, YK: Yağ kütlesi, T-Kol: Total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-Kol: Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, LDL-Kol: Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol**,** SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı. *p<0.001

Koroner arter hastası olan çalışma grubunda hipertansiyon, şişmanlık, tip 2 diyabet, dislipidemi, metabolik sendrom ve abdominal şişmanlık gibi hastalık sıklıklarının MnSOD Ala16Val genotiplerine göre dağılımları **Tablo 3. 11**' de verildi. KAH'larında rastlanan diğer hastalık sıklıklarında genotipler arasında anlamlı bir farklılık tesbit edilmedi **(Tablo 3. 11)**.

**Tablo 3.11.** Koroner arter hastası olan çalışma grubunda MnSOD Ala16Val genotiplerine göre hastalık sıklıkları

| | **Çalışma Grupları** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Homozigot Yabanil Tip (C/C), n (%)** | **Heterozigot (C/T), n (%)** | **Homozigot Polimorfik Tip (T/T), n (%)** | **p** |
| **Hipertansiyon** | 6 (100) | 13 (92.9) | 7 (87.5) | 1 |
| **Şişmanlık** | 4 (66.7) | 13 (92.9) | 7 (87.5) | 0.29 |
| **T2DM** | 4 (66.7) | 12 (85.7) | 3 (37.5) | 0.073 |
| **Dislipidemi** | 1 (16.7) | 8 (57.1) | 5 (62.5) | 0.20 |
| **MS** | 4 (66.7) | 12 (85.7) | 6 (75) | 0.59 |
| **Abob** | 3 (50) | 12 (85.7) | 4 (50) | 0.14 |

Çalışma gruplarında gözlenen hastalıkların sıklıkları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar sayı % değer olarak ifade edilmiştir. n: Kişi sayısı. T2DM: Tip 2 diyabetes mellitus , MS: Metabolik sendrom, Abob: Abdominal Şişmanlık . *$p < 0,05$ , **$p < 0,01$ , ***$p < 0,001$

Çoklu lojistik regresyon analizi ile koroner arter hastalığı ile ilişkisi olduğu düşünülen risk faktörleri **Tablo 3.12'**de incelendi. Sadece hipertansiyon (p=0.02) koroner arter hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olarak saptandı. Bulgularımıza göre hipertansiyon varlığı KAH oluşum riskini 21.201 kat arttırmaktadır. MnSOD Ala16Val allelleriniinin hiçbiri KAH için tek başına bir risk faktörü olarak saptanmadı **(Tablo 3. 12).**

**Tablo 3. 12.** Tüm çalışma grubumuzda çoklu lojistik regresyon analizi ile koroner arter hastalığı ile ilişkili bağımsız risk faktörleri

| | **Tüm çalışma grubu** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **B** | **SE** | **EXP (B)** | **P** |
| **Hipertansiyon** | 3.063 | 1.003 | 21.201 | 0.02* |
| **Şişmanlık** | 0.936 | 1.345 | 2.550 | 0.486 |
| **T2DM** | 1.118 | 1.237 | 3.059 | 0.366 |
| **C alleli (yabanil tip)** | -0.953 | 1.468 | 0.386 | 0.516 |
| **T alleli (polimorfik tip)** | -0.670 | 1.610 | 0.512 | 0.678 |

B: Sabit katsayı, SE: Standart hata, OR: Sabitlenmiş risk oranı

## 3.2 TARTIŞMA

Chen ve ark. [113] 168 bireyden oluşan Çin populasyonunda yapmış oldukları çalışmada, Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val, glutatyon peroksidaz-1 geni Pro198Leu ve katalaz geni -262C/T polimorfizmlerinin tip 2 diyabetli koroner arter hastası ve tip 2 diyabetli koroner arter hastası olmayan kontrol gruplarında genotip etkilerini araştırmışlardır[113]. Bu araştırmacılar Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını hasta grupta, polimorfik tip (T/T) için %79.5, heterozigotlar (T/C) için %20.5 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %0; kontrol grupta ise T/T için %76.5, T/C için %21.2 ve C/C için %2.3 olarak saptamışlardır[113]. Chen ve ark. [113] KAH ve KAH olmayan çalışma gruplarında Ala16Val genotip sıklıklarını istatistiksel olarak farklı bulmamışlardır. Duarte ve arkadaşları [114] yapmış oldukları çalışmada Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin hiperkolesterolemili (n=80) ve hiperkolesterolemisi olmayan (n=40) çalışma gruplarında genotip sıklıklarını belirlemişlerdir. Duarte ve arkadaşları Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını hasta grupta, polimorfik tip (T/T) için %35, heterozigot (T/C) için %55 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %10; kontrol grupta T/T için %7.5, T/C için %27.5 ve C/C için % 65 olarak bildirmişlerdir [114]. Araştırmacılar hiperkolesterolemili grupta TC ve TT genotip sıklıkları hiperkolesterolemisi olmayan gruba kıyasla daha yüksek bildirmişlerdir [114]. Arko ve arkadaşları [115] Slovenya populasyonunda yapmış oldukları çalışmalarında Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin tip 2 diyabetli miyokardiyal infarktüs hastası ve tip 2 diyabetli koroner arter hastalığı olmayan grupta genotip sıklıklarını araştırmışlar. Arko ve ark.'nın çalışma gruplarında yer alan 159 kişi tip 2 diyabetli miyokardial infarktüs hastası ve 290 kişi ise tip 2 diyabetli koroner arter hastası olmayan bireylerdir [115]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını tip 2 diyabetli miyokardial infarktüs hastası grupta, polimorfik tip (T/T) için %23.9, heterozigot (T/C) için %50.3 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %25.8; tip 2 diyabetli KAH olmayan grupta T/T için %25, T/C için %49 ve C/C için %25.9 olarak saptamışlardır [115]. Arko ve arkadaşları [115] Ala16Val genotip sıklıklarını tip 2 diyabetli hastalarda MI çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı tespit etmemişlerdir. Fujimoto ve ark. [116] 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada, Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin Vazospastik angina pektoris (VSA) hastası ve Vazospastik angina pektoris hastası olmayan kontrol

grupda genotip sıklıklarını araştırmışlardır. Fujimoto ve ark.'nın çalışma gruplarında yer alan 618 kişi Vazospastik angina pektoris ve herhangi bir hastalık belirlenmeyen kontrol grubu ve 228 kişi ise asetilkolin testinde Vazospastik angina pektoris teşhisi konmuş hasta grubudur [116]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını VSA'lı grupta, polimorfik tip (T/T) için %79.4, heterozigot (T/C) için %19.3 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %1.3; kontrol grupta T/T için % 69.8, T/C için % 28.3 ve C/C için %1.9 olarak saptamışlardır [116]. VSA hastalarında valin alel geninin frekansı (0.890) hasta olmayanlara (0.839) göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir [odds ratio (OR) = 1.55, $p$ = 0.0085]. Böylece, valin allel genini VSA ile yakından (p = 0.019) ilişkili bulmuşlardır. Çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile homozigot yabanil tipin (T/T) VSA için bağımsız bir risk faktörü olduğunu saptamışlardır (OR = 2.02,% 95 CI 1.43, 2.85, p = 0.0012). Fujimoto ve ark. [117] 2008 yılında yapmış oldukları çalışmada, Japon populasyonunda Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin okside olmuş düşük yoğunluklu lipoproteinle (ox-LDL) makrofaj apoptozisi ve koroner arter hastalıkları üzerine etkisini araştırmışlardır. Fujimoto ve ark. çalışma grubunda yer alan 498 kişi hasta grubunu oluşturan koroner arter hastası ve 627 kişi ise kontrol grubunu oluşturan koroner arter hastası olmayan bireylerden oluşmaktadır [117]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını hasta grupta, polimorfik tip (T/T) için % 68.8, heterozigot (T/C) için %29 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %2.2; kontrol grupta T/T için %78.1, T/C için %20.7 ve C/C için % 1.2 olarak saptamışlardır[117]. Homozigot polimorfik tip (TT) genotip sıklığı, koroner arter hastası olmayan grupta koroner arter hastası olan gruptan önemli derecede yüksek çıkmıştır [OR= 1.54, P = 0.0005 (valine allele), OR = 1.62, P = 0.0004 (valine/valine) ]. Yang ve ark. [118] 2008 yılında Çin populasyonunda yapmış oldukları çalışmada, Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin koroner arter hastalıklarına etkisini araştırmışlardır. Yang ve ark. [118] çalışma grubunda yer alan 147 kişi koroner arter hastası ve 108 kişi ise koroner arter hastası olmayan bireylerden oluşmaktadır [118]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını hasta grupta, polimorfik tip (T/T) için %80.9, heterozigot (T/C) için % 4.7 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %14.2; kontrol grupta T/T için %50, T/C için % 33.3 ve C/C için %16.7 olarak saptamışlardır[118]. Yang ve ark. [118] Ala16Val genotip sıklıklarını KAH olan ve KAH olmayan çalışma gruplarında Ala16Val genotip sıklıklarını istatistiksel olarak anlamlı tespit etmişlerdir

(p=0.01). Möllsten ve ark. [119] Danimarka populasyonunda yapmış oldukları çalışmada, Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin diyabetik nefropati ve tip 1 diyabetli hastalarda koroner arter hastalığına etkisini araştırmışlardır. Möllsten ve ark. [119] çalışma grubunda yer alan 441 kişi diyabetik nefropati hastası ve 314 kişi ise kontrol grubu olarak adlandırılan kalıcı normoalbuminuriadır [119]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını hasta grupta, polimorfik tip (T/T) için % 25, heterozigot (T/C) için %50 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %25; kontrol grupta T/T için % 22, T/C için % 48 ve C/C için %30 olarak saptamışlardır[119]. Möllsten ve ark. [119] genotip sıklıklarını çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır (p=0,238). Katakami ve ark. [120] Japon populasyonunda yapmış oldukları çalışmada, oksidatif stres ile ilişkili gen polimorfizmlerinin Japon tip 2 diyabetik hastalarda miyokard infarktüse etkisini araştırmışlardır. Katakami ve ark. [120] çalışma grubu, 226 kişi tip 2 diyabetli miyokard infarktüs hastası ve 3593 kişi ise tip 2 diyabetli miyokard infarktüs hastası olmayan bireylerden oluşturmaktadır[120]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını tip 2 diyabetli miyokard infarktüs hastası grupta, polimorfik tip (T/T) için %77.8, heterozigot (T/C) için %20.3 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %1.8; tip 2 diyabetli miyokard infarktüs hastası olmayan grupta T/T için %75.5, T/C için %23.0 ve C/C için %1.5 olarak saptamışlardır [120]. Katakami ve ark. [120] Ala16Val genotip sıklıklarını çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı tespit etmemişlerdir. Tian ve ark. [121] Çin populasyonunda yapmış oldukları çalışmada, SOD2 geninde C47T polimorfizminin koroner arter hastalığı ile ilişkisini araştırmışlardır. Tian ve ark. [121] çalışma grubunda 269 kişi erken koroner arter hastası, 278 kişi geç başlayan koroner arter hastası ve 299 kişide koroner arter hastası olmayan bireylerden oluşturmaktadır[121]. Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını erken koroner arter hastası grubunda polimorfik tip (T/T) için %76.8, heterozigot (T/C) için %22.7 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %0.5; geç başlayan koroner arter hastası grubunda polimorfik tip (T/T) için %67.6, heterozigot (T/C) için %32 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %0.4; koroner arter hastası olmayan kontrol grubunda T/T için %66.2, T/C için %32.1 ve C/C için %1.7 olarak saptamışlardır (p=0,111)[121]. Kontrol grubunda karşılaştırıldığında mutant genotipini (CC+ TC) erken KAH grubundan (p=0.01) anlamlı olarak daha düşük saptamışlardır. Ancak geç başlayan KAH grubunda (p=0.72) aynı sonuca

ulaşamamışlardır. Tian ve ark. [121] CC + TC genotipinin koroner arter hastalığı riskini azaltabileceği sonucuna varmışlardır. Tian ve ark. [121] Ala16Val genotip sıklıklarını çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı tespit etmişlerdir. Gottlieb ve ark. [122] Güney Brezilya populasyonunda yapmış oldukları çalışmada, Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizmi ve okside LDL düzeyleri ile KAH risk faktörleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışma grubu 54-85 yaş arası, 70 erkek ve 182 kadın toplam 252 kişiden oluşmaktadır. Ox-LDL ≥ 0.5 nmol / mg apoprotein olan bireyleri üst düzey grubu olarak kabul etmişlerdir (HLG, n = 82) ve ox- LDL <0.5 nmol / mg apoprotein olan bireyleride beklenen düzeyde grubu olarak kabul etmişlerdir (ELG, n = 170). Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını HLG grubunda polimorfik tip (T/T) için %32.4, heterozigot (T/C) için %59.5 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %8.1; ELG grupta polimorfik tip T/T için %26.2, heterozigot T/C için %49.2 ve homozigot yabanil tip C/C için %24.6 olarak saptamışlardır[122]. Gottlieb ve ark. [122] Ala16Val genotip sıklıklarını çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı tespit etmişlerdir. MnSOD heterozigot genotip sıklığı diğer genotiplere kıyasla ELG grubunda daha yüksek çıkmıştır ($\chi 2 = 8.48$, $p = 0.014$). İşbir ve ark.[123], açık kalp ameliyatına cevap olarak MnSOD Ala16Val polimorfizmine bağlı antioksidatif kapasite değişimlerini araştırdıkları çalışmalarında, çalışma grubu 42 kişiden oluşan koroner arter bypass graft hastasıdır (KABG). Hastaların ameliyat öncesi ve sonrası Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını araştırmışlardır. Toplam 42 hastada, Ala16Val polimorfizmine ait genotip sıklıklarını, polimorfik tip (T/T) için % 16.7, heterozigot (T/C) için % 66.7 ve homozigot yabanil tip (C/C) için %16.7 olarak saptamışlardır [123]. MnSOD genindeki Ala16Val polimorfizmi, operasyon önce ve sonrası MnSOD seviyeleri ile ilgilidir. Genotiplerin sıralaması şöyledir: CC<CT<TT. Homozigot yabanil tip (C/C) genine sahip hastalar ameliyat öncesi ve sonrası en yüksek MnSOD seviyesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla beraber MnSOD homozigot yabanil tip (C/C) hastaların MnSOD seviyelerini ameliyat öncesi %25.9 ve sonrası %11.4 olarak tesbit etmişlerdir. (123).

43 koroner arter hastası ve 58 koroner arter hastası olmayan kişide yaptığımız çalışmamızda, literatürde yer alan çoğu çalışmada olduğu gibi MnSOD geni Ala16Val genotip sıklıklarının dağılımını koroner arter hastası ve koroner arter hastası olmayan gruplarda istatistiksel anlamlı olarak farklı bulmadık.

Landmeser ve ark. [124] koroner arter hastalıklı kişilerde mangan süperoksit dismütaz (MnSOD) aktivitesini ölçtükleri çalışmalarında, koroner arter hastalarındaki aktivite ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir farklılık bildirmemişlerdir. [124] Fujimoto ve ark. [117] ise mitokondriyal MnSOD Ala16Val genotiplerinin SOD aktivitesi üzerine etkilerini araştırmışlar ve homozigot yabanıl ve heterozigot genotipteki kişilerin SOD aktivitelerinin homozigot polimorfik genotipli kişilere oranla daha yüksek olduğunu ($p<0.0001$) rapor etmişlerdir [117]. İşbir ve ark. [123] açık kalp ameliyatına cevap olarak MnSOD Ala16Val polimorfizmine bağlı antioksidatif kapasite değişimlerini araştırdıkları çalışmalarında, homozigot yabanıl tipteki koroner arter bypass graft hastalarından homozigot yabanıl tipte genotip içerenlerdeki MnSOD seviyelerini en yüksek seviyede, homozigot polimorfik genotiptekilerin ise en düşük seviyede MnSOD aktivitelerine sahip olduğunu bulmuşlardır. Bizde çalışmamızda Fujimoto [117] ve İşbir [123] sonuçlarına benzer şekilde homozigot yabanıl tipteki genotiplerde homozigot polimorfik tipteki genotiplerin taşıdığı MnSOD seviyelerinden daha yüksek düzeylerde MnSOD aktiviteleri tespit ettik. Bu veriler homozigot polimorfik genotip taşıyıcılarındaki antioksidatif kapasitenin diğer genotiplere kıyasla belirgin olarak azaldığını göstermektedir.

Chen ve ark. [113] tip 2 diyabetli koroner arter hastası ve tip 2 diyabetli koroner arter hastası olmayan kontrol grupda MnSOD geni Ala16Val genotip sıklıklarını belirledikleri çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (açlık kan şekeri, total kolesterol, HDL kolesterol ...) üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu tespit etmemişlerdir. Tian ve ark. [121] koroner arter hastası ve koroner arter hastası olmayan kontrol grupda SOD2 geninde C47T genotip sıklıklarını belirledikleri çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (vücut kütle indeksi, total-kolesterol, total trigliserit...) üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Total trigliserid düzeyini; geç başlayan KAH grubunda anlamlı derecede düşük bulmuşlardır ($p=0.002$). Vücut kütle indeksini ise erken başlayan KAH grubunda ($p=0.045$) ve geç başlayan KAH grubunda ($p=0.286$) kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Arko ve ark. [115] tip 2 diyabetli miyokardiyal infarktüs hastası ve tip 2 diyabetli koroner arter hastalığı olmayan Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val genotip sıklıklarını belirledikleri çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (vücut kütle indeksi , total kolesterol, HDL-

kolesterol, LDL-kolesterol) üzerine olan etkilerini araştırmışlar. HDL-kolesterol , LDL-kolesterol seviyelerini, vücut kütle indeksini, tip 2 diyabetlerde yüksek bulmuşlardır. Homozigot Polimorfik tip (TT) olan bireylerde heterozigot (T/C) bireylerle karşılaştırıldığında, yaş, cinsiyet, sistolik kan basıncı, total-kolesterol, vücut kütle indeksi diyabet için daha yüksek risk göstermiştir. Ayrıca hipertansiyon ve trigliserit seviyelerinde hasta ve kontrol grupları arasında önemli farklılık gözlememişlerdir. Fujimoto ve ark. [116] Vazospastik angina pektoris (VSA) hastası ve Vazospastik angina pektoris hastası olmayan kontrol grupda MnSOD geni Ala16Val genotipleri ve biyokimyasal parametrelerin (açlık kan şekeri, total kolesterol, HDL-kolesterol) VSA için bağımsız risk faktörlerini çok değişkenli lojistik regresyon analizinde inceledikleri çalışmalarında yaş, sigara ve hiperkolesteroleminin risk faktörleri olduğunu tespit etmişlerdir. (OR= 2.02, %95 Cl 1.43 , 2.85 ; $p < 0.0012$). Duarte ve arkadaşları [114] hiperkolesterolemi hastası ve hiperkolesterolemi hastası olmayan grupta MnSOD geni Ala16Val genotip sıklıklarını belirledikleri çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (kan şekeri, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserit, vücut kütle indeksi) üzerine olan etkilerini araştırmışlar. Total-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid ve glikoz, hiperkolestero-lemili olan hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Çok değişkenli analiz sonuçları Ala16Val polimorfizminin VKİ ve trigliserid seviyelerini etkilemediğini göstermiştir [114]. Möllsten ve ark. [119] diabetik nefropati ve tip 1 diyabetli hastalarda koroner arter hastalığının MnSOD geni Ala16Val genotip sıklıklarını belirledikleri çalışmada Ala16Val genotiplerinin total kolesterol, sistolik kan basıncı gibi biyokimyasal parametreler üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu tespit etmemişlerdir. Möllsten ve ark. [119] cinsiyet ($p = 0.218$), sigara kullanımı

($p = 0.022$), sistolik kan basıncı($p <0.001$), kolesterol ($p = 0.002$) ve nefropati varlığının ($p = 0.114$) kardiyovasküler hastalık riskini arttırdığını tesbit etmişlerdir. (95% CI 1.0–2.5) [119]. Katakami ve ark. [120] oksidatif stres ile ilişkili gen polimorfizmlerinin Japon tip 2 diyabetik hastalarda miyokard infarktüse etkisini araştırdıkları çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (vücut kütle indeksi, total kolesterol, HDL-kolesterol) üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve hiçbir değişken için istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu tespit etmemişlerdir. Gottlieb ve ark. [122] Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizmi ve okside LDL

düzeyleri ile KAH risk faktorleri arasında ilişkiyi araştırdıkları çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (kan şekeri, total-kolesterol, HDL-kolesterol) üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu tespit etmemişlerdir. Vücut yağ kütlesi ve bel çevresi düzeylerini ox-LDL'si yüksek olan kişilerde daha yüksek gözlemişlerdir. Fujimoto ve ark. [117] Mangan süperoksit dismutaz geni Ala16Val polimorfizminin okside olmuş düşük yoğunluklu lipoproteinle (ox-LDL) makrofaj apoptozisi ve koroner arter hastalıkları üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada Ala16Val genotiplerinin biyokimyasal parametreler (vücut kütle indeksi, kan şekeri, total kolesterol, HDL-kolesterol) üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu tespit etmemişlerdir. Montano ve ark. [125] MnSOD gen polimorfizmlerinin obezite ve beslenme üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında heterozigot genotiplerde proteince zengin diyeti tercih edenlerin homozigot yabanıl ve homozigot polimorfik genotiplere oranla daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Montano ve ark. [125] yapmış oldukları bu çalışmada lipidden zengin beslenmenin, homozigot yabanıl genotipte heterozigot genotip ve homozigot polimorfik genotipteki kişilere oranla daha çok tercih edildiğini bildirmişlerdir. [125] Montano ve ark. sonuçlarına benzer şekilde bizde çalışmamızda proteinden zengin beslenmeyi tercih edenlerin sıklığının, heterozigot tipteki kişilerde, homozigot yabanıl tipteki genotipler ve homozigot polimorfik genotiptekilerden daha yüksek olduğunu tespit ettik. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarımız Montano ve ark.'dan farklılık gösterecek şekilde yağca zengin beslenme tercihlerinin homozigot polimorfik genotipteki kişilerde, heterozigot tip genotip ve homozigot yabanıl tip genotiptekilere kıyasla daha yüksek tespit ettik.

Çalışmamızda vücut kütle indeksi, yağsız vücut kütlesi, yağ kütlesi, total-kolesterol, trigliserid, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol**,** bel çevresi, boy, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı parametreler açısından değerlendirdiğimizde incelenen klinik ve biyokimyasal verilerden koroner arter hastası olan grupta MnSOD genotiplerinin yağ kütle miktarı üzerine etkili olduğunu saptadık. Literatür taramalarımızda MnSOD Ala16Val genotiplerinin yağ kütlesine olan etkilerini araştıran bir başka çalışma bulunmadığından, elde edilen sonuç literatüre bu konuda katkı sağlayacaktır.

## BÖLÜM 4. SONUÇLAR/ CONCLUSIONS

Bu tez çalışmasında koroner arter hastalarında MnSOD Ala16Val genotip sıklıklarının belirlenmesine ve Ala16Val genotiplerinin şişmanlık, tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ile ilişkili göstergeler ve temel demografik karakterler üzerine etkilerinin araştırılmasına; Ala16Val genotiplerinin protein ve/veya yağdan zengin beslenme alışkanlıkları üzerindeki mevcut etkisinin bulunup bulunmadığının tesbitine; çoklu lojistik regresyon analizi ile koroner arter hastalığı risk faktörlerinin ve Ala16Val genotiplerinden hangisi ya da hangilerinin ne derecede ve ne yönde hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğunun araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmamızda MnSOD geni Ala16Val polimorfizmlerinden heterozigot genotiplerin sıklığı, homozigot yabanil tip ve homozigot polimorfik tipteki genotiplerin sıklığından yüksek olarak saptanmıştır. MnSOD geni Ala16Val genotipleri kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile saptandı. Tüm çalışma grubumuzdaki mitokondriyal MnSOD aktiviteleri, MnSOD geni Ala16Val genotiplerine göre karşılaştırıldığında homozigot yabanıl tip genotip taşıyıcılarının en yüksek, homozigot polimorfik genotip taşıyıcılarının en düşük MnSOD aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Koroner arter hastalığı bulunmayan çalışma grubunda MnSOD geni Ala16Val polimorfizminin yağsız vücut kütlesi ($p=0.01$) ve yağ kütlesi ($p=0.05$) üzerine anlamlı etkileri olduğu saptandı. Heterozigot genotipe sahip (C/T) koroner arter hastalığı bulunmayan kişilerdeki yağsız vücut kütlesi ve yağ kütlesi değerlerinin homozigot yabanıl genotipteki (C/C) kişilere oranla daha düşük olduğu gözlendi. Tüm çalışma grubunda ise sadece yağsız vücut kütlesi değerlerinin MnSOD genotipleri tarafından etkilendiği ve heterozigot genotipteki bireylerin homozigot yabanıl ve homozigot polimorfik genotipteki bireylere kıyasla daha düşük olduğu belirlendi. Koroner arter hastalığı bulunmayan kişilerde MnSOD geni Ala16Val polimorfizminin kan yağları, hipertansif göstergeler (Sistolik kan basıncı, Diastolik kan basıncı), glisemik yük ve beslenme alışkanlıkları üzerine herhangi bir etkisine rastlanmadı. Koroner arter hastalığı bulunan çalışma grubunda ise beslenme alışkanlıkları haricindeki hiçbir parametre için (kan yağları, hipertansif belirteçler, glisemik yük, şişmanlık ile ilgili göstergeler (vücut kütle indeksi, yağsız vücut kütlesi, yağ kütlesi, bel çevresi)) MnSOD Ala16Val polimorfizmi ile etkili bulunmadı.

KAH grubunda MnSOD geni Ala16Val polimorfizinin beslenme alışkanlıklarına etkileri belirlendi. Heterozigot genotipe sahip KAH'larında yağdan zengin gıdalarla beslenme alışkanlıkları diğer genotiplere kıyasla daha düşük seviyelerde görülürken, homozigot polimorfik genotipe sahip KAH'larının proteinden fakir beslenme alışkanlıklarını benimsedikleri görüldü. Tüm çalışma grubu değerlendirildiğinde ise MnSOD Ala16Val genotiplerinin beslenme alışkanlıkları ile anlamlı bir etkileşim göstermediği ve sadece yağsız vücut kütlesi üzerinde etkisinin varlığı saptandı.

Sonuçlarını rapor ettiğimiz bu araştırma, ülkemizde MnSOD Ala16Val genotiplerinin KAH'larında yağ kütlesi, yağsız vücut kütlesi, glisemik yük, beslenme alışkanlıkları üzerine etkilerini (nütrigenomik) bildiren ilk çalışma olması nedeniyle özgündür.

**BİLGİLENDİRME**

‘‘Mangan Süperoksit Dismütaz (MnSOD) Ala16Val Gen Polimorfizmlerinin Koroner Arter Olaylarında Koruyucu Rollerinin Araştırılması ’’başlıklı tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından **FEN-C-YLP-040112-0003** nolu proje ile desteklenmiştir.

**09.2011.0164** protokol nolu ‘‘Mangan Süperoksit Dismütaz (MnSOD) Ala16Val Gen Polimorfizmlerinin Koroner Arter Olaylarında Koruyucu Rollerinin Araştırılması ’’ isimli proje Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından incelenerek B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/176 sayı ile 13.02.2012 tarihinde onaylanmıştır**.**

## KAYNAKÇA

[1] Glass, CK., Witztum, JL. (2001) Atherosclerosis: the road ahead. Cell, 104: 503 – 516.

[2] Harrison, D., Griendling, KK., Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H. (2003) Role of oxidative stress in atherosclerosis. Am J Cardiol, 91: 7A–11A.

[3] Duff L. (2006) Arterioscler Thromb Vasc Biol, 26:689–695.

[4] Steinberg D. (1999) At last, direct evidence that lipoxygenases play a role in atherogenesis. J Clin Invest, 103:1487–1488.

[5] Hardwick, SJ., Hegyi, L., Clare, K., Law, NS., Carpenter, K.L.H., Mitchinson, M.J., Skepper, J.N. (1996) Apoptosis in human monocytemacrophage exposed to oxidized low density lipoprotein. J Pathol, 179:294–302.

[6] Rossig, L., Dimmeler, S., Zeiher, AM. (2001): Apoptosis in the vascular wall and atherosclerosis. Basic Res Cardiol; 96:11–22.

[7] Bjo¨rkerud, S., Bjo¨rkerud B. (1996) Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability. Am J Pathol, 149:367–380.

[8] Wispe, JR., Clark, J.C., Burhans, M.S., Kropp, K.E., Korfhagen, T.R., Whitsett, J.A. (1989) Synthesis and processing of the precursor for human mangano-superoxide dismutase. Biochim Biophys Acta, 994:30–36.

[9] Shimoda-Matsubayashi, S., Matsumine, H., Kobayashi, T., Nakagawa-Hattori, Y., Shimizu, Y., Mizuno, Y. (1996) Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. Biochem Biophys Res Commun**,** 226:561–565.

[10] Kinscherf, R., Claus, R,, Wagner, M., Gehrke, C., Kamencic, H., Hou, D., Nauen, O.; Schmiedt, W., Kovacs, G., Pill, J. (1998) Apoptosis caused by oxidized LDL is manganese superoxide dismutase and p53 dependent. FASEB J, 6:461–467.

[11] Shatrov, V.A., Brune, B. (2003) Induced expression of manganese superoxide dismutase by non-toxic concentrations of oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) protects against oxLDL-mediated cytotoxicity. Biochem J, 374:505–511.

[12] Ohashi, M., Runge, M.S., Faraci, F.M., Heistad, D.D. (2006) MnSOD deficiency increases endothelial dysfunction in ApoE-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 26:2331–2336.

[13] Fang, X., Weintraub, NL., Rios, CD., Chappell, DA., Zwacka, RM., Engelhardt, JF., Oberley, LW., Yan, T., Heistad, DD., Spector, AA. (1998) Overexpression of human superoxide dismutase inhibits oxidation of low-density lipoprotein by endothelial cells. Circ Res, 82: 1289–1297.

[14] Rosenblum, JS., Gilula, NB., Lerner, RA. (1996) On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. Proc Natl Acad Sci USA, 93: 4471–4473.

[15] Hiroi, S., Harada, H., Nishi, H., Satoh, M., Nagai, R., Kimura, A. (1999) Polymorphisms in the SOD2 and HLA-DRB1 genes are associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy in Japanese. Biochem Biophys Res Commun, 261: 332–339.

[16] Braunwald, E. (1997) Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine Pathogenesis of Atherosclerosis. WB Saunders Company, 1105- 1106

[17] Rubin, J.L., Lippincott-Raven (1999) Pathology 3nd Edition, 485-487

[18] Stary, HC., Blankenhom, DH., Chandler, AB. (1992) A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis prone regions. Circulation, 85:391-405

[19] Stary, HC. (2003) Atlas of atherosclerosis progression and regression. The Partheonon Pulishing Group, New York, USA, 13-15

[20] Vallance, P., Wetherall, DJ., Ledingham, J.G.G., Warrell, D.A. (1995) Vascular endothelium, its physiology and pathophysiology. Oxford Textbook of Medicine. Oxford: Oxford University Press, 2295-2300.

[21] Ramos, K.S., Partridge, C.R., Teneng, I. (2007) Genetic and molecular mechanisms of chemical atherogenesis. Mutation Research**;** 621: 18-30,

[22] Henri, M.H., Voort D.,Hugo C. (2004) Blood coagulation and the risk of atherothrombosis: a complex relationship. Thrombosis Journal 2:12 doi:10.1186/1477-9560-2-12

[23] Ross, R. ( 1997) The pathogenesis of atherosclerosis''A Textbook of Cardio-vascular Medicine. 5nd Edition. Philadelphia: WB Saunders Company,;1105-1125.

[24] Gök, H. (2002) Klinik Kardiyoloji. Nobel, 203-204

[25] Binder, CJ., Chang, M., Shaw, PX., Miller, YI., Hartvigsen, K. (2002) Innate and acquired immunity in atherogenesis. Nature Medicine, 8 (11):1218-1226

[26] Thom, TJ., Kannel, WB., Silbershatz. (1998) Prevalence, and Mortality of Cardiovascular Diseases in the United States, 3

[27] American Heart Association. Heart diseases and stroke statistics-2004 update. Dallas, American Heart association, (2004).

[28] Cooper, R., Cutler, J., Des vigne, Nickens, P. (2000) Trends and disparities in coronary heart disease, stroke, and other cardiovascular diseases in the United States: findings of the National Conference on Cardiovascular Disease Prevention. Circulation; 102:3137.

[29] Onat, A., Dursunoğlu, D., Bulur, S., Küçükdurmaz, Z., Kaya, Z. (2008) TEKHARF çalışması 2007 taraması. Mortalite ve koroner mortalitede azalma eğilimi sürüyor. Türk Kardiyoloji Derneği Arş, 36:77-81

[30] Murray, CJ., Lopez, A.D. (1997) Global mortality, disability, and the contribution of risk factors. Global Burden of Disease Study, Lancet, 349:1436-1442.

[31] Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02-5215. (2002)

[32] Sonel, A. A. (1987) Kardiyoloji, 3.Baskı, Ankara. Türk Tarih Kurumu Basımevi, 67-75.

[33] Gordon, D.J., Probsfelt, J.L., Garrison, J.W. (1989) High dencity lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four perspective American Studies. Circulation, 79:8-15

[34] Barter, P.J. (1990) Enzymes involved in lipid and lipoprotein metabolism. Curr Opin Lipidol, 1:518-523.

[35] Kumral, E., İnce, B. (2003) Ateroskleroz ve Serebrovasküler Hastalıklar. 1.Baskı, İstanbul.Tayf matbaacılık, 14-18.

[36] Reaven, GM. (1991) Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia: role in hypertension, dyslipidemia, and coronary heart disease. Am Heart J., 121:1283-1288.

[37] Assmann, G., Schulte, H., Funke, H. (1998): The emergence of triglyserides as a significiant independent risk factor in coronary artery disease. Eur Heart J., 19

[38] Austin, MA., Hokanson, JE., Edwards, KL. (1998) Hypertriglyseridemia as a cardiovascular risk factor. Am J Cardiol., 81: 7B-12B.

[39] Roncaglioni, MC., Santoro, L., D'Avanzo, B. (1992) Role of family history in patients with myocardial infarction: An Italian case-control study. GISSI-EFRIM Investigators. Circulation, 85:2065

[40] Komsuoğlu, B. (1985) Kardiyoloji. Trabzon. Karadeniz Üniversitesi Basımevi, 89-107

[41] Hambrecht, R., Wolf, A., Gielen, S. (2000) Effect of exercise on coronary endotelial function in patients with coronary artery disease. N Eng J Med, 342;454-60

[42] Stratton, JR., Chandler, WL., Schwartz, RS. (1991) Effects of physical conditioning on fibrinolytic variables and fibrinogen in young and old healthy adults. Circulation, 83:1692-7

[43] Sipahi, I., Tuzcu, EM., Schoenhagen, P. (2006) Effects of normal, pre-hypertensive, and hypertensive blood pressure levels on progression of coronary atherosclerosis. J Am Coll Cardiol, 48:833.

[44] Yusuf, S., Sleight, P., Pogue, J. (2000) Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. ''The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. N Engl J Med, 342:145.

[45] Grundy, SM., Benjamin, IJ., Burke, GL. (1999) Diabetes and cardiovascular disease : Astatement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation, 100: 1134

[46]. Stona, P.H., Muller, J.E., Hartwell, T. (1989) The effect of diabetes mellitus on prognosis and serial left ventricular function after acute myacardial infarction; Contribution of both coronary disease and diastolic left ventricular dysfunction to the adverse prognosis. The MILIS Study Group. J Am Coll Cardiol, 14:49

[47] Smith JW., Marcus FI., Serokman R. (1984) Prognosis of patients with diabetes mellitus after acute myocardial infarction. Am J Cardiol, 54:718

[48], Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. Harrison's Principles of Internal Medicine 15.baskı. 1377-1387

[49] Valentin Fuster, R., Wayne A., Robert O'Rourke. (2002) Hurt's The Heart. 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 1. Basım.; 1065-1109

[50] Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Circulation (2002) 106:3143.

[51] Vaccaro, O., Eberly, LE., Neaton, JD. (2004) Impact of diabetes and previous myocardial infarction on longterm survival: 25-year mortality follow-up of primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Arch Intern Med, 164:1438.52. 59

[52] Wilhelmsson, C., Vedin, JA., Elmfeldt, D. (1975) Smoking and myocardial infarction. Lancet, 1:415.

[53] Cordan, C., Yeşilbursa, D., Baran, İ., Güllülü, S. (2005) Kardiyoloji. Bursa Uludağ Üniversitesi Basımevi, 21-24.

[54] National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute: The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. NIH Publication (1997), No. 98-4080,

[55] Njolstad, I., Arnesen, E., Lund-Larsen, PG. (1996) Smoking, serum lipids, blood pressure, and sex differences in myocardial infarction. A 12-year follow-up of the Finnmark Study. Circulation, 93:450.

[56] Roserberg, L., Palmer, JR., Shapiro, S. (1990) Decline in the risk of MI among women who stop smoking. N Eng J Med., 322:213-217

[57] Lloyd-Jones, D.M., Nam, B.H., D'Agostino, R.B. (2004) Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring. JAMA, 291:2204.

[58] Aral, H., Türkmen, S. (2002) Oksidatif stres ve hastalıklarla ilişkisi. Folia, 4:1-5.

[59] Young, I.S., Woodside, J.V. (2001) Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol, 54: 176-186

[60] Chisolm, G.M., Steinberg, D. (2000) The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. Free Radic Biol Med, 28: 1815-1826.

[61] Harrison, D., Griendling, K.K., Landmesse, U., Hornig, B., Drexler, H. (2003) Role of oxidative stress in atherosclerosis. Am J Cardiol, 91(3A):7A-11A.

[62] Houston, M., Estevez, A., Chumle, P., Aslan, M., Marklund, S., Parks, DA. (1999) Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. Kinetic characterization and oxidative impairment of nitric oxide-dependent signaling. J Biol Chem; 274:4985-94.

[63] Griendling, KK., Sorescu, D., Ushio-Fukai, M. (2000) NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. Circ Res, 86:494-501

[64] Heinecke, JW. (2003) Oxidative stress: new approaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis. Am J Cardiol, 91(3A):12A-16A.

[65] West, N., Guzik, T., Black, E., Channon, K. (2001) Enhanced superoxide production in experimental venous bypass graft intimal hyperplasia: role of NAD(P)H oxidase. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 21:189-94

[66] Nakazono, K., Watanabe, N., Matsuno, K.; Sasaki, J., Sato, T., Inoue, M. (1991) Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? Proc Natl Acad Sci USA, 88:10045-8.

[67] Schnackenberg, CG., Welch, WJ., Wilcox, CS. (1998) Normalization of blood pressure and renal vascular resistance in SHR with a membrane-permeable superoxide dismutase mimetic: role of nitric oxide. Hypertension, 32:59-64.

[68]Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M. (2004) The role of oxidative stres in carcinogenesis. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 44: 239–267

[69] Diplock, A. (1998) Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium, 59

[70] Halliwell, B., Cross, C.E. (1994) Oxygen-derived species: Their relation tohuman disease and environmental stress. Environ Health Perspect, 102: 5-12

[71] Evans, M.D., Cooke, M.S. (2004) Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. Bioessays, 26: 533-542.

[72] Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeux, J.L., Therond, P., Peynet, J., Legrand, A., Delattre, J.(2004) Diabetes mellitus, oxidative stres and advanced glycation endproducts. Ann Pharm Fr, 62: 147-157.

[73] Burçak, G., Andican, G. (2004) Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 35: 159-169.

[74] Bankson, D.D., Kestin, M., Rifai, N. (1993) Role of free radicals in cancer and atherosclerosis. Clin Lab Med, 13: 463-480

[75] Barra, D., Schinina, M.E., Simmaco, M., Bannister, J.V., Bannister, W.H., Rotilio, G., Bossa, F. (1984) The primary structure of human liver manganese superoxide dismutase. J Biol Chem, 259: 12595-12601.

[76] Altınışık M., ADÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı. Ders notları

[77] Zelko, I.N., Mariani, T.J., Folz, R.J. (2002) Superoxide dismutase multigene family: acomparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Radic. Biol. Med., 33(3): 337-49

[78] Wan, X.S., Devalaraja, M.N., St Clair, D.K. (1994) Molecular structure andorganization of the human manganese superoxide dismutase gene. DNA Cell Biol, 13:1127-1136.

[79] Xu, Y., Porntadavity, S., St Clair, D.K. (2002) Transcriptional regulation of the human manganese superoxide dismutase gene: the role of specificity protein (Sp1) and activating protein-2 (AP-2). Biochem J, 362: 401-412.

[80] Lee, C.Y., Pastore, J.N., Tang, G., Tsan, M.-F. (1994) Cellular distribution of pulmonary Mn and CuZn superoxide dismutase: effect of hyperoxia and interleukin-1. J Histochem Cytochem, 42: 1201-1205

[81] Li, Y., Huang, T-T., Carlson, E.J., Melov, S., Ursell, P.C., Olson, J.L., Noble, L.J., Yoshimura, M.P., Berger, C., Chan, P.H., Wallace, D.C., Epstein, C.J. (1995) Dilated

cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. Nat Genet, 11: 376-381.

[82] Lebowitz, R.M., Zhang, H., Vogel, H., Cartwright, J Jr., Dionne, L., Lu, N., Huang, S., Matzuk, M.M. (1996) Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA, 93: 9782-9787

[83] Reaume, A.G., Ellliot, J.L., Hoffman, E.K., Kowall, N.W., Ferrante, R.J., Siwek, D.F., Wilcox, H.M., Flood, D.G., Beal, M.F., Brown, R.H Jr., Scott, R.W., Snider, W.D. (1996) Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exibit enhanced cell death after axonal injury. Nat Genet, 13: 43-47.

[84] Carlsson, L.M., Jonsson, J., Edlund, T., Marklund, S. (1995) LMice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia. Proc Natl Acad Sci USA, 92: 6264-6268

[85] Buettner, GR., Oberley, LW., Schafer, FQ., Spitz, DR., Domann, FE. (2001) Manganese Süperokside Dismutase. Free Radicals in Biology and Medicine, 77(222):1-11

[86] Wispe, J.R., Clarck, J.C., Burhans, M.S. (1989) Synthesis and Processing of The Precursor for Human Manganosuperoxide Dismutase. Biochim Biophys Acta, 994:30-36

[87] Church, S.L., Grant, J.W., Meese, E.U., Trent, J.M. (1992) Sublocalization of The Gene Encoding Manganese Superoxide Dismutase (Mnsod/SOD2) to 6q25 by Fluorescence in Situ Hybridization and Somatic Cell Hybrid Mapping. Genomics, 14:823–825.

[88] Borgstahl, G.E.O., Parge, H.E., Hickey, M.J., Johnson, M.J., Boissinot, M., Hallewell, R.A., Lepock, J.R., Cubelli, D.E., Tainer, J.A. (1996) Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface. Biochemistry, 35: 4287–4297.

[89] Elsakka, NE., Webster, NR., Galley, HF. (2007) Polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene. Free Radic Res. Jul, 41(7):770-8)

[90] St Clair, D. (2004) Manganese superoxide dismutase: genetic variation and regulation. J Nutr, 134: 3190S-3191S.

[91] Miao, L., St Clair, DK. (2009) Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. Free Radic Biol Med, 47(4):344-56

[92] Riobo, N.A., Clementi, E., Melani, M., Boveris, A., Cadenas, E., Moncada, S., Poderoso, J.J. (2001) Nitric oxide inhibits mitochondrial NADH: ubiquinon reducase activity through peroxynitrite formation. Biochem J, 359: 139-145.

[93] Gardner, P.R., Nguyen, D-D.H., White, C.W. (1994) Aconitase is a sensitive and critical target of oxygen poisoning in cultured mammalian cells and in rat lungs. Proc Natl Acad Sci USA, 91: 12248-12252.

[94] Zhong, W., Oberley, L.W., Oberley, T.D., St Clair, D.K. (1997) Suppresion of the malignant phenotype of human glioma cells by overexpression of manganese superoxide dismutase. Oncogene, 14: 481-490.

[95] Wang, L.I., Miller, D.P., Sai, Y., Liu, G., Su, L., Wain, J.C., Lynch, T.J., Christiani, D.C. (2001) Manganese superoxide dimutase alanine-to-valine polymorphism at codon 16 and lung cancer risk. J Natl Cancer Inst, 93: 1818- 1821

[96] Zejnilojic J. (2007) Akciğer kanserli hastalarda mangan süperoksit dismutaz (mnsod) gen polimorfizminin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi

[97] Riemersma, RA., Wood. DA., MacIntyre, CCA., Elton, RA., Gey, KF., Oliver, MF. (1991) Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C, and E and carotene. Lancet, 337: 1-5.

[98] Jayakumari, N., Ambikakumari, V., Balakrishnan, KG., Iyer, KS. (1992) Antioxidant status in relation to free radical production during stable and unstable anginal syndromes. Atherosclerosis, 94: 183-190.

[99] Kinscherf, R., Claus, R., Wagner, M., Gehrke, C., Kamencic, H., Hou, D., Nauen, O., Schmiedt, W., Kovacs, G., Pill, J. (1998) Apoptosis caused by oxidized LDL is manganese superoxide dismutase and p53 dependent. FASEB J, 6:461–467.

[100] Kakko, S., Paivansalo, M., Koistinen, P., Kesaniemi, YA., Kinnula, VL., Savolainen, MJ. (2003) The signal sequence polymorphism of the MnSOD gene is associated with the degree of carotid atherosclerosis. Atherosclerosis, 168:147–152.

[101] Kiess, W., Galler, A., Reich, A. (2001) Clinical aspects of obesity in childhood and adolescence, Obesity Rewiews 2, 19-24

[102] Hume, R. (1996) Prediction of lean body mass from height and weight, J Clin Path., 19 389-395

[103] Foster- Powell, K., Holt, S.H.A., Brand- Miller, J.C. (2002) İnternational table of glycemic index and glycemic load, Am J Clin Nutr., 76, 5-56

[104] High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche protokolü www.roche-applied-science.com

[105] Miller,S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F. (1998) A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cells, Nucl Acids Res., 16 1215

[106] Wolf, C., Lüthy, J. (2001) Quantitive compatitive (QC) PCR forquantification of porcine DNA, Meat Sci., 57 161-168

[107] Heptinstall, J., Rapley, R. (2002) Spectrophotometric analysis of nucleic acids, The nucleic Acid Protocols Handbook, 57-60

[108] Koban, E. (2007) Tübitak Türkhaygen-1 Projesi Tüe ve Irkların DNA işaretleri ile Moleküler Tanımlanması Çalışma Paketi

[109] Ayaz, Y. (2004) Isı işlem görmüş et ve et ürünlerinde tür ayrımı. Etlik Veterinerlik Mikrobiyoloji Dergisi, 9 , 183- 185

[110] Sambrook, Fritsch, Maniatis, (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Pres, 3, 3-4

[111] Chou, Q., Russel, M., Birch, D.E., Raymond, J., Bloch, W. (1992) Prevention of pre-PCR mi- primingand primer dimeriztion improves low-copy-number amplifications Nucleıc Acids Research, 20 1717- 1723

[112] PCR Manual, Roche Diagnostics, 2nd edition, 2 (1999) 52-58

[113] Chen, .H. , Yu, M.; Li, M., Zhao, W., Lu, M., Lu, Y., Zheng , T., Jiang J., Zhao, W., Xiang, K. , Jia, W., Liu, L. (2012) Polymorphic variations in manganese superoxide dismutase(MnSOD), glutathione peroxidase-1 (GPX1), and catalase (CAT)contribute to elevated plasma triglyceride levels in Chinese patients with type 2 diabetes or diabetic cardiovascular disease, Mol Cell Biochem 363:85–91

[114] Duarte, M.M.F., Moresco, N., Duarte, T., Santi, A., Bagatini, D., Cruz B.M., Schetinger M. (2010) Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism, Clinical Biochemistry 43 1118–1123

[115] Arko, M., Cılensek, I., Petrovic**,** D. (2009) Mangan superokside dismutase gene plymorphısm (V16A) is not assocıated with myocardıal infarction in Slovene type 2 diabetic patients, Acta Medica Saliniana Volume 38, 2

[116] Fujimoto, H., Kobayashi, H., Ogasawara, K., Yamakado, M., Ohno, M. **(2010)** Association of the manganese superoxide dismutase polymorphism with vasospastic angina pectoris, Journal of Cardiology 55, 205—210

[117] Fujimoto, H., Taguchi, J., Ayabe, S., Kobayashi, H., Ogasawara, K., Yamakado, M., Ohno, M. (2008) Manganese superoxide dismutase polymorphism affects the oxidized low-density lipoproteininduced apoptosis of macrophages and coronary artery disease, European Heart Journal 29, 1267–1274

[118] Yang, MP., Ye LX., Qiu H., Deng, MD., Wang, Q., Li, QL., Lei, T., Chi, D. (2008) Association between mangane superokside dismutase 9Ala/Val genetic polymorphism and coronary heart disease, Wu Han Da Xue Xue Bao 29 (6), 775 - 779

[119] Möllsten, A., Jorsal, A., Lajer, M., Vionnet, N., Tarnow, L. (2009) The V16A polymorphism in SOD2 is associated with increased risk of diabetic nephropathy and cardiovascular disease in type 1 diabetes, Diabetologia 52:2590–2593

[120] Katakami N., Kaneto H., Matsuoka T., Takahara, M., Imamura, K., Ishibashi, F., Kanda, T., Kawai, K. (2010) Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is associated with myocardial infarction in Japanese type 2 diabetic patients, Atherosclerosis 212 534–538

[121] Tian C., Liu T., Fang S., Du X., Jia C. (2012) Association of C47T polymorphism in SOD2 gene with coronary artery disease: a case–control study and a meta-analysis, Mol Biol Rep 39:5269–5276

[122] Gottlieb M.G.V., Schwanke H.A., Santos, A. (2005) Association among oxidized LDL levels,MnSOD, apolipoprotein E polymorphisms,and cardiovascular risk factors in a South Brazilian region population, Genetics and Molecular Research 4, 691-703

[123] İşbir, S., Ergen, A., Yılmaz, H., Tekeli, A., Arsan, S. (2008) Effect of Ala16Val Genetic Polymorphism of *MnSOD* on Antioxidant Capacity and Inflammatory Response in Open Heart Surgery, İn vivo 22: 147-152

[124] Landmeser, U., Merten, R.,Spiekermann, S., Büttner, K., Drexler, H., Horning, B., (2000) Vascular Extracellular Superoxide Dısmutase Activity in Patients With Coronary Artery Disease: Relation to Endothelium-Dependent Vasodilation, Circulation, 201:2264-2270

[125] Montano, M., Lera, J., Gottlieb, M., Schwanke, C., Rocha, M., Cattani, M., Santos, G., Cruz I. (2009) Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD)gene polymorphism and elderly obesity, Mol Cell Biochem 328:33–40

**EKLER**

## EK 2-1 TEMEL BESİN TABLOSU

| | YAĞ | KARBOHİDRAT | PROTEİN |
|---|---|---|---|
| ***DENİZ ÜRÜNLERİ*** | | | |
| Hamsi | + | - | + |
| Lüfer | + | - | + |
| Sazan | + | - | + |
| Uskumru | + | - | + |
| Kefal | + | - | + |
| Tekir Balığı | + | - | + |
| Karides | + | - | + |
| Palamut | + | - | + |
| Sardalya | + | - | + |
| Levrek | + | - | + |
| Alabalık | + | - | + |
| Tonbalığı | + | - | + |
| Mezgit | - | - | + |
| ***SEBZELER*** | | | |
| Enginar | - | + | + |
| Patlıcan | - | + | + |
| Fasulye, *yeşil* | - | + | + |
| Brokoli | - | + | + |
| Brüksel lahanası | - | + | + |
| Lahana | - | + | + |
| Sukabağı | - | - | + |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Havuç | - | + | + |
| Karnıbahar | - | + | + |
| Kırmızıbiber | - | - | + |
| Mısır | - | + | + |
| Salatalık | - | - | + |
| Sarımsak | - | + | + |
| Yeşil Lahana | - | + | + |
| Zeytin, *siyah* | + | - | + |
| Zeytin, *yeşil* | + | - | + |
| Bezelye, *yeşil* | - | + | + |
| Biber | - | + | + |
| Soğan | - | + | + |
| Patates | - | + | + |
| Ispanak | - | - | + |
| Domates | - | - | + |
| Mantar | - | + | + |

***MEYVELER***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Elma | - | + | + |
| Kayısı | - | + | + |
| Muz | + | + | + |
| Yaban Mersini | - | + | - |
| Kiraz | - | + | + |
| Hurma | + | + | + |
| İncir | - | + | + |
| Greyfurt | - | + | + |
| Tatlı Kavun | - | + | + |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Kivi | - | + | + |
| Limon | - | + | + |
| Ayva | - | + | + |
| Mandalina | - | + | + |
| Portakal | - | + | + |
| Şeftali | - | + | + |
| Armut | - | + | + |
| Ananas | - | + | + |
| Erik | - | + | + |
| Nar | - | + | + |
| Çilek | - | + | + |
| Karpuz | - | + | + |

***SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİ***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Tereyağı, *tuzsuz* | + | - | + |
| Lor Peyniri | + | + | + |
| Krema | + | + | + |
| Krem Peynir | + | + | + |
| Beyaz Peynir | + | + | + |
| Tuzsuz Beyaz Peynir | + | + | + |
| Yumurta, *pişmiş* | + | + | + |
| Dondurma, *Çikolatalı* | + | + | + |
| Dondurma, *Vanilyalı* | + | + | + |
| İnek Sütü | + | + | + |
| Yoğurt | + | + | + |

***YAĞLAR***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Mısır Yağı | + | - | - |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Zeytin Yağı | + | - | - |
| Ayçiçek Yağı | + | - | - |
| Fındık yağı | + | - | - |
| İç Yağı | + | - | - |
| Margarin | + | - | + |
| Tereyağı, *tuzsuz* | + | - | + |
| Tavuk Yağı | + | - | - |
| Hindistancevizi Yağı | + | - | - |
| Yerfıstığı Yağı | + | - | - |
| Hurma Yağı | + | - | - |
| Susam Yağı | + | - | - |
| Ceviz yağı | + | - | - |
| Pamuk yağı | + | - | - |

***KURUYEMİŞLER***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Keten Tohumu | + | - | + |
| Badem | + | + | + |
| Ceviz | + | + | + |
| Kasu Cevizi (Kaju Fıstığı) | + | + | + |
| Kestane | + | + | + |
| Hindistancevizi | + | + | + |
| Fındık | + | + | + |
| Susam Çekirdeği | + | - | + |
| Yerfıstığı | + | - | + |
| Ayçekirdeği | + | - | + |
| Kabak Çekirdeği | + | - | + |
| Çamfıstığı | + | - | + |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Fıstık | + | + | + |
| Patlamış Mısır | + | + | + |
| Patates Cipsi | + | + | + |

***KURU BAKLİYAT***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Mercimek | + | + | + |
| Bezelye | + | + | + |
| Bakla | + | + | + |
| Nohut | + | + | + |
| Fasulye | + | + | + |
| Makarna | + | + | + |
| Pirinç | + | + | + |
| Ekmek, beyaz buğday | + | + | + |
| Ekmek, kepek buğday | + | + | + |

***ET VE ET ÜRÜNLERİ***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sosis | + | - | + |
| Salam | + | - | + |
| Jambon | + | - | + |
| Pastırma | + | - | + |
| Sucuk | + | - | + |
| Koyun eti | + | - | + |
| Dana kıyma | + | - | + |
| Dana büftek | + | - | + |
| Tavuk, derisiz | + | - | + |
| Hindi, pişmiş | + | - | + |
| Karaciğer,koyun | + | - | + |
| sakatat | + | - | + |

***TATLANDIRICILAR***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ketçap | + | - | + |
| Mayonez | + | + | + |
| Turşu | - | - | + |
| Salata sosu | + | - | - |

***ALKOLLÜ İÇECEKLER***

| | | | |
|---|---|---|---|
| Bira | - | - | - |
| Cin | - | - | - |
| Cin Tonik | - | - | - |
| Martini | - | - | - |
| Şarap, *beyaz* | - | - | - |
| Şarap, *kırmızı* | - | + | - |
| Tekila | - | - | - |
| Viski | - | - | - |
| Votka | - | - | - |

# ÖZGEÇMİŞ

**1. Adı Soyadı** : Hale ATMACA

**2. Doğum Yeri ve Tarihi** : İstanbul - 29.07.1980

**3. Yabancı Dili** : İngilizce

**4. E-Posta** : atmaca.hale@gmail.com

## Öğrenim Durumu

| Derece | Bölüm/Program | Üniversite/Lise | Mezuniyet Yılı |
|---|---|---|---|
| **Lise** | Fen Bilimleri | Edremit Lisesi | 1997 |
| **Lisans** | Biyoloji Bölümü | Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi | 2001 |

## İş Deneyimi

| Yıl | Firma/ Kurum | Görevi |
|---|---|---|
| **2002-2006** | Kavram Dersaneleri | Biyoloji Öğretmenliği |
| **2006-2012** | Özel Biltek Anadolu Lisesi | Biyoloji Öğretmenliği |
| **2012-2013** | Özel Ahmet Şimşek Anadolu Lisesi | Biyoloji Öğretmenliği |