

**T.C**  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR

**HİPERTANSİYON İLE G PROTEİNİ  $\beta$ 3 ALT ÜNİTESİ**  
**C825T POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Ercüment ÖZKEÇECİ**

EDİRNE-2007

**T.C**  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Tevfik GÜLYAŞAR

**HİPERTANSİYON İLE G PROTEİNİ  $\beta$ 3 ALT ÜNİTESİ**  
**C825T POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Ercüment ÖZKEÇECİ**

**Destekleyen Kurum :** T.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından maddi olarak desteklenmiş ve T.Ü Tıp Fak. Biyofizik Anabilim Dalı' nda gerçekleştirilmiştir.

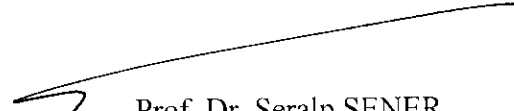
**Tez No :**

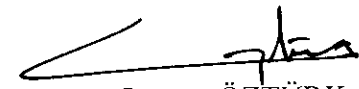
EDİRNE-2007


T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Yrd. Doç. Dr. Tefik GÜLYAŞAR danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Ercüment ÖZKEÇECİ tarafından tez başlığı “**Hipertansiyon ile G proteini  $\beta$ 3 alt ünitesi C825T polimorfizmi arasındaki ilişki.**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 04/07/2007 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Seralp ŞENER  
Biyofizik A.D  
JÜRİ BAŞKANI

  
Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK  
Fizyoloji A.D  
ÜYE

  
Yrd. Doç. Dr. Tefik GÜLYAŞAR  
Biyofizik A.D  
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

  
Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ  
Enstitü Müdürü

## **TEŐEKKÜR**

Tezimin bütün aŐamalarında bilgisini ve becerisini benden esirgemeyen sayın hocalarım Yrd. Doç. Dr. Tefvik GÜLYAŞAR ve Yrd. Doç. Dr. Tammam SİPAHİ' ye, tez materyalini elde etmemi sağlayan Nefroloji A.D Başkanı sayın Prof. Dr. Saniye ŐEN' e ve oğrenciliğim süresince bana her konuda destek veren sayın hocam Prof. Dr. Seralp ŞENER'e, tezimde benimle birlikte çalıŐan ve her zaman yardımcı olan Arş. Gör. Metin BUDAK ve Arş. Gör. Arzu AY' a teŐekkürü bir borç bilirim.

## SİMGE VE KISALTMALAR

GN $\beta$ 3	G proteini $\beta$ 3 alt ünitesi
$\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$	Alfa, Beta, Gama
C825T	825. pozisyonda C→T polimorfizmi
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
NHE	Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> değiştirici
cAMP	Siklik AMP
PIP 2	Fosfatidil inositol difosfat
IP 3	İnositol trifosfat
ATP	Adenozin trifosfat
AMP	Adenozin monofosfat
GTP	Guanozin trifosfat
GDP	Guanozin difosfat
Pi	İnorganik fosfat
SKB	Sistolik kan basıncı
DKB	Diyastolik kan basıncı
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
U.V	Ultra viyole
kDa	Kilodalton
mmHg	Milimetre cıva
cmHg	Santimetre cıva
G <sub>s</sub>	Stimilatör G proteini
G <sub>i</sub>	İnhibitor G proteini
DAG	Diaçil gliserol
WD	Triptofan – aspartik asit amino asitleri
dH <sub>2</sub> O	Derişik H <sub>2</sub> O
bp	Baz çifti
rpm	Dakikada dönüş sayısı
EDTA	Etanol Diamin Tetra Asetik Asit
BPB	Bromofenol mavisi
DM	Diabetes Mellitus ( şeker hastalığı )

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Hipertansiyon (yüksek tansiyon).....	3
Nedenine Göre Hipertansiyon İki Guruba Ayrılır:.....	3
Esansiyel hipertansiyon (Primer - nedeni belli olmayan).....	3
Sekonder hipertansiyon ( ikincil hipertansiyon ).....	4
Hipertansiyon Oluşumundaki Faktörler .....	4
Değiştirilemez Faktörler .....	4
Değiştirilebilir Faktörler .....	4
Hipertansiyon Oluşumundan Sorumlu Genetik Faktörler .....	6
Normal ve Yüksek Kan Basınçları: .....	7
Hipertansiyonun Hedef Organları: .....	8
Poligenik Hipertansiyon .....	9
Monogenik Hipertansiyon .....	10
Hücreler Arasındaki İletişim .....	10
Sinyal İletim Mekanizmasında Birincil ve İkincil Haberciler.....	12
G proteinleri.....	12
G Proteinlerinin Yapısı.....	13
GTP-Bağlayan Proteinler Süperailisinin Üyeleri.....	14
G protein altünite gen ailesi.....	14
G protein altünitesi fonksiyonu .....	15
G Proteini $\alpha$ -Altbiriminin Yapısı:.....	15
G Proteinlerinin $\alpha$ -Altbirimlerinin çeşitleri:.....	15
$\beta\gamma$ -Altbiriminin Yapısı: .....	16
G Proteinlerinin hastalıklarla ilişkisi .....	17
Polimorfizm .....	17
Yeni Alellerin Oluşumu .....	18
G Proteini $\beta$ 3 Altünitesi C825T Polimorfizmi .....	18
Hipertansiyonda artmış Na/H değiştirici aktivitesi. ....	20
Obezite ve Hipertansiyon .....	21
İnsülin Direnci .....	21
Karotid Arterioskleroz.....	22
GEREÇ VE YÖNTEM.....	23

Gereçler .....	23
Kimyasal Malzemeler.....	23
Çalışmada Kullanılan Cihazlar .....	24
Çözeltiler .....	24
Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltisi.....	24
Yöntemler .....	24
DNA İzolasyonu.....	24
Hücre Parçalama Çözeltisi ( Lizis Buffer ) .....	25
Çekirdek Parçalama Çözeltisi ( Nükleaz Buffer, pH; 8.2 ) .....	25
DNA İzolasyonu Yöntemi .....	25
PCR ( Polymerase Chain Reaction ).....	25
PCR' da kullanılan Primer Dizileri .....	25
PCR için hazırlanan mix.....	26
PCR için gerekli koşullar.....	26
PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi .....	26
Enzim Kesimi İçin Hazırlanan Mix.....	26
BssEC I ( Sec I ) Enziminin Mekanizması .....	26
BULGULAR .....	28
PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde İzlenmesi .....	28
GN $\beta$ 3 Polimorfizminin Genotipi .....	29
TARTIŞMA.....	33
SONUÇLAR.....	37
ÖZET .....	39
SUMMARY .....	40
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	47

## GİRİŞ VE AMAÇ

Kan basıncı yüksekliği (hipertansiyon), insanların çoğunun yaşamlarının bir sürecinde karşı karşıya kaldıkları önemli bir sağlık sorunudur. Günümüzde hipertansiyon, dünyanın tüm coğrafi bölgelerini etkileyen ve öncelikle erişkin populasyonu ilgilendiren bir epidemi halini almıştır. Epidemiyolojik veriler, 30' lu yaşlarda % 20 - 25 olan hipertansiyon prevalansının yaşla birlikte belirgin artış göstererek 60 yaş ve üzerinde % 50' lere çıktığını göstermiştir (1).

Dünya nüfusunun 3.5 milyarının erişkin nüfusu (20 yaş üstü) temsil ettiği ve ortalama hipertansiyon prevalansının %20 olduğu kabul edilirse, tüm dünyada yaklaşık 700 milyon insanın hipertansif olduğunu söylemek mümkündür. Ülkemizde ise yaklaşık 15 - 18 milyon insanın hipertansif olduğu tahmin edilmektedir. Hipertansiyonun bu denli yüksek prevalansı yanında dikkat çeken bir diğer sorun, hipertansif bireylerin yalnız yarısının hipertansif olduklarının farkında olmaları ve farkında olanların da yalnız yarısının tedavi aldıkları gerçeğidir (1).

Hipertansiyon çok büyük oranda (%95' in üzerinde) genetik faktörlerin de içinde olduğu insan yapısına ve yaşadığı çevre koşullarına ait birden fazla faktörün bir arada bulunmasıyla oluşur. Küçük bir kısmından ise (%3 - 5) böbrek, damar veya hormon hastalıkları sorumludur (2, 3).

Erişkin yaştaki hipertansiyonluların %90' ında neden tam olarak anlaşılamaz. Bu tip hipertansiyona tıpta esansiyel veya primer hipertansiyon denir. Halk arasında "asabi tansiyon" da denilmektedir. Genellikle hayat boyu devam eden bir durumdur. Hipertansiyon oluşmasında başka bir hastalık veya neden söz konusu ise buna sekonder hipertansiyon denir (2, 4).

Bu çalışmanın amacı; Trakya bölgesinde yaşayan ve Tıp Fakültesi Nefroloji A.D' na başvuran hipertansiyonlu hastalarda genetik faktörlerin hipertansiyonla olan ilişkisini



araştırmak ve hipertansiyona olan katkısını belirlemektir. Bu doğrultuda hücresel arası iletişimde önemli bir yere sahip olan ve birçok agonistin işlevsel yanıtına aracılık eden G proteinlerinin (GTP bağlayan proteinler)  $\beta_3$  altünitesini kodlayan gende meydana gelen C825T polimorfizmini (GN $\beta_3$  C825T) araştırmak ve bu polimorfizmin hipertansiyonla olan ilişkisini kontrol gurubu ile hasta gurubunu karşılaştırarak saptamaktır.

Hipertansiyonlu hastalardaki GN $\beta_3$  C825T polimorfizminin hastalığın ortaya çıkışındaki rolünü belirlemek için planladığımız çalışmanın ;

1. G proteini  $\beta_3$  altünitesini kodlayan gen bölgesinde meydana gelen C825T polimorfizminin hipertansiyon oluşumuna etkisinin bulunup bulunmadığını belirlemek,
2. Hipertansiyonun etiyolojisi bakımından yapılacak araştırmalara katkı sağlayabilmek, yönünden yararlı olacağını düşünmekteyiz.

## GENEL BİLGİLER

### **Hipertansiyon (yüksek tansiyon)**

Yüksek kan basıncı, sürekli yüksek arteriyel kan basıncı ile kendini gösteren sistemik bir hastalık olup, ciddi komplikasyonlara yol açması ve toplumda sık görülmesi nedeniyle önemli bir sağlık problemidir (5). Tansiyon damarlardaki kan basıncı anlamına gelir ve genelde kan basıncını ölçerken iki parametreden söz edilir. Birincisi sistolik kan basıncı halk arasında büyük tansiyon ve ikicisi diastolik kan basıncı halk arasında küçük tansiyondur (3).

Büyük tansiyon 16 santimetre civa (cmHg) ve küçük tansiyon 9,5 cmHg üstünde bulunduğu takdirde hipertansiyon olarak kabul edilir (6).

### **Nedenine Göre Hipertansiyon İki Guruba Ayrılır:**

Hipertansiyon, primer ( birincil, idyopatik, esansiyel ) ve sekonder ( ikincil ) olarak ikiye ayrılır. Primer hipertansiyon, olguların yaklaşık %95'ini oluşturmaktadır. Vakaların %5'lik bölümü sekonder hipertansiyondur ve bunun büyük çoğunluğu böbrek kaynaklıdır (7).

### **Esansiyel hipertansiyon (Primer - nedeni belli olmayan)**

Birincil hipertansiyonun nedeni bilinmemektedir; ancak katkıda bulunan mekanizmalar ve etyoloji hakkında çeşitli görüşler mevcuttur. Arteriyel kan basıncını oluşturan faktörler, kalp debisi ( kardiyak output ) ve sistemik damar direncidir. Yüksek kan basıncından sorumlu mekanizma ne olursa olsun, bu iki faktörden biri ya da her ikisinde artış olmalıdır. Kalp debisini, atım hacmi ile kalp hızının çarpımı belirlerken, sistemik damar direncini, damar çapı, damar duvarının yapısı ve damar düz kaslarının tonüsü gibi faktörler belirler. Atım hacmini ön yük, art yük ve kalbin kasılma gücü etkilerken, damar düz kaslarının tonusunu nörojenik, humoral, miyojenik ve lokal damar faktörleri tayin eder (5).

Kan basıncı Kalp debisi çarpı dirence eşit olduğundan patogenez mekanizmalarının vazokonstriksiyona neden olarak total periferik damar direncinde artışa, kalp debisinde artışa

ya da her ikisine birden yol açması gerekir (8).

$$\text{Kalp Debisi} = \text{Atım hacmi} \times \text{Atım sayısı}$$

$$\text{Kan Basıncı} = \text{Kalp Debisi} \times \text{Direnç}$$

Bazı hipertansiyon vakalarında Na-K pompasındaki bir kusur, inhibisyon ya da Na<sup>+</sup> geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak hücre duvarında anormal Na transportu tarif edilmiştir. Net sonuç hücre içi Na miktarının artmasıdır, bu ise hücreyi sempatik uyarıya daha duyarlı kılar (8).

#### **Sekonder hipertansiyon ( ikincil hipertansiyon )**

Sekonder hipertansiyon, bilinen bir etiyolojiden (nedenden) kaynaklanmaktadır. Örneğin damar sertliği veya böbrek yetmezliği gibi (7). Neden olan hastalık tedavi edildiğinde hipertansiyon düzelebilir (5).

#### **Hipertansiyon Oluşumundaki Faktörler**

##### **Değiştirilemez Faktörler**

**a) Kalıtım:** Ailesinde hipertansiyon hastası bulunan kimselerde hipertansiyon gelişme riski yüksektir. Ancak bu hipertansiyonluların yakınlarında da mutlaka hipertansiyon gelişeceği anlamına gelmez. Ancak bu kişiler yine risk altındadırlar (2,3,4).

**b) Yaş:** Hipertansiyon genellikle 35 ile 50 yaşları arasında ortaya çıkar. Ancak bu hastalık daha genç yaşlarda da gelişebilir (7).

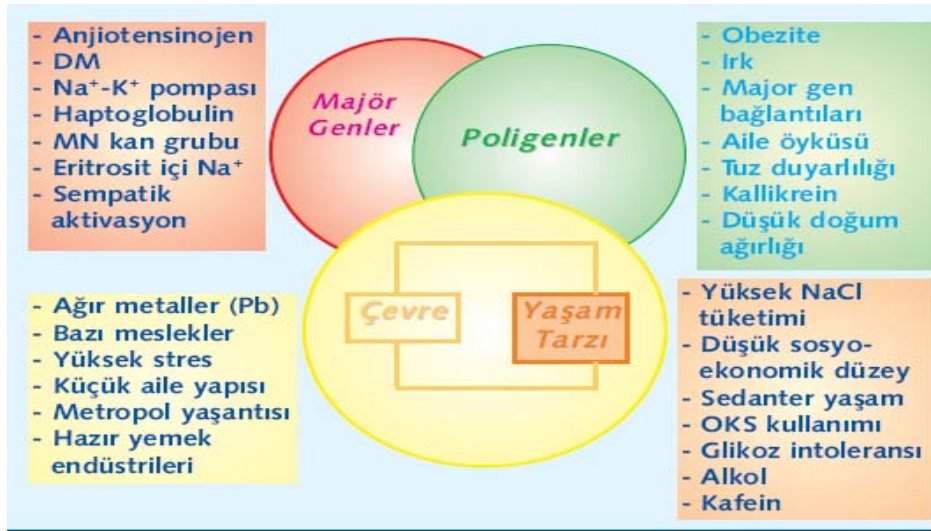
**c) Cinsiyet:** Hipertansiyon 50 yaş altındaki erkeklerde, kadınlara göre daha sık görülür. 50 yaş üstünde ise kadınlarda erkeklere göre sıklığı artar (7).

**d) Şeker Hastalığı:** Şeker hastalarında hipertansiyonun ortaya çıkma riski, şeker hastası olmayanlara göre daha fazladır. Şeker hastalarında hipertansiyonun kontrolü çok daha önemlidir (9).

##### **Değiştirilebilir Faktörler**

**a) Şişmanlık:** Fazla kilolar, kan basıncı üzerinde olumsuz rol oynayarak hipertansiyona zemin hazırlar. Bu yüzden fazla kiloların verilmesi, kan basıncının normal düzeye indirilmesine büyük ölçüde yardımcı olur. Kabaca 1 kilo kaybetmek ile tansiyon 0.2 cmHg düşer. Örnek 100 kilo olan ve normal tansiyonu 18 cmHg civarında olan bir hasta 20 kilo verir ise  $20 \times 0.2 = 4$  cmHg tansiyonu düşer ve  $18 - 4 = 14$  cmHg olur (10).

- b) Sigara:** Sigara, hipertansiyonun damarlar üzerindeki zararlı etkilerini hızlandırır.
- c) Tuz:** Yüksek kan basıncı, tuzlu yiyeceklerle daha da yükselir (11).
- d) Stres:** Aşırı sıkıntılı bir yaşam biçimi, hipertansiyonun ortaya çıkması için zemin hazırlar (12).
- e) Egzersiz:** Düzenli yapılan egzersiz ve spor, kalp ve damar sistemindeki kasları güçlendireceği için hipertansiyonun kontrol altına alınmasını kolaylaştırır (13).
- f) Fazla alkol tüketimi:** Aşırı miktarda alınan alkol, damar sağlığı üzerinde olumsuz etkilerde bulunur.



**Şekil 1. Hipertansiyon etiyopatogenezini oluşturan öğeler (11).**

Hipertansiyon, tüm dünyada ciddi olarak insan ve toplum sağlığını tehdit eden, kalp krizi, felç ve böbrek yetmezliği gibi ölümcül sonuçlara yol açan, tehlikeli ve yaygın bir hastalıktır. Kan basıncı ile kalp damar hastalıkları arasında yakın ilişki vardır. Kan basıncı ne kadar yüksekse kalp krizi, kalp yetmezliği, felç, göz ve böbrek hastalıkları gelişme riski de o kadar yüksektir (9).

Hipertansiyonun oluşturduğu şikayetler siliik, oldukça az veya hiç yoktur. Bu yüzden "sessiz katil" olarak adlandırılır. Hipertansiyonu olanların yalnızca yarısı hastalıklarının farkındadır, farkında olanların ancak yarısı ilaç kullanmakta, ilaç kullananların ise ancak yarısının tansiyonu kontrol altındadır. Türkiye'de her 3 kişiden biri hipertansiyon hastasıdır. Hipertansiyonun yol açtığı birçok ölüm, erken tanı ve tedavi ile önlenabilir. Önemli olan hastalığın çok önemli olduğunu kabul etmek ve yapılması gerekenleri yapmaktır (14).

Tansiyon, kanın damarlar içindeki sahip olduğu basınçtır. Bu basıncın bir üst sınırı (büyük veya sistolik tansiyon), bir de alt sınırı (küçük veya diyastolik tansiyon) vardır. Hipertansiyon ise bu basıncın insan sağlığını tehdit edecek boyutlara çıkmasıdır (6). Normal tansiyon; normalde küçük tansiyon 80 milimetre cıvanın (80mmHg) veya 8 cmHg, büyük

tansiyon ise 120 mmHg (veya 12cmHg) civarındadır. Büyük tansiyonu 140 mm civanın, küçük tansiyonu ise 90 mm civanın üzerinde olan kişiler, hipertansiyonlu olarak nitelendirilir. Büyük tansiyonu 120-139 mm civa arasında, küçük tansiyonu ise 80-89 mm civa arasında olan kişiler ise hipertansiyon adaylarıdır (3,4).

## Hipertansiyon Oluşumundan Sorumlu Genetik Faktörler

### Renin – Anjiyotensin – Aldosteron Sistemi

ACE Gen Polimorfizmi

Anjiyotensinojen M235T Polimorfizmi

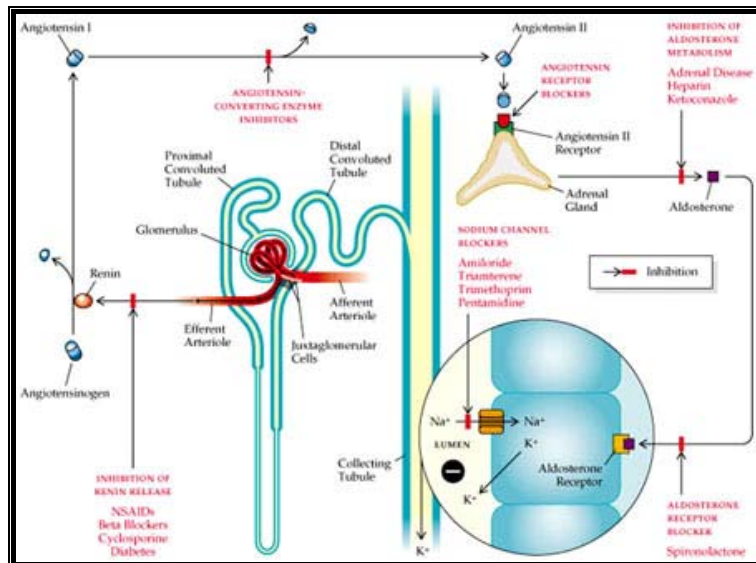
AT1 Reseptör Geninde A1166C Polimorfizmi

Aldosteron Sentetaz -344T Polimorfizmi

MK Reseptör F826Y Polimorfizmi

Jukstaglomerüler aparat hücrelerinin granüllerinde oluşan bir proteolitik enzim olan renin, anjiyotensinojen adlı proteinin bir dekaeptid olan anjiyotensin I' e dönüşmesini katalizler. Bu inaktif ürün öncelikle akciğerlerde, ancak aynı zamanda böbrek ve beyinde de bir dönüştürücü enzim tarafından aldosteron salınımını da uyaran güçlü bir vazokonstriktör olan anjiyotensin II' ye parçalanır (8).

Renin salgısı birbirini dışlamayan en az dört mekanizma tarafından kontrol altında tutulur: Afferent arteriyol duvarındaki basınç değişikliklerine bir renal vasküler reseptör yanıt verir; makula densadaki bir reseptör distal tübülüste NaCl konsantrasyonu ya da taşınma hızındaki değişiklikleri saptar; dolaşımdaki anjiyotensinin renin salgılanması üzerinde negatif geri tepki etkisi vardır ve sempatik sinir sistemi  $\beta$  reseptörleri yoluyla böbrek siniri ile renin salgılanmasını uyarır (8).



Şekil 2. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi.

### **Epitelyal Sodyum Kanalları**

T594M Polimorfizmi

11 $\beta$ -HSD Eksikliği

WNK1-4 Mutasyonu

GN $\beta$ 3 C825T Polimorfizmi

### **Alfa-Adducin**

Gly460Trp Polimorfizmi

### **Kallikrein - Kinin Sistemi**

KLK1 Gen Defekti

Arg53 Mutasyonu

Rs1799722

### **Adrenerjik Reseptörler**

ADRB2 Mutasyonu

### **Dopamin Reseptörleri**

GRK4 Polimorfizmi

### **Diğer**

MTHFR C677T Polimorfizmi

Connexin 40 -44AA/+71GG

### **Normal ve Yüksek Kan Basınçları:**

Sistolik ve diyastolik kan basınçlarının bilinmesi, nabız sayısı ile birlikte, kalp ve kan dolaşım sistemi hakkında önemli bazı bilgiler sağlar. Büyük ve küçük tansiyon değerleri tek tek veya birlikte normalden yüksekse, kalp daha fazla yük altında çalışıyor demektir. Tansiyon değeri sabit bir rakam değildir. Normalin alt ve üst sınırları vardır. Bu sınırlar da kişinin yaşına, cinsiyetine, ırkına ve başka faktörlere göre değişmektedir (7,14). Kan basıncı, günlük hayatımızda sabit olmayıp, dakikalık, saatlik veya günlük değişimler gösterir, örneğin hızlı yürüme, yük taşıma, heyecanlanma gibi durumlarda biraz yükselir, istirahat halinde veya uyurken biraz düşer. Bu oynamalar normaldir (hipertansiyonlu kişilerde de yüksek değerlerde bu oynamalar genellikle vardır). Günlük hayatta sistolik Kan basıncının 90-140 mmHg arasında değişiklik göstermesi, diyastolik basınç normal sınırlarda kalırsa normal bir durumdur (2,4,7). Erişkin yaşta ideal kan basıncı değeri yapılan araştırmalarda belirlenmiştir. Bu değer 120/80 mmHg'dır. Normalin üst sınırı ise sistolik 130mmHg, diyastolik 85 mmHg'dir. Yüksek normal değerler ise sistolik 130-139mmHg veya diyastolik 85-89 mmHg'dir. Erişkinlerde günümüzde kabul edilen kan basıncı sınıflandırması Tablo 1'de gösterilmiştir (4).

**Tablo 1: Kan basıncı sınıflandırılması**

<b>Normal Kan Basıncı</b>	<b>Sistolik (mmHg)</b>	<b>Diastolik (mmHg)</b>
Optimal	≤120 ve	≤80
Normal	≤130 ve	≤85
Yüksek-normal	130-139 veya	85-89
<b>Yüksek Kan Basıncı</b>		
Evre I ( Hafif )	140-159 veya	90-99
Evre II ( Orta )	160-179 veya	100-109
Evre III ( Şiddetli )	≥180 veya	≥110
Yalnız sistolik hipertansiyon	>140	<90

**Hipertansiyonun Hedef Organları:**

**a) Kalp:** Yüksek basınca karşı kanı pompalayan kalbin sol karıncık kasında zaman içinde kalınlaşma ve karıncıkta büyüme meydana gelir. Bu büyüme fazlalaşınca kalp kasında yorgunluk, zayıflık gelişir ve sol kalp yetersizliği diye bilinen tablo ortaya çıkar (6).

**b) Kalbin Atardamarları (Koroner Arterler):** Kalp kasını besleyen koroner arterlerde damar sertliğine bağlı daralma ve tıkanmalar (kalp enfarktüsü) hipertansiyonlu hastalarda daha sık görülür. Bir yaşlanma olayı olan damar sertliği (arterioskleroz) çok nedenli karmaşık bir süreçtir ama hipertansiyon en önemli risk faktörlerinden biridir (6,13).

**c) Aort yırtılması:** Seyrek görülen ama tedavisi acilen yapılmazsa ölümlü sonuçlanabilen, oluşmasında hipertansiyonun rol oynadığı bir hastalıktır (14).

**d) Beyin atardamarları:** Hipertansiyon tedavi edilmediği takdirde beyin arterlerinde tıkanma, kanama ve beyinde kanlanma azlığı ataklarına neden olabilmektedir. Böylece oluşan felçler (inme) hastanın hem sakat ve yatalak kalması, hem de erken ölüm nedenidir (15).

**e) Beyin ödemi:** Tedavi görmeyen ve tansiyonu hızla yükselen hastalarda görülebilen az rastlanan bir tablodur. Acil ama dikkatli tedaviyle düzelir (16).

**f) Bacak atardamarları:** Bu damarlardaki tıkanma ve daralmalar, hipertansiyonlu ve özellikle fazla sigara içen hastalarda sık görülür. Yürürken baldır veya bacak ağrısı oluşur, durunca hemen geçer. Tedavi edilmezse ayakta kangren oluşabilir (17).

**g) Böbrek:** Tedavi görmeyen esansiyel hipertansiyonlu hastalarda, böbrek damarlarında tahribat olmakta ve böbreklerde çalışma bozukluğu zaman içinde yerleşmekte ve ilerlemektedir. Böylece hipertansiyonlu hastaların bir kısmında “üremi” hastalığı gelişebilir (18).

**h) Göz:** Hipertansiyon gözün iç tabakasındaki ince damarları etkileyerek kanamalara ve bazen körlüğe kadar giden görme bozukluklarına yol açabilir (6).

Hipertansif hastalarda genetik etmenler temelde iki grup olarak incelenmektedir. Bunlar monogenik ya da poligenik formlardır. Monogenik formlar daha ender izlenirken

temelde sorun kan basıncını düzenleyen sistemlerin genlerindeki nokta mutasyonla oluşan genotip değişiklikleridir. Çok daha sık olduğu düşünülen poligenik formda ise oldukça heterojen birçok sorun gurubu aynı hastada bulunabilir (11).

### **Poligenik Hipertansiyon**

Poligenik Hipertansiyon özellikleri sıralanacak olursa; tuza duyarlı hipertansiyon, idrarda artmış kortizol, eritrosit membranından iyon geçiş bozuklukları, idrar kallikrein atılım defektleri, baroreflaks duyarlılığı, sempatik sinir sistemi aşırı aktivasyonu, renin-anjiyotensin sistemi bozuklukları gibi birçok değişik sorun izlenmektedir (6). Özellikle tuza duyarlı hipertansiyon konusunda ciddi araştırmalar yürütülmektedir (2). İlk olarak ABD'de yaşayan Afrika kökenli göçmenlerin kan basınçlarının Afrika'dakilere göre yüksek saptanması ile gündeme gelmiş ve arkasından aslında tüm ırklarda görülebilen bir durum olduğu anlaşılmıştır (19). Afrika'da yaşayanlara karşı ABD' deki Afrika kökenli göçmenler daha fazla kalori alıp (insülin duyarlılığı ve glikoz intoleransı), tuz tüketirler ve daha az fiziksel aktivite gösterip belirgin ölçüde obezdirler. Çekici bir teoriye göre, bu Afrika kökenli göçmenlerin ataları, Amerika'nın kolonileştirildiği kölelik devrinde, ani bir yapay seleksiyona, uğramışlardır (17). Afrika'dan Amerika'ya aylarca süren gemi yolculuğu sırasında binlercesi ölen bu insanlardan, böbreklerinde su ve tuz tutma yeteneği daha gelişmiş olanların yaşamda kalma şansı daha fazla olmuştur. Ayrıca genotipleri düşük tuz ve kalori alımına uyum sağlayan Afrika kökenli göçmenlerin çevresel koşullarının değişmesi, fizyolojik sistemlerince desteklenmemiştir. Normalde yüksek NaCl (>110 mmol/gün ya da 6 gr/gün) alımına fizyolojik yanıt renal kan akımının hızlanması sonucunda glomerül filtrasyon hızının artışıdır (2,11). Tuza duyarlı bireylerde ise tuz alımı ile renal kan akımı azalırken intraglomerüler basınç düşer. Bu bireylerde renal fonksiyon (basınç-natriürez) eğrisi tuza dirençli olanlardan daha düşüktür (20). Sonuçta tuza duyarlı bireylerde idrara tuz geçişi çok daha yavaş olmakta ve vücut tuzu tutmaya eğilim göstermektedir. Tuza duyarlı olan hastalarda diğerlerine göre daha ciddi kardiyovasküler ve renal prognoz izlenmektedir (21). Düşük Doğum Ağırlığı: İlk kez 20 yıl kadar önce düşük doğum ağırlığına sahip çocukların erişkin yaşlarda hipertansiyon geliştirmeye eğilimli oldukları öne sürülmüştür (22,23). Ayrıca bu bireylerin ileride diabetes mellitus (DM), hiperlipidemi ve visseral obeziteye sahip olma riskinin normal bireylere göre daha yüksek seyrettiği rapor edilmiştir. Çelişkili sonuçlar alınsa da, yapılan çalışmalarda her 1 kg eksik doğum tartısının ileride 2,24 mmHg sistolik kan basıncında artışla sonuçlandığı gösterilmiştir (2,9). Bu konu ile ilgili temel görüş, bu bireylerdeki nefron sayısının normalin altında olduğu ve böbrek süzme alanının azalmasıyla hipertansiyonun oluştuğu yönündedir (24).



## Monogenik Hipertansiyon

Monogenik esansiyel hipertansiyon nedenleri ile ilgili olarak bulunan mutasyonlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Önemli olanları ise glukokortikoid yanıtı aldosteronizm, Adducin gen defektleri, AME sendromu, Liddle hastalığı, GYS-1 mutasyonu olarak sıralanabilir (25).

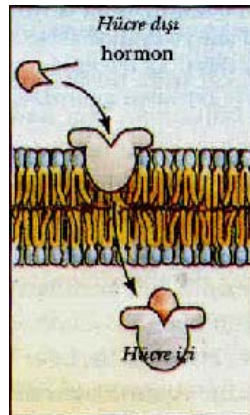
**Tablo 2: Esansiyel hipertansiyon etiolojisinde suçlanan genetik bozukluklar (19).**

Genetik mutasyon	Mekanizma	Kaynak
Glukokortikoid Resöptörleri	Artan Glukokortikoidler	Watt ve ark., 1992
Anjiyotensinojen Gen Polimorfizmi	Artan Anjiyotensinojen	Jeunomaitre ve ark., 1992
SA Geni	Bilinmiyor	Iwai ve ark.,1994
Lipoprotein Lipaz	İnsülin Rezistansı	Wu ve Ark.,1996
Kalıtımsal Hiperaldosteronizm	Artan Mineralokortikoid Etki	Lifton ve ark 1992
Doğumsal Adrenal Sendrom	Artan Mineralokortikoid Etki	Mune ve ark.,1995
Liddle Sendromu	Hipopotasemi	Shimkets ve ark.,1994
Gitelman Sendromu	Hipopotasemi	Simon ve ark.,1996
Polikistik Böbrek Hastalığı	Böbrek Kistleri	Reeders ve ark.,1986

## Hücreler Arasındaki İletişim

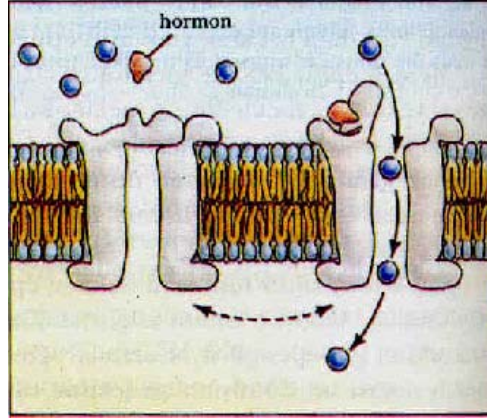
Çok hücreli organizmaların hücreleri arasındaki iletişim kimyasal haberciler aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Bu haberciler farklı dokuların metabolik etkinliklerini düzenlemekte, organizmanın çevresel değişimlere uyum sağlamasına yardımcı olmakta ve organizmayı üreme sürecine hazırlamaktadırlar. Tüm kimyasal haberciler, habercinin varlığını saptayan ve reseptör adı verilen proteinler aracılığıyla işlev görürler. Kimyasal habercilerin özgün reseptörlere bağlanmasıyla bir dizi kimyasal tepkime sonucu hücre içi yanıt oluşur (26). Hormonlar hedef hücrelerini çeşitli yollarla etkilerler. Az sayıda hormon hücre içine özel kanallar yoluyla girer. Bazıları da aktif olarak hücre içine taşınırlar. Son olarakta birçok hormon hücreye hiç girmeyip bunun yerine hücre dışı reseptörlere bağlanır. Hücre dışı bağlanma bir hücre içi etki yaratır. Bu etki, ya zarda bir iyon kanalının açılmasıyla ya da hücre içinde bir enzimi ya da ikinci haberciyi aktive ederek olur (27).

**Bir tip hormon**, bir zar reseptörüne bağlanıp sitoplazmaya bu reseptöre bağlı olarak girer (Şekil 3). Bu tip hormon hücre içine girdikten sonra mesajını doğrudan ya da dolaylı olarak bir özgül kimyasal reaksiyon aracılığı ile iletir (27).



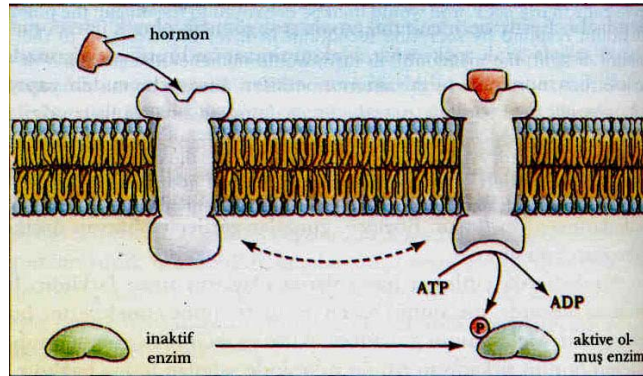
**Şekil 3. Bir hormonun bir zar reseptörüne bağlanıp sitoplazmaya girmesi (27).**

**Bir başka tip hormonun mesaj iletme yolu,** ikinci bir maddenin hedef hücreye girişini kolaylaştırmaktır (Şekil 4). Bu madde bazen, sinir hücrelerinin çoğunun iletişim yolu olan kimyasal kanallı kapılarda olduğu gibi, bir iyondur (27).



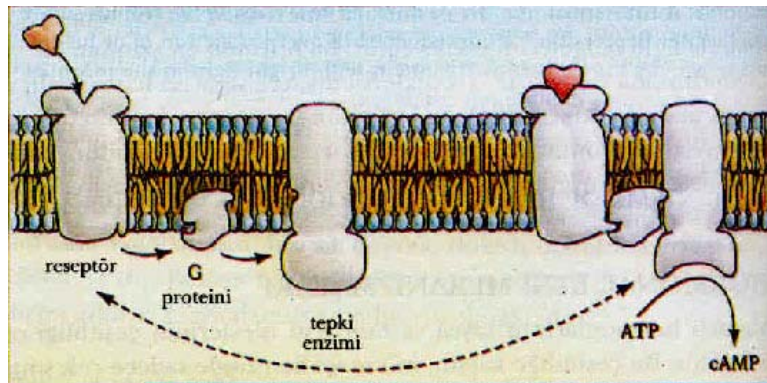
**Şekil 4. Bir hormonun ikinci bir maddenin hücreye girişini kolaylaştırması (27).**

**Alternatif bir yol olarak,** bir hormon zar proteinine bağlanıp bunu aktive edebilir. Bu da, zarın iç tarafında bir diğer maddenin oluşmasına ya da aktive olmasına yol açar (Şekil 5). İnsülin bağlandığında olduğu gibi, bir hücre içi enzim aktive edilebilir (genellikle fosforilasyon yoluyla) (27),



**Şekil 5. Bir hormonun zar proteinine bağlanarak onu aktive etmesi (27).**

ya da bir tepki proteininin aktivasyonu ile bir hücre içi haberci meydana gelebilir (Şekil 6). Genellikle bir aracı molekül ( **G proteini** ) yoluyla (27).

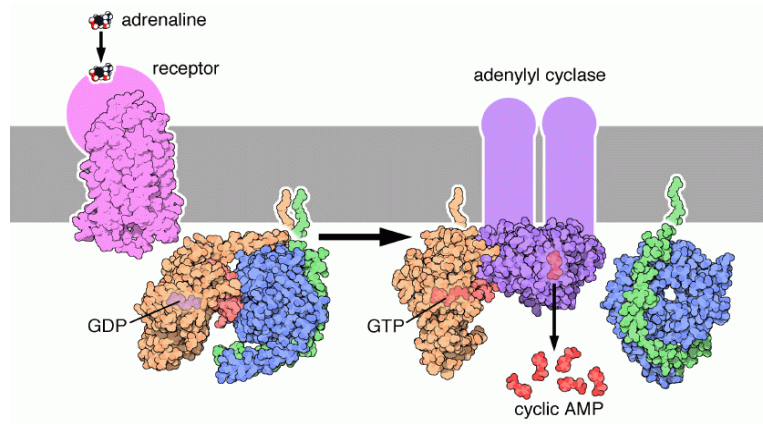


**Şekil 6. G proteini aracılı sinyal iletimi (27).**

## Sinyal İletim Mekanizmasında Birincil ve İkincil Haberciler

Hücre membranının dış yüzeyinde bulunan reseptörün hormonla etkileşimi sonucu ikincil ulak (second messenger) adı verilen bir aracı molekül etkinleşir. Hormonun kendisi ise birincil ulaktır. Siklik AMP (cAMP) ve fosfatidil inositol difosfat (PIP2) en yaygın iki ikincil ulaktır (26).

**Siklik AMP (cAMP)**, canlı hücrelerde ATP' den **adenil siklaz** adı verilen ve hücre zarının içinde yerleşmiş olan bir enzimin katalizlediği bir reaksiyonla sentezlenir (27).



Şekil 7. G proteini aracılı sinyali iletimi yoluyla cAMP oluşumu (64).

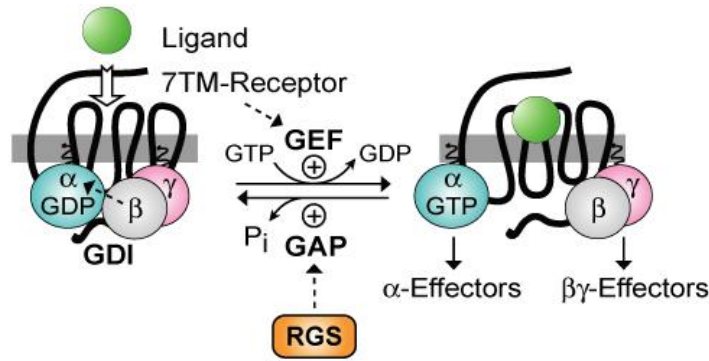
İlk hücre dışı sinyal ( **hormon ya da birinci haberci** ), hücrenin kimyasal düzeneğinin daha kolay anlayabileceği bir hücre içi sinyale ( **cAMP ya da ikinci haberci** ) dönüştürülür. Bir sinyal iletim proteini, üç alt birimli bir guanin bağlayıcı protein ( **G proteini** ) bu zincirde yer alır (27).

### G proteinleri

Birçok nörotransmitter hücre içi etkilerini G proteinlerine bağlantılı reseptörler aracılığıyla gösterirler. Bütün G proteini bağlantılı reseptörler hücre zarını 7 kez geçen tek bir proteinden oluşurlar. Reseptöre nörotransmitter bağlanması üç protein alt birimi olan G proteinini etkinleştirir. G proteinleri guanozindifosfat (GDP) ve guanozintrifosfat (GTP) ile çalışmaları için bu ad verilmiştir. Uyarılmamış koşulda reseptörden ayrıdır ve GDP ile bağlanmıştır. G proteinleri ikinci haberci sentezleyen bir enzimi etkinleştirerek hücre içi biyokimyasal basamakları başlatır veya doğrudan iyon kanallarının etkinliğini de düzenleyebilirler. G proteinleri hücre zarının bir parçası değildir. Zarın iç yüzüyle ilişkidirler. Alfa, beta ve gama adı verilen 3 protein alt biriminden oluşurlar. Alfa alt birimi reseptör ve etkinleştirilecek enzim bağlantısını kurar. Beta ve gama proteinleri doğrudan iyon kanallarını etkilerler. G proteinleri işlevi ve yapısı farklı alfa alt birim proteinlerine göre adlandırılırlar. Adenilil siklaz enzimini etkinleştirerek siklik AMP (cAMP) miktarını arttıran alfa alt ünitesini içeren G proteini Gs adını alır. Reseptöre nörotransmitter bağlanmasıyla

reseptörün uzaysal konumu değişir ve Gs proteini ile kenetlenir. G proteini üzerinde bağlı bulunan GDP yerini GTP'ye bırakır ve alfa alt birimi beta ve gama birimlerinden ayrılır. Serbest kalan alfa alt birimi adenilil siklazla bağlanarak onu etkinleştirir, böylece siklik AMP yapımı artar. Alfa alt birimi adenilil siklazı etkinleştirirken bağlı bulunan GTP GDP'ye dönüşür bunun sonucu alfa ile adenilil siklaz ayrılır ve alfa beta gama alt birimleri tekrar bir araya gelerek etkinlik sonlandırılır. Adenilil siklazı inhibe eden G proteinine Gi, fosfolipaz C enzimini etkinleştirene Gq adı verilmiştir. Fosfolipaz C hücre zarının iç yüzündeki fosfolipitleri hidrolize eder (28).

Sinyal iletiminde rol alan bütün GTP-bağlayan proteinler GTP bağlar ve hidrolizler. Bu özellik proteinin çok sayıdaki farklı hücresel süreçte moleküler bir anahtar olarak işlev görmesi açısından çok önemlidir. GTP-bağlayan proteinler, ligandın fosfat potansiyeline bağlı olarak iki form arasında gidip gelirler (26). GTP-bağlı form aktif yapıdır. Bu formda protein hedef molekülü tanıyıp onunla etkileşime girer. Bağlı GTP' nin GDP ve inorganik fosfata hidrolizlenmesiyle, yapı GDP-bağlı forma yani inaktif forma kayar. GDP-bağlı formun GTP-bağlı forma dönüşümü ise dışarıdaki bir GTP' nin bağlı GDP ile yer değiştirmesi sonucu gerçekleşir. Bu basamak dışarıdaki enerjinin sisteme GTP formuyla girdiği basamaktır (26).



Şekil 8. G proteinin aktif form ve inaktif formlardaki durumu (65).

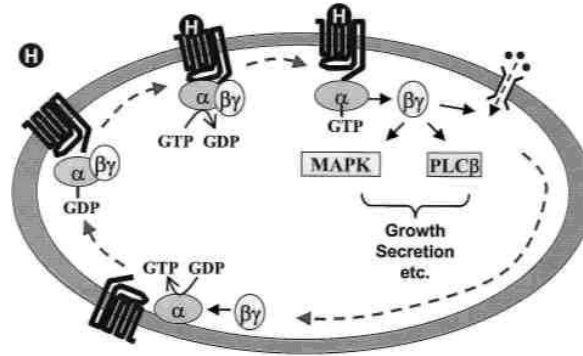
### G Proteinlerinin Yapısı

Çok sayıda hormonal ve duysal sinyal iletiminde görev alan heterotrimerik G proteinleri hücre yüzey reseptörleri ile etkileşerek, hücre içinde farklı fizyolojik yanıtların oluşmasına katkıda bulunurlar ve üç altbirimden oluşurlar:  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ .  $\alpha$ -altbirimi GTP bağlama özelliğine sahiptir ve ayırıcı özellikteki 4 ailede toplanan en az 16 izoform içerirler. (29,30).  $\beta$  ve  $\gamma$  altbirimleri birbirlerine sıkıca bağlıdırlar ve ancak çok güçlü denatürantlarla işlem görürlerse ayrılırlar (26). Her G proteininde  $\beta\gamma$  kompleksi bulunmasına rağmen, G proteinleri  $\alpha$ -altbirimlerine göre sınıflandırılır (30).

$\alpha$ -altbirimi guanin nükleotitlerinin (GDP veya GTP) bağlandığı yüksek hassasiyetli tek bir bağlanma bölgesine sahiptir.  $\alpha$ -altbiriminin GDP bağlı formu  $\beta\gamma$  kompleksine sıkıca

bağlıdır ve etkinleşmemiş formdadır. Buna karşın,  $\alpha$ -altbiriminin GTP-bağlı formu  $\beta\gamma$  kompleksinden ayrılır (26), membran iç yüzeyinde difüzenerek efektör protein ile etkileşime girer ve hücresel yanıtı oluşturacak olan zincirleme tepkimeyi başlatır (31). Gittikçe artan sayıdaki kanıt,  $\alpha$ -altbirimi gibi  $\beta\gamma$  kompleksinin de bazı efektör moleküllerle etkileşime girebildiğini (32,33) ve bu moleküllerin etkinliğini değiştirebildiğini göstermektedir (34,35).

G proteinleri GDP-bağlı dinlenme durumundayken heterotrimerik ( $\alpha\beta\gamma$ ) yapıdadır ve reseptör ya da efektörle etkileşim halinde değildir. Ligandın reseptöre bağlanması ile reseptörde yapısal bir değişim gerçekleşir ve GDP-bağlı heterotrimerik formdaki G proteinine bağlanması için yüksek hassasiyete sahip reseptör bölgesi açığa çıkar (26,31). G proteini ile ligand tarafından uyarılmış reseptör arasındaki etkileşimin çok sayıda bölge üzerinden olduğu (26,36) ve G proteinin reseptör tarafından uyarılması ile  $G_{\alpha}$ ' da GDP' nin GTP ile yer değiştirdiği düşünülmektedir. GTP' nin bağlanması ile,  $\alpha$ -altbiriminin reseptöre ve  $\beta\gamma$  kompleksine ilgisi azalır,  $G_{\alpha}$ .GTP  $\beta\gamma$ -altbiriminden ayrılarak etkinleşir ve bir efektör molekülü ile etkileşime girer.  $\beta\gamma$ -altbirimi de bazı efektörleri düzenleyebilir. Doğal GTPaz aktivitesi GTP' yi GDP' ye hidrolizler ve G proteinini aktif olmayan dinlenme durumuna döndürür ( $G_{\alpha}$ .GDP).  $\alpha$ -altbirimi efektörden ayrılarak,  $\beta\gamma$ -altbirimi ile biraraya gelir (30,31).



Şekil 9. G proteininin uyarılması ile  $\alpha$  ve  $\beta\gamma$  altünitelerinin birbirlerinden ayrılması (51).

### GTP-Bağlayan Proteinler Süperalesinin Üyeleri

G proteinleri GTP-bağlayan proteinler süperalesinin bir üyesidir. GTP-bağlayan proteinler süperalesi şu üyelerden oluşmaktadır:

a) protein sentez faktörleri, b) membran-geçişli sinyal süreçlerinde yer alan heterotrimerik GTP-bağlayan proteinler ( kısaca G proteini), c) protoonkogenik ras proteinleri (Ras proteinleri), d) rab, rap, rho, rac, smg21, smg25, YPT, SEC4, ARF genlerinin ürünleri olan düşük molekül ağırlıklı GTP-bağlayan proteinler ( kısaca "küçük Gs"), ve e) tübülünler (26).

### G protein altünite gen ailesi

Hücre membranlarındaki reseptörler nörotransmitterler, hormonlar ve ışık gibi sinyallerin bir çoğunu anlar. Bu tür reseptörlerin çoğu sinyalleri efektörlere transfer eden G



proteinleriyle birleşirler. G proteinleri bir  $\alpha$ , bir  $\beta$  ve bir  $\gamma$  altünitesinden oluşan heteromerlerdir.  $\alpha$  altünitesi 16 gen,  $\beta$  alt ünitesi 5 gen,  $\gamma$  alt ünitesi 12 gen tarafından kodlanır. G proteinlerinin ilk keşfinden sonra çalışmalar daha çok  $\alpha$  altünitesi üzerinde odaklanmıştır.

### **G protein altünitesi fonksiyonu**

$\alpha$  altünitesi bir GTPaz dır. Reseptör G proteini uyarıldığı zaman  $\alpha$  altünitesi GDP' yi serbest bırakır ve GTP' yi bağlar. Aktive edilmiş bu durumda birçok  $\alpha$  altünitesi tipi aktivitelerini modüle etmek için doğrudan efektör moleküller üzerinde hareket eder.  $\alpha$  altüniteleri büyüklükleri 39 – 52 kDa arasındadır (37).

$\beta$  altbirimi  $\gamma$  altbirimine sıkıca bağlıdır ve sadece kompleks olarak fonksiyonu olduğu bilinir.  $\beta\gamma$  kompleksi bir çok efektörü modüle eder. Efektörlerin bir çeşidi  $\beta$  altünitesini bağlar ve bu yüzden doğrudan efektör aktivitesinin modülasyonunun içinde yer alır. Şu ana kadar beş  $\beta$  alttipi tanımlanmıştır ve yaklaşık olarak hepsi 36 kDa büyüklüğündedir (37).

### **G Proteini $\alpha$ -Altbiriminin Yapısı:**

Tüm  $\alpha$ -altbirimleri kendi başlarına birer enzimidirler. Bu proteinler içsel GTPaz etkinliğine sahiptirler ve bağlı GTP' nin terminal fosfatını hidrolizleyerek bağlı GDP ve serbest inorganik fosfatın (Pi) oluşmasını sağlarlar. Günümüze değin 20 farklı G protein  $\alpha$ -altbirimi tanımlanmıştır (38).  $\alpha$ -altbirimleri 39-52 kDa molekül ağırlığında bir protein ailesidir. Aminoasit dizilişi olarak aralarında % 45-80 oranında benzerlik vardır. Birincil yapılarının farklılığı yanında translasyon sonrası değişimleri de farklıdır (31).

Son yıllarda G proteinlerinin yapı-işlev bağlantısını açıklamaya yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.  $G_{\alpha}$ - $G_{\beta\gamma}$  etkileşimi ve GTP- hidrolizini belirleyen etmenler gibi birçok soruya yanıt aranmıştır. Bu çalışmalar  $\alpha$ -altbiriminin GTPaz bölgesi (domain) ve  $\alpha$ -heliks bölgesi olmak üzere iki bölgeden oluştuğu ortaya koymuştur (39,40). GTPaz bölgesi, GTPaz ailesine üye tüm proteinlerde ortaktır ve altı uzun  $\beta$ -şeridi çevreleyen beş  $\alpha$ -heliks' ten oluşmuştur. Heterotrimerik G proteinlerine özgün  $\alpha$ -heliks bölgesi ise tümüyle  $\alpha$ -heliks yapıdadır. GTPaz bölgesi, reseptör, efektör ve  $\beta\gamma$  -altbirimleri bağlama bölgesi içerir.  $\alpha$ -heliks bölgesinin işlevi ise henüz açıklığa kavuşmamıştır (26,41,42).

### **G Proteinlerinin $\alpha$ -Altbirimlerinin çeşitleri:**

$\alpha$ -altbirimlerine göre G proteinleri  $G_{\alpha_s}$ ,  $G_{\alpha_{i/o}}$ ,  $G_{\alpha_q}$  ve  $G_{\alpha_{12}}$  olmak üzere dört aileye ayrılır.

$G_s$  (stimülatör-uyarıcı) proteini adenilat siklaz etkinliğini artırarak görev yapar. Adenilat siklaz etkinliğinin artmasıyla cAMP sentezi artar ve cAMP ikincil ulak olarak hücre içi yanıtı başlatır. Hücre içi yanıtın sonlanması için GTP' nin hidrolizlenerek GDP' ye

dönüşmesi ve dolayısıyla G proteinin etkinliğinin ortadan kalkması gerekir, fakat bazı patolojik durumlarda bu mekanizma aksayabilir (26).

$G_i$  (inhibitor) proteini adenilat siklaz aktivitesini baskılayarak cAMP seviyesini düşürür (26).

$G_q$  proteini fosfolipaz C enzimini etkinleştirir. Bu enzim ise fosfatidil inositol difosfatı (PIP2) parçalayarak inositol trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol' ün (DAG) oluşmasını sağlar. Diaçilgliserol protein kinazları uyarırken, inositol trifosfat ise iyon kanallarını etkinleştirir. Bu gruba dahil olan  $G_{16}$  proteini hemopoiyetik hücrelerin sadece belli bir alt grubunda bulunmasına rağmen işlevsel olarak farklı birçok reseptör tarafından etkinleştirilebilmektedir (26).

$G_{12}$  hakkında ise henüz pek fazla birşey bilinmemektedir (38).

$G_\alpha'$  nın reseptörlerle etkileşiminin ikisi amino ucunda diğeri de büyük olasılıkla karboksil ucunda olmak üzere üç bölgede gerçekleştiği ileri sürülmektedir. Reseptörün etkinleşmesi sonucu  $\beta\gamma$  kompleksinden ayrılan  $\alpha$ -altbiriminin birçok ikincil ulak enzimi ve iyon kanalı ile etkileşime girdiği ve onları düzenlediği bilinmektedir.

$\alpha$ -altbiriminin amino ucunun  $\beta\gamma$ -altbirimi ile etkileşime giren bölge olduğu düşünülmektedir (43).  $\alpha$ -altbiriminin amino ucundan 2 kDa' luk bir parçanın tripsinle uzaklaştırılmasından sonra  $\alpha$ -altbiriminin  $\beta\gamma$ -altbirimi ile birleşme özelliği yok olmaktadır. Özellikle 7-10. aminoasitlerin birleşme için önemli olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, 50-60. kalıntılar civarındaki bir bölgenin de etkileşimler açısından önemli olduğunu düşündürmektedir (31,32,44).

### **$\beta\gamma$ -Altbiriminin Yapısı:**

$\beta\gamma$ -altbirimi sadece denatürasyon koşullarında ayrılabilen birbirine sıkıca bağlı bir dimer komplekstir (26). Aralarında % 50-90 oranında benzerlik bulunan 6  $\beta$ -altbirimi ve birbirinden farklı 12  $\gamma$ -altbirimi bulunmaktadır.  $\beta$ -altbirimi yaklaşık 36 kDa molekül ağırlığına sahip olup birbirinden tamamen farklı iki ayrı bölümden oluşmaktadır: N-ucu yaklaşık 20 aminoasit içeren amfipatik  $\alpha$  heliks yapısındadır, karboksil ucu ise yedi kez tekrar eden bir motiften oluşan pervane şeklindeki bir bölgedir (26). Tekrar eden bu 43 aminoasitlik birimlere WD ( triptofan, aspartik asit ) tekrarı adı verilir. WD tekrarı pek çok farklı hücrel süreçte rol alan proteinlerde rastlanan bir motiftir.

$\gamma$ -altbirimi herbiri 6-9 kDa ağırlığında olan daha küçük proteinlerden oluşan bir gruptur.  $\gamma$ -altbirimleri,  $\beta$ -altbirimlerine göre daha heterojendir; dizi benzerlikleri %27 ile %75 arasında değişir. Ayrıca, bu proteinlerin tümü translasyon sonrası değişimlere uğramakta ve böylelikle  $\gamma$ -altbirimi ailesine daha fazla çeşitlilik katmaktadır. Farklı  $\beta\gamma$ -

altbirimlerindeki işlevsel farklılığın  $\gamma$ -altbirimleri tarafından belirlendiği düşünülmektedir (38,45).  $\beta\gamma$ -altbirimi kovalent olmayan mekanizmalarla etkileşimlere girmektedir. Bu etkileşimlerin belirli  $\beta$ -altbirimlerinin belirli  $\gamma$ -altbirimleri ile etkileşime girmesi açısından özgünlüğü vardır. Bunun da hücre sinyallerinin düzenlenmesinin başka bir düzeyi olduğu düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu  $\gamma$ -altbiriminin Cys36 ve Cys37' i içeren 14 aminoasitlik bir bölgesinin  $\beta$ -altbirimi ile etkileşimde seçiciliği sağlamak için yeterli olduğu bulunmuştur (31). Ayrıca bu merkezi bölgenin  $\beta$ -altbirimi bağlama bölgesinin de bir parçası olduğu sanılmaktadır.  $\gamma$ -altbiriminin son 119 aminoasidi altbirimlerin birleşmesi açısından gereklidir.  $\beta\gamma$ -altbiriminin girdiği etkileşimler hakkında  $\alpha$ -altbirimine göre pek fazla birşey bilinmemektedir.  $\gamma$ -altbirimi çapraz bağlantı temelinde  $\alpha$ -altbirimi ile etkileşime girmektedir. Yapısal konum olarak birbirine çok yakın olmalarına rağmen  $\gamma$ -altbirimi olmaksızın  $\alpha$  ve  $\beta$ -altbirimleri birbirleri ile etkileşime girememektedir.  $\alpha\gamma$  dimeri fonksiyonel olarak aktif değildir, çünkü  $\beta$  ve  $\gamma$ -altbirimleri tek başlarına  $\alpha$ -altbirimi ile işlevsel bir etkileşime girememektedir (26).

Son yıllara kadar sadece  $\alpha$ -altbiriminin ikincil ulak efektör sistemini düzenlediği sanılıyordu. Fakat bugün bilinmektedir ki  $\beta\gamma$ -altbirimleri gerek tek başlarına gerekse aktif  $\alpha$ -altbirimi ile birlikte birçok ikincil ulak sisteminin düzenlenmesinde önemli rol almakta ve ilgili reseptörüyle fiziksel etkileşime girebilmektedir (31).  $\beta\gamma$ -altbirimlerinin G-proteini bağlı reseptör kinazlar yoluyla reseptörlerin duyarsızlaşmasında da görev aldığı gösterilmiştir (46).

### **G Proteinlerinin hastalıklarla ilişkisi**

Sinyal iletim yollarında oldukça kritik bir konuma sahip olmaları nedeniyle, G proteinlerinin yapı ve işlevlerindeki bozukluklar önemli hastalıklara neden olmaktadır (47,48). G proteini, efektör ve reseptör, hücre dışı sinyallerle tetiklenen bir dizi açma-kapama düğmesi olarak düşünülebilir.  $\alpha$ -altbiriminin GTPaz etkinliği ve duyarsızlaşma işlemi bu açma-kapama düğmelerinin çalışma sürelerini ayarlar. Sinyal yolunun herhangi bir bileşenindeki değişimin düğmenin açılmasını önlemesi sonucu hedef organda sinyale karşı direnç oluşur. Benzer şekilde, düğmenin gerekmediği halde açılmasına veya uzun süre açık kalmasına neden olan değişiklikler birincil haberciden bağımsız olarak aşırı işleve neden olur. (49).

GTP bağlayıcı proteinler (G proteinleri) birçok agonistin işlevsel yanıtına aracılık eder. Bu nedenle, bu proteinleri kodlayan genin içindeki varyasyonlar kardiyovasküler hastalıklar için önemlidir (50).

### **Polimorfizm**

Kalıtsal olarak belirlenen bir özelliğin iki ya da daha fazla farklı form ya da biçiminin oluşmasıdır. Bunun sonucunda birbirinden farklı birkaç fenotip aynı anda ortaya çıkar (27).



Bir DNA veya RNA dizini içerisindeki bir gen tarafından kodlanan karakter için alel sayısı arttıkça o gen için polimorfizm artar.

### Yeni Alellerin Oluşumu

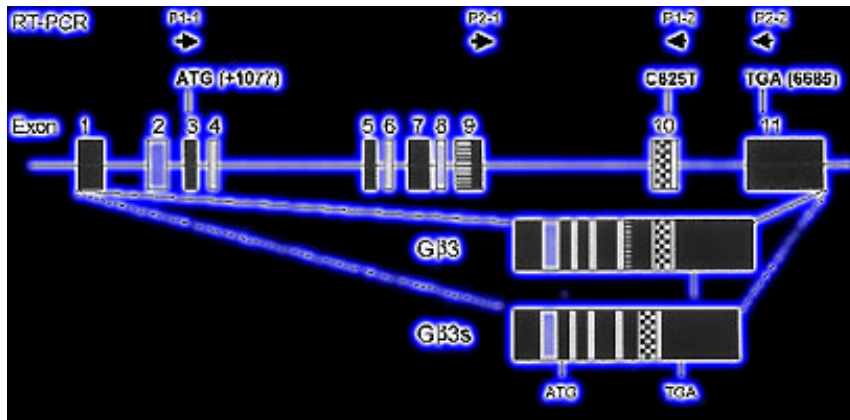
Yeni genler, yeni aleller ve yeni morfolojik yapılar, genellikle daha önce var olanlardan kalıtsal mekanizmalarla ortaya çıkar (27).

- Baz yitirilmesi ( delesyon ),
- Bazların yer değiştirmesi ( substitisyon ),
- Bir ya da birkaç bazın eklenmesi ( insersiyon ),

Bu seviyedeki değişimlerin iki yararlı etkisinin olabileceğini gösterir. **Birincisi**, diploitliğin oluşturduğu hassas koruma ile ara kademelerde negatif seçilimden korunan, daha önceden var olan bir genin bir alelini daha iyi bir niteliğe dönüştürebilir. **İkincisi**, eğer nokta mutasyonlar kontrol bölgelerinde oluşursa, bu mutasyonlar kromozomun hangi kolu üzerinde bulunuyorsa o kol üzerinde bulunan bir ya da bir grup alelin özgülüğünü, zamanlamasını ve genin aktivitesinin derecesini tam olarak değiştirebilir (27).

### G Proteini $\beta 3$ Altünitesi C825T Polimorfizmi

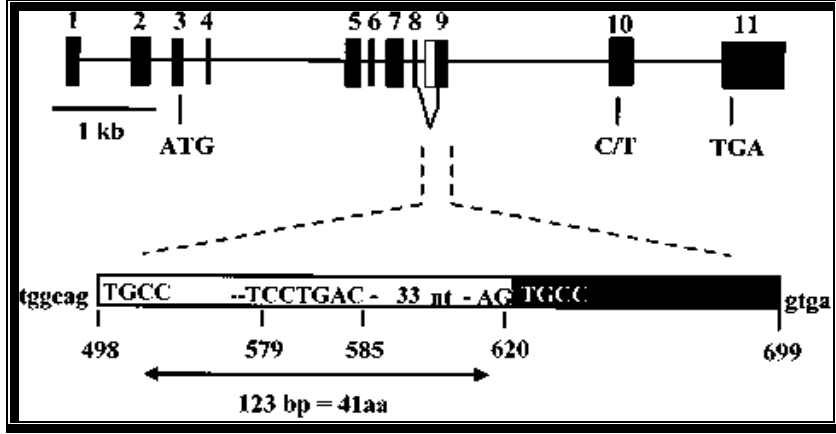
GN $\beta 3$  geni kromozomun 12p13 bölgesinde lokalize olmuştur. Gen 11 ekzondan oluşur. Üçüncü ekzondaki ATG kodonu ile başlar ve onbirinci ekzondaki TGA kodonu ile sonlanır (51). Son zamanlarda heterotrimerik G proteininin  $\beta 3$  altünitesini kodlayan cDNA'nın onuncu ekzonunda 825. pozisyonunda C $\rightarrow$ T polimorfizmi tanımlanmıştır (50,52). T aleli dokuzuncu ekzonda 498 ile 620'nci nükleotidler arasından 123 nükleotidi silinmiş olan G $\beta 3$ 'ün ek varyantı (G $\beta 3$ -s) ile ilişkilidir (52,53). Bu 123 bazlık (41 aminoasit) delesyon trimerik G proteinlerinin 3 boyutlu yapısının değişmesine neden olur (52).



Şekil 10. G proteini  $\beta 3$  altünitesini kodlayan gen bölgesi (66).

Dokuzuncu ekzonda meydana gelen bu delesyon 41 amino asidin kaybolmasına ve tekrarlanan Triptofan - Aspartik asit (WD) ile biten bir alanın korunmasına neden olur. WD proteinleri tüm ökaryotlarda bulunurken prokaryotlar ve düzenleyici fonksiyonu bulunan

hücrelerde bulunmaz (52,53). 825T aleli taşıyanlarda Gβ3' ten farklı olarak 41 amino asidin silinmesiyle oluşan kısalmış Gβ3-s varyantı gözlenir. Gβ3 ve Gβ3-s' in potansiyel yapıları belirgin biçimde farklılık gösterir (51). Bu Gβ3-s varyantı G proteinlerine bir aktivasyon artışı sağlar (52,53).



Şekil 11. GNβ3 9. Ekzonundan 123 bp bir bölgenin delesyonu (46).

Bir çok çalışmada cDNA dizisinde 825. pozisyona 825C aleli yerine 825T aleli geldiğinde G proteinlerinde bir aktivasyon artışı olduğu rapor edilmiştir (51).

G proteini β3 alt ünitesini kodlayan gende meydana gelen C825T dimorfizmi arttırılmış Na<sup>+</sup> - H<sup>+</sup> değiştiricisi (NHE) aktivitesi ile karakterize edilir. G proteinlerindeki bu aktivasyon artışının obezite, tuz tutulumu, düşük plazma renin aktivitesi, insülin direnci ve sol ventrikül hipertrofisi ile ilişkisi de gösterilmiştir. (51,54).

G proteinleri hücre membranını yedi kez kateden hücre yüzey reseptörleri ile etkileşerek hücre içinde farklı yanıtların oluşmasına neden olurlar. Bundan dolayı GNβ3 geninde meydana gelen C825T polimorfizmi G proteinlerinde bir aktivasyon artışına ve pek çok fizyolojik sürecin gerçekleşmesinde farklılığa neden olurlar. Bundan dolayı C825T polimorfizminin hipertansiyonun patogeneğinde önemli bir rol oynadığı kabul edilebilir (52).

Bu sinyal aktarım yolundaki değişiklikler iyonların anormal hareketine olanak tanıyarak, hücre içi koşullarını değiştirmektedir (5). 825T varyantı arttırılmış Na-H değiştirici aktivitesi içerebilir. Bu değiştiricinin arttırılmış aktivitesi hipertansiyonun gelişmesine uygun potansiyelde birçok mekanizma sağlar (50). Na-H değiştiricisindeki aktivasyon artışı hem damar tonüsünü ve hücre büyümesini uyararak hem de böbrek proksimal tübülüs hücrelerinde sodyum geri Emilimini arttırarak hipertansiyon patogeneğinde önemli bir rol oynar (5).

Distal tübüllerde epitalyal sodyum kanalının β altünitesi genindeki mutasyona bağlı olarak sürekli ve uygunsuz sodyum tutulması sonucunda ciddi hipertansiyon gelişir (55).

Tuz ve su hemeostazisini düzenleyen birçok transport sisteminin bileşenlerini kodlayan genler hipertansiyon ve kan basıncını düzenleyen etkiler için apaçık adaydır. Her

yerde olan hızlı pH düzenleyici iyon transport sistemi Na/H değiştirici (NHE) hücre içi hidrojen ile hücre dışı sodyumu değiştirir (56).

Sodyum alımının artması, su tutulumunun artışı ve kalp debisinin artışına yol açarak ve ayrıca renal fonksiyonları ve vasküler reaktiviteyi değiştirerek hipertansiyona neden olabilmektedir. (55).

Bir başka mekanizmaya göre de annelerinde bir veya iki 825T aleli bulunan bebeklerde anneleri 825C homozigotu olanlara göre daha düşük doğum ağırlığı saptanmaktadır (55). Buna göre düşük doğum ağırlığı nefron sayısında azalmaya veya glomerülün filtrasyon yüzeyindeki azalmaya bağlı olarak böbreklerden sodyum ekskresyon miktarı azalmakta, kan basıncı yükselmekte buda glomerüller hipertansiyon yoluyla sistemik hipertansiyonu indüklemektedir (55).

Sodyum retansiyonuna neden olan üçüncü mekanizma da nefron heterojenitesi, yani böbrek afferent arteriyollerde vazokonstriksiyona veya intrensek bir daralmaya bağlı olarak iskemik nefron topluluklarının bulunması ve buna bağlı olarak renin salgısının homojenitesinin bozulmasıdır. İskemik nefronlardan tonik olarak salınan renin normal nefronların adaptif sodyum ekskresyonunu engelleyerek sodyum retansiyonu ve kan basıncı yükselmesine neden olur (55).

Membrana bağlı sodyum transportu bozuklukları da sodyum retansiyonu ile sonuçlanabilir. Böylece diyetle alınan sodyum miktarı arttığında, yukarıda anlatılan mekanizmalar yoluyla sodyum atılımının belirgin derecede azalması ve buna bağlı intravasküler hacim artışı ve kan basıncı yükselmesi gerçekteşir (55).

### **Hipertansiyonda artmış Na/H değiştirici aktivitesi.**

Birçok bağımsız çalışma hipertansiyon hastalarının bir grubunda arttırılmış Na - H değiştirici etkinliğini doğruladı. Her yerde bulunan bu iyon transport sistemi ekstraselüler Na<sup>+</sup> iyonlarına karşı intraselüler H<sup>+</sup> iyonlarının değişimine aracılık eder, böylelikle hücrelerin hormonal uyarılmasını takip eden sitoplazmik pH potansiyelinde bir artışa neden olur ve intraselüler pH homeostazisine katkı sağlar. Bunu yanında NHE proksimal tübülde Na<sup>+</sup> reabsorbsiyonunda önemli bir rol oynar. Hipertansiyonda incelenen tüm doku ve hücrelerde Na/H değiştirici aktivitesinde artış bulunmuştur (51).

Böbreklerdeki arttırılmış NHE aktivitesi Na<sup>+</sup> reabsorbsiyonundaki artışla sonuçlanır ve hacmin büyümesine neden olur. Bireydeki arttırılmış Na/H değiştirici aktivitesi ile Na<sup>+</sup> toplanmasında bir artış ve renin konsantrasyonunda baskılama gözlenir (51). Bunun yanında yüksek NHE aktivitesi, bireylerdeki sol ventrikül trofisi ile hipertansiyon arasında bir ilişki göstermektedir (51).

## **Obezite ve Hipertansiyon**

Obezite ve hipertansiyon birlikteliği 1900' lü yıllardan bu yana iyi bilinmesine karşın mekanizmalar kompleks ve multifaktöriyel olup halen net olarak belli değildir. Bu konu ile ilgili yapılan çok sayıda çalışma obezitede hipertansiyonun sıvı tutulması ile ilgili olduğunu göstermektedir (57).

GN $\beta$ 3 825T alelinin homozigot taşıyıcıları obezite yönünden "thrifty hipotezi" yani tutumlu genotip olarak kabul edilebilir. Bu hipoteze göre zor zamanlara adapte olabilmek için genetik yapının değiştiği ve vücudun bol gıdanın bulunduğu zamanlarda ortalama oranlardan daha yüksek oranlarda yağ depoladığı ileri sürülmüştür. Bu depolama sayesinde, tutumluluk gösteren genotip, zor zamanlarda vücudun gıda gereksiniminin karşılanmasına yardımcı olmaktadır. Hipoteze göre bugün çevresel durumun farklı olması ve gıdanın her zaman mevcut olmasıyla bu adaptasyon negatif bir etki doğurmuştur ve bireylerde obeziteye neden olmaktadır (55).

## **İnsülin Direnci**

İnsülin direnci, glikozun periferik dokularda özellikle iskelet kaslarında kullanımının azalmasıyla karakterize edilen metabolik bir bozukluktur. Esansiyal hipertansiyonlularda insülin direnci sık görülür ve hipertansiyonla ilişkili toplam kardiyovasküler riskin artışında rol alır (55).

İnsülin normalde damar genişletici bir etkiye sahiptir, ancak yüksek kan basıncılılarda ve yaşlılarda bu etkisi kaybolmuştur. İnsülin aynı zamanda etkili bir trofik hormondur ve damar endotelinde hipertrofiye neden olur. İnsülinin bir diğer etkisi böbreğe yaptığı etki ile sodyum ve suyun geri emilmesini artırmaktır (5).

Obezite aslında insülin direnci sendromunun bir bileşenidir. Sadece aşırı kilo değil tuz da insülin direncini artırır. Böbreklerde diyet tuz içeriği artınca insülin reseptör sayısı azalır. İnsülin reseptör sayısı azalınca insülin direnci olur. Bunun sonucu da sodyum tutulması ve hipertansiyondur (57).

İnsülin direncinin kan basıncı yükselmesine yol açmasıyla ilgili patojenik mekanizmalar arasında ;

1. Diyetle alınan tuza kan basıncı duyarlılığının artışı,
2. Renal tuz ve su tutulumunun artması,
3. Hücre içi sodyum ve kalsiyumun artması,
4. Sempatik sinir sistemi aktivasyonunun artması,
5. Vazodilatör prostaglandinlerin azalması,
6. Endotelin salınımının artması,

7. Anjiyotensin-II' nin vazokonstriktör etkisinin ve aldosteron salınımını uyarıcı etkisinin artması,

8. Damar düz kas hücresi büyüme faktörlerinin uyarılması,

Bu patofizyolojik faktörler arasında endotele bağımlı vazodilatasyonun azalması, insülin direncine bağlı hipertansiyon patogeneğinde belkide en önemli rolü oynamaktadır. Şöyleki; normal kişilerde insülinin hem sempatik sinir sistemi aktivitesi artışı yoluyla ve dolayısıyla kan basıncını arttırıcı etkisi vardır ve hem de doğrudan vazodilatör etkisiyle kan basıncını düşürücü etkisi vardır. Bu zıt yönlü iki etkinin net sonucu, kan basıncında ya değişme olmaz ya da hafif bir azalma olur. Ancak hipertansif hastalarda insülinin doğrudan vazodilatasyon yapıcı etkisinde azalma olduğundan sempatik sinir sistemi uyarıcı etkisi yoluyla gerçekleşen kan basıncını arttırıcı etkisi baskın hale gelir ve kan basıncı yükselir (55).

### **Karotid Arterioskleroz**

Heterotrimerik G proteinlerinin koroner sirkülasyonda birçok reseptörü bulunduğundan onların aktivasyonuna aracılık ederler. İşlevsel olarak G proteini  $\beta_3$  altünitesindeki bir mutasyonun koroner vazomotor tonusunda önemli bir etki yapması beklenir (58).

Bu sistemdeki bozukluk damar düz kas hücrelerinde Na artışına; bu durum da damar tonusunda ve damar duvar kalınlığında artmaya neden olarak periferik dirençte artışa ve mezengial hücrelerde çoğalmaya yol açar (59).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Gereçler

Bu araştırmada 99 hasta (57 erkek, 42 kadın) ve 45 kontrol (33 erkek, 12 kadın) olmak üzere toplam 144 birey ile çalışıldı. Hasta grubunun yaş ortalaması  $44,07 \pm 7,59$  ve kontrol grubunun yaş ortalaması  $41,67 \pm 7,55$  olarak hesaplanmıştır.

Hastaların kan basınçları dinlenme halinde manuel spingomanometre ile ölçülmüştür. Araştırmamızda sistolik kan basınçları (SKB) 140 mmHg ve üstü, diyastolik kan basınçları (DKB) 90 mmHg ve üstü olanlar hipertansif grup olarak belirlenmiştir.

Kontrol ve hasta gruplarının kan örneklerinden tuz – çöktürme yöntemi ile DNA' lar izole edilmiştir. İzole edilen DNA' ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çalışmamızda kullanacağımız G proteini  $\beta 3$  altünitesini kodlayan genin 825. nükleotidi içeren bölgesi çoğaltılmıştır. PCR sonunda oluşan ürünler 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  etidyum bromid ile hazırlanmış %2' lik agaroz jellere yüklenerek U.V ışık altında gözlenmiştir.

### Kimyasal Malzemeler

Agaroz (Sigma)

Borik Asit (Sigma)

dNTP (deoksi Nükleotid Tri Fosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP ) (MBI)

Etanol %100 (Promega)

Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Sigma)

Magnezyumklorur (Sigma)

Proteinaz K (BioBasic)

Sodyum Dodesil Sülfat SDS (Sigma)

Taq Polimeraz Seti (BioBasic)

Trisma Base (Sigma)

## **Çalışmada Kullanılan Cihazlar**

Agaroz Elektroforez Tankı (Bio-Metra)  
Derin Dondurucu (AEG)  
Distile Su Cihazı (Nüve)  
Dijital Fotoğraf makinesi (Canon Powershot A75)  
Güç Kaynağı (Bio-Metra)  
Manyetik Karıştırıcı (Nüve)  
Otoklav (Nüve)  
Otomatik Mikro Pipetler (Socorex)  
pH metre (Schott)  
Santrifüj (Hettich)  
Spektrofotometre (Biotech)  
Terazi (Scaltec)  
ThermalCycler (Techne)  
Vorteks (Velp)

## **Çözeltiler**

### **Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltisi**

#### **10X Yükleme Çözeltisi**

4 gr Sukroz  
25 mg BPB (Bromofenolmavisi)  
dH<sub>2</sub>O ile 10 ml'ye tamamlanır.

#### **10X TEB (Tris Borat Elektroforez Çözeltisi ) (1 litre için) pH 7.4**

54 gr Tris bazı  
3.32 gr EDTA  
27.5 gr Borik Asit

## **Yöntemler**

### **DNA İzolasyonu**

DNA saflaştırılmasında DNA'sı izole edilecek hücreler çeşitli tamponlarla muamele edilerek parçalanır. Elde edilen özüt santrifüj ile çok hızlı döndürülerek DNA içeren bölümü ayrılır. Bu bölüm bir deterjan ve protein parçalayıcı enzimlerle birlikte 37 °C de tutulur. Bu işlem sırasında DNA'ya bağlı proteinler parçalanır. Bu şekilde DNA protein ve diğer moleküllerden ayrılır ve saf olarak elde edilir. Son olarak DNA, etil alkol içerisinde çöktürülür. DNA, yapısını koruyacak bir tampon çözelti içerisinde alınarak -20 °C' de saklanır.

### **Hücre Parçalama Çözeltisi ( Lizis Buffer )**

155 mM NH<sub>4</sub>Cl

10 mM KHCO<sub>3</sub>

0.1 mM EDTA

### **Çekirdek Parçalama Çözeltisi ( Nükleaz Buffer, pH; 8.2 )**

10 mM Tris-HCl

400 mM NaCl

2 mM EDTA

### **DNA İzolasyon Yöntemi**

- DNA' sını izole edilecek kan örneğinden 1 ml ayrı bir tübe alınır ve üzerine 5 ml lizis buffer ( hücre parçalama çözeltisi ) eklenir. Bu şekilde 15 dakika boyunca 0 °C' de inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda 5000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilir.
- Santrifüj sonunda üst sıvı atılır ve kalan çökelti üzerine tekrar 5 ml lizis buffer ( hücre parçalama çözeltisi ) eklenir. Bu şekilde tekrar 5000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilir.
- Santrifüj sonunda yine üst sıvı atılır. Kalan çökelti üzerine 700 µl nükleaz buffer ( çekirdek parçalama çözeltisi ), 100 µl derişik H<sub>2</sub>O, 25 µl %10' luk SDS ve 20 µl proteinaz K(20 mg/ml) ilave edilerek 37 °C' de 1gün süreyle bekletilir.
- 37 °C' de 1 gün süreyle beklettiğimiz karışımın üzerine 800 µl derişik H<sub>2</sub>O ve 800 µl 5M NaCl ilave edilir. Daha sonra 11.000 rpm' de 25 dakika santrifüj edilir.
- Santrifüj sonunda üst sıvı ayrı bir tüpe alınır ve çökelti atılır.
- Kalan sıvı üzerine mevcut sıvının 3 – 4 katı hacimde etanol ilave edilerek sıvı içerisinde bulunan DNA' nın çökmesi sağlanır.
- Etanol ile çöken DNA ependorf tüplerine alınarak 400 µl derişik H<sub>2</sub>O içinde çözülür ve bu şekilde kullanılıncaya kadar -20 °C' de derin dondurucuda saklanır.

### **PCR ( Polymerase Chain Reaction )**

Tüm Kan örneklerinin izolasyonu tamamlandıktan sonra elde edilen DNA' dan PCR yöntemiyle G proteini β3 alt ünitesini kodlayan geninin 825. nükleotidi içeren bölgesi özgün primerler kullanılarak çoğaltılmaya başlanmıştır.

#### **PCR' da kullanılan Primer Dizileri**

Genomik DNA' nın çoğaltılmasında kullanılan primer çifti :

GNβ3 - 5' - TGA CCC ACT TGC CAC CCG TGC - 3'

GNβ3 - 5' - GCA GCA GCC AGG GCT GGC - 3'



### PCR için hazırlanan mix

1 hasta için kullanılan miktarlar ;

16 µl	dH <sub>2</sub> O
2,5 µl	MgCl <sub>2</sub>
2,5 µl	Tampon
0,5 µl	Primer I
0,5 µl	Primer II
1 µl	dNTP
0,25 µl	Taq Polymerase

Toplam Hacim : 23,25 µl

Bu karışım üzerine 1,5 µl hasta DNA' sını eklenerek PCR işlemi yapıldı.

### PCR için gerekli koşullar

94 °C	5 dk.	<b>başlangıç,</b>
94 °C	1 dk.	} 35 döngü
69,3 °C	45 sn.	
72 °C	1 dk.	
72°C	5 dk.	<b>sonlanma</b>

### PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimi ile Kesilmesi

PCR sonucunda oluşan 268 bp bantlar BssEC I ( Sec I ) enzimi ile kesilerek G proteini β3 alt ünitesini kodlayan genin 825. pozisyonunda C→T polimorfizminin varlığı araştırıldı.

### Enzim Kesimi İçin Hazırlanan Mix

1 hasta için kullanılan miktarlar ;

8 µl	derişik H <sub>2</sub> O
1 µl	Tampon
0,5 µl	BssEC I (Sec I) restriksiyon enzimi
Toplam Hacim : 9,5 µl	

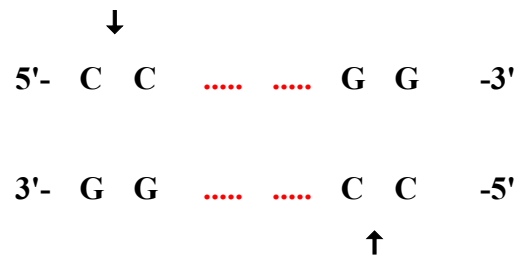
Hazırlanan bu mix üzerine 4 µl PCR ürünü ilave edildi ve 65 °C' de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon süresinin sonunda ürünler 5µg/mL etidyum bromid ile hazırlanan % 2' lik agaroz jelde yürütülerek U.V ışık altında oluşan bantlar gözlemlendi.

### BssEC I ( Sec I ) Enziminin Mekanizması

BssEC I ( Sec I ) restriksiyon enzimi CC...GG baz dizisinin bulunduğu bölgeden CC bazları arasından kesim yapar.

Bundan dolayı eğer bölgede bir C→T polimorfizmi var ise enzim kesim yapamayacaktır.



## BULGULAR

Araştırmamızda Trakya bölgesinde yaşayan ve T.Ü Tıp Fakültesi Nefroloji A.D' na başvuran 144 hastadan alınan kan örnekleri kullanılmıştır. Bu kişilerin kan basınçları istirahat halindeyken manuel spingomanometre ile ölçülmüştür. SKB  $\geq$ 140 mmHg, DKB  $\geq$ 90 mmHg ve üzeri olanlar hipertansif olarak belirlenmiştir. Hipertansif grup 57 erkek ve 42 kadın olmak üzere toplam 99, normotensif grup 33 erkek ve 12 kadın olmak üzere toplam 45 kişi olarak saptanmıştır. Bu kişilerin yaş, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı ortalamaları Tablo 3' te verilmiştir.

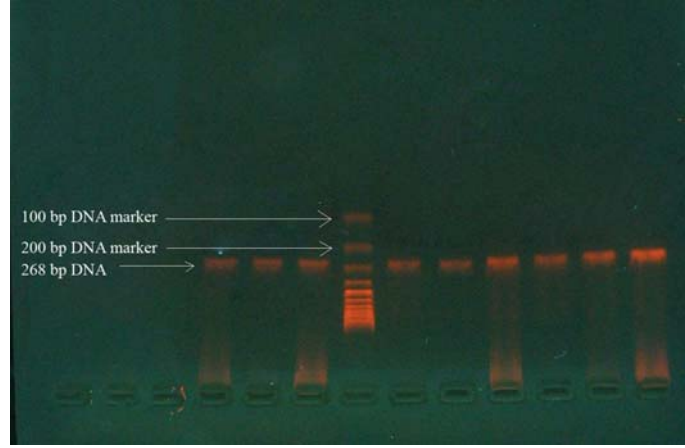
**Tablo 3: Kontrol ve Hasta Gruplarının Klinik Bulguları.**

	<b>Kontrol (n=45)</b>	<b>Hasta (n=99)</b>
<b>Cinsiyet (♀ : ♂)</b>	12♀ : 33♂	42♀ : 57♂
<b>Yaş</b>	41,67 $\pm$ 7,55	44,07 $\pm$ 7,59
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,78 $\pm$ 3,66	28,17 $\pm$ 3,47
<b>SKB (mmHg)</b>	119,19 $\pm$ 8,71	157,73 $\pm$ 12,65
<b>DKB (mmHg)</b>	76,19 $\pm$ 5,64	98,96 $\pm$ 7,96

### **PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde İzlenmesi**

PCR işleminin ardından ürünler 5 $\mu$ g/mL etidyum bromid ile hazırlanan % 2' lik agaroz jelde yürütülerek U.V ışık altında gözlemlendi.

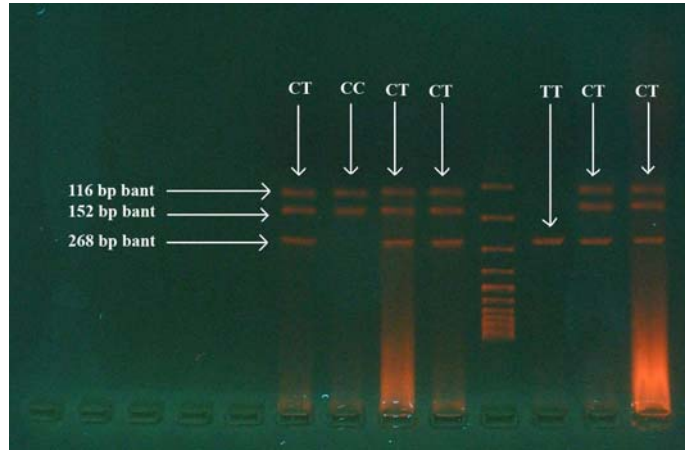
PCR sonucunda oluşan 268 bp' lik bantlar Resim 1' de görülmektedir.



**Resim 1: PCR sonucu oluşan 268 bp fragment.**

### **GN $\beta$ 3 Polimorfizminin Genotipi**

Restriksiyon işlemi sonucunda G proteini  $\beta$ 3 alt ünitesini kodlayan genin 825. pozisyonundaki C $\rightarrow$ T polimorfizmin varlığında bant oluşumları aşağıdaki şekilde gözlenecektir (Resim 2).



**Resim 2. Restriksiyon sonucunda U.V ışık altında bantların görünümü**

TT genotipinde 268 bazlık tek bant (restriksiyon yok),

CC genotipinde 152 ve 116 bazlık bantlar oluşur (restriksiyon tamamlanır),

Heterozigot CT genotipi 116,152 ve 268 bazlık bantlarla karakterize olur (52).

### **Cinsiyet ile Genotip arasındaki ilişkinin araştırılması:**

90 Erkek ve 54 kadın bireyden oluşan toplam 144 bireyde CC, CT ve TT genotiplerinin dağılımı ile bu genotip dağılımının erkekler ve kadınlar arasında farklı olup olmadığı istatistiksel olarak araştırıldı. Genotip dağılımları Tablo 4' te verilmiştir.

$H_0$  : Cinsiyet ile Genotip dağılımı arasında anlamlı bir ilişki yoktur.

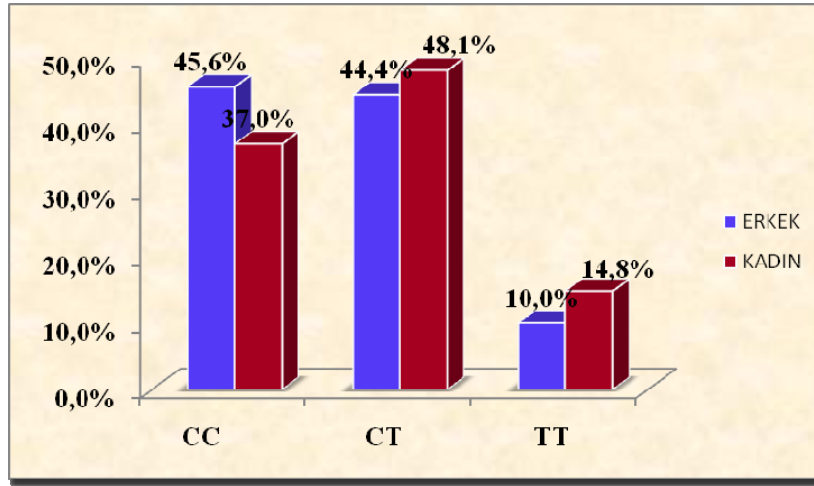
$H_1$  : Cinsiyet ile Genotip dağılımı arasında anlamlı bir ilişki vardır.

**Tablo 4: Genotip – Cinsiyet İlişkisi**

Genotip	Toplam	Erkek, n(%)	Kadın, n(%)
CC	61	41 (45,6)	20 (37,0)
CT	66	40 (44,4)	26 (48,1)
TT	17	9 (10,0)	8 (14,8)

*P = 0,511 olduğundan Cinsiyet ile Genotip arasında anlamlı bir ilişki yoktur.*

Genotip ile cinsiyet arasındaki ilişki istatistiksel olarak  $\chi^2$  testi ile değerlendirildi. P değeri 0,050' den büyük olduğundan ( P=0,511) H<sub>0</sub> hipotezi kabul edildi. Sonuç olarak genotip ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Cinsiyetlere göre genotip dağılımlarını gösteren grafik aşağıda verilmiştir.



**Grafik 1. Cinsiyetlere göre genotip dağılımları.**

#### **Hipertansiyon ile 825T aleli arasındaki ilişkinin araştırılması :**

99 hipertansif ve 45 normotensif bireyden oluşan toplam 144 bireyde 825T alelinin hipertansiyonla ilişkili olup olmadığını istatistiksel olarak araştırdık. Genotiplerin hipertansif ve normotensif gruplardaki dağılımları Tablo 5' te gösterilmiştir.

H<sub>0</sub> : Hipertansiyon ile 825T varyantı arasında anlamlı bir ilişki yoktur.

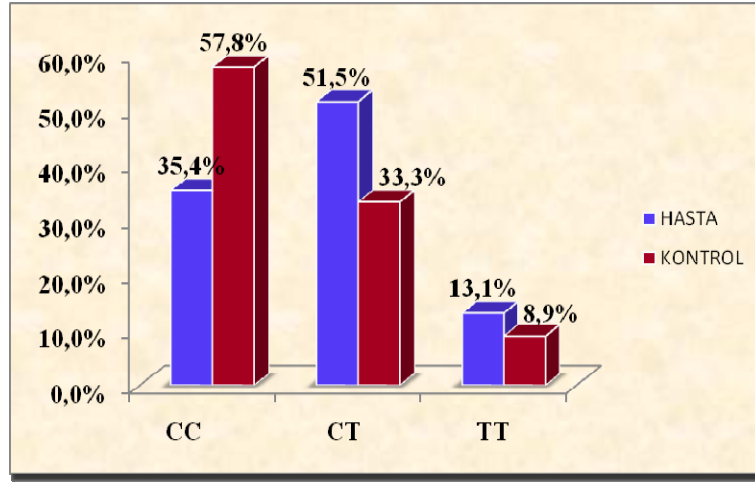
H<sub>1</sub> : Hipertansiyon ile 825T varyantı arasında anlamlı bir ilişki vardır.

**Tablo 5: Genotip - Hastalık İlişkisi**

Genotip	Toplam N	Hipertansif n(%)	Normotensif, n (%)
CC	61	35 (35,4)	26 (57,8)
CT	66	51 (51,5)	15 (33,3)
TT	17	13 (13,1)	4 (8,9)

*P = 0,041 olduğundan 825T varyantı ile Hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki vardır.*

Hipertansiyon ile 825T aleli arasındaki ilişki istatistiksel olarak  $\chi^2$  testi ile değerlendirildi. P değeri 0,050' den küçük olduğundan ( P=0,041) H<sub>1</sub> hipotezi kabul edildi. Sonuç olarak 825T aleli ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulundu. Hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımlarını gösteren grafik aşağıda verilmiştir.



**Grafik 2. Hipertansiyon 825T aleli arasındaki ilişki.**

**Dominant Modele göre hipertansiyon ile 825T aleli arasındaki ilişkinin araştırılması:**

825T aleli ile hipertansiyon arasındaki ilişkinin gösterilmesinin ardından 825T alelinin homozigot ve heterozigot taşıyıcılarının birlikte düşünüldüğü bir dominant model oluşturduk. Bu modele göre 825C alelini homozigot taşıyan bireyler ile 825T alelini hem homozigot hem de heterozigot taşıyan bireyler arasında hipertansiyon görülme sıklığını istatistiksel olarak araştırdık. Oluşturulan dominant modelin genotip dağılımları Tablo 6' da verilmiştir.

H<sub>0</sub> : 825T alelini taşıyan bireylerle 825C alelini taşıyan bireyler arasında hipertansiyon görülme sıklığı bakımından anlamlı bir fark yoktur.

H<sub>1</sub> : 825T alelini taşıyan bireylerle 825C alelini taşıyan bireyler arasında hipertansiyon görülme sıklığı bakımından anlamlı bir fark vardır.

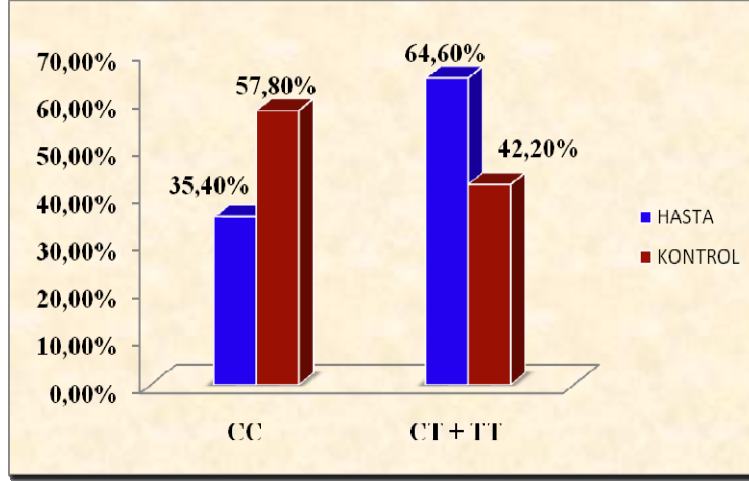
**Tablo 6: Dominant Modele göre Genotip - Hastalık ilişkisi**

Genotip	Toplam, n	Hipertansif n(%)	Normotensif n (%)
CC	61	35 (35,4)	26 (57,8)
CT + TT	83	64 (64,6)	19 (42,2)

***P = 0,018 olduğundan Genotip ile Hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki vardır.***

Genotip frekansları istatistiksel olarak  $\chi^2$  testi ile değerlendirildi. P değeri 0,050' den küçük olduğundan ( P=0,018) H<sub>1</sub> hipotezi kabul edildi. Sonuç olarak 825T alelini taşıyan

bireyler ile 825C alelini taşıyan bireyler arasında hipertansiyon görülme sıklığı bakımından anlamlı bir fark bulundu. Hasta ve kontrol gruplarında 825C aleli ile 825T aleli taşıyan bireylerin genotip dağılımları aşağıdaki grafikte verilmiştir.



**Grafik 3. Dominant modele göre hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımları.**

## TARTIŞMA

GN $\beta$ 3 geni kromozomun 12p13 bölgesinde lokalize olmuştur. Onbir ekzondan oluşan GN $\beta$ 3 geninin onuncu ekzonunda sıklıkla C825T polimorfizmi ortaya çıkmaktadır (50,51,52,53). 825T aleli dokuzuncu ekzonda 498 ile 620' nci nükleotidler arasından 123 bazın silindiği G $\beta$ 3-s ek varyantı ile ilişkilidir. Bu 41 aminoasidin delesyonu heterotrimerik G proteinlerinin 3 boyutlu yapısında konformasyonel değişime neden olur (52). Bu polimorfizm hücre membranını yedi kez kateden yüzey reseptörleri ile ilişkili olan ve hücrel yanıtın oluşmasına aracılık eden G proteinlerine aktivasyon artışı sağlar (28). Daha çok Na<sup>+</sup> – H<sup>+</sup> değiştiricisindeki aktivasyon artışı ile karakterize edilen C825T polimorfizmi epitelyal yüzeylerden sodyum tutulmasına neden olur (51).

C825T polimorfizminin hipertansiyon ile ilişkisini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında hipertansif gruplarda 825T aleli ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunurken, bazı çalışmalarda 825T aleliyle hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Dr. Eva BRAND ve arkadaşları tarafından 1999 yılında Fransa' da ciddi hipertansiyonlu ve miyokard enfaktüslü hastalarda yapılan bir çalışmada GN $\beta$ 3 C825T polimorfizmi ile hipertansiyon ya da miyokard enfaktüs arasında bir ilişki gösterilememiştir. Buna karşın Siffert W. ve arkadaşları tarafından 1998 yılında 426 hipertansif ve 427 normotensif hasta grubu ile yapılan bir çalışmada esansiyel hipertansiyon ile 825T aleli arasında önemli bir ilişki bulunduğu rapor edilmiştir (56). Hipertansiyonun ortaya çıkışında genetik faktörlerin yanısıra birçok başka faktörden de bahsedilmektedir. Yapılan çalışmalar C825T polimorfizminin renal sodyum tutulumu, düşük doğum ağırlığı, sol ventrikül hipertrofisi, insülin direnci, obezite, karotid arterioskleroz gibi diğer faktörlerle birlikte de hipertansiyon gelişimine neden olduğunu göstermektedir.

Genel olarak hipertansiyon oluşumundaki en etkili mekanizma renal sodyum tutulmasıdır (5,50,51,54,55).



Özellikle tuza duyarlı hipertansiyon konusunda ciddi çalışmalar yapılmıştır. İlk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan Afrika kökenli göçmenlerin kan basınçlarının Afrika'ya göre yüksek saptanması ile gündeme gelmiştir. Bir teoriye göre bu Afrika kökenli göçmenlerin ataları Amerika'nın kolonileştiği kölelik dönemlerinde ani bir yapay seleksiyona uğramışlardır. Uzun süren gemi yolculukları sırasında binlercesi ölen bu insanlardan renal su ve tuz tutma yeteneği daha gelişmiş olanların yaşama şansı fazla olmuştur. Bu doğrultuda Yanbin Dong ve arkadaşlarının İngiltere'de yaşayan Afrika kökenli göçmenler üzerinde yaptıkları çalışmada C825T polimorfizmi ile hipertansiyon arasında anlamlı derecede yüksek bir ilişki bulmuştur. Afrika kökenli göçmenlerde 825T alelinin bu yüksek frekansını gösteren çalışmaların tersine 1998 yılında Tokyo Üniversitesinde Norihiro Kato ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise Japon toplumunda 825T varyantı ile esansiyel hipertansiyon arasında bir ilişki bulunamamıştır (50,63,64).

Bu nedenle hipertansiyon ile 825T varyantı arasındaki olası bir ilişkinin etnik kökenleri farklı populasyonlarda farklılık gösterebileceği düşünülmektedir. Bu konuyla ilgili yapılmış çalışmaları özetleyecek olursak Alman ve Afrika kökenli göçmen populasyonlarında 825T aleli varlığıyla damar basıncı yüksekliği arasında anlamlı bir ilişki dikkati çekerken, Fransız ve Japon populasyonlarında böyle bir ilişki saptanamamıştır(64).

Çalışmamızda Trakya bölgesinde yaşayan ve Tıp Fakültesi Nefroloji A.D'na başvuran hipertansiyonlu hastalarda 825T alelinin hipertansiyonla olan ilişkisini ve kadın ve erkekler arasında farklılık gösterip göstermediğini araştırdık.

Araştırma sonucunda cinsiyet – genotip ilişkisi bakımından genotiplerin gözlenen frekansları Tablo 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 7 : Erkek ve Kadınlarda Genotip ve alel frekansları.**

Erkekler		Kadınlar	
CC	% 45,6 – n = 41	CC	% 37,0 – n = 20
CT	% 44,4 – n = 40	CT	% 48,1 – n = 26
TT	% 10,0 – n = 9	TT	% 14,9 – n = 8
C alel frekansı	% 67	C alel frekansı	% 61
T alel frekansı	% 33	T alel frekansı	% 39
<b>P = 0,511</b>			

Bu sonuçlara göre erkek ve kadınlar arasında alel ve genotip frekansları bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Cinsiyet - Genotip ilişkisi ile ilgili olarak 825T alelinin kadın ve erkeklerde görülme sıklığını rapor eden daha önce yapılmış bir çalışmaya ulaşamadık.

Yaptığımız bu çalışma da cinsiyetler arasında anlamlı bir ilişki bulamamıza rağmen özgün olması bakımından değerlendirmeyi uygun bulduk.

Genotip - Hastalık ilişkisi bakımından genotiplerin gözlenen frekansları Tablo 8' de gösterilmiştir.

**Tablo 8 : Hipertansif ve Normotensif Gruplarda genotip frekansları.**

Hipertansif		Normotensif	
CC	% 35,4 – n = 35	CC	% 57,8 – n = 26
CT	% 51,5 – n = 51	CT	% 33,3 – n = 15
TT	% 13,1 – n = 13	TT	% 8,9 – n = 4
<b>P = 0,041</b>			
CC	% 35,4	CC	% 57,8
CT + TT	% 64,6	CT + TT	% 42,2
<b>P = 0,018</b>			

Bu sonuçlara göre hipertansif grupta baskın formun heterozigot CT, normotensif grupta baskın formun homozigot CC olduğu gözlenmektedir. 825T aleline sahip bireylerde ( TT ve CT ) hipertansiyon oluşumu CC genotipindeki bireylere göre anlamlı bir şekilde yüksektir. Bu anlamda oluşturulan dominant model incelendiğinde hipertansif grupta CT ve TT genotipine sahip bireylerin frekansları toplamı, CC genotipine sahip bireylerin frekansından daha yüksektir. Normotensif grupta ise, CC genotipine sahip bireylerin frekansı, CT ve TT genotipine sahip bireylerin frekansları toplamından daha yüksektir.

Tüm bu sonuçlar ışığında Genotip - Hastalık ilişkisi incelendiğinde 825T alelini taşıyan bireylerde ( CT ve TT ) hastalık görülme sıklığının 825C alelinin homozigot taşıyıcılarına oranla daha fazla olduğu görülmektedir. Elde edilen bulgular ve yapılan istatistiki hesaplamaların sonucu 825T aleli ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar Eva Brand ve ark. larının yapmış olduğu çalışmaya sonuçları bakımından uygunluk göstermezken Shiffer ve ark. larının yapmış olduğu çalışmanın sonucu ile paralellik göstermektedir.

Bu konu ile ilgili olarak, özellikle Afrika kökenli göçmenler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda TT genotipine sahip bireylerin hipertansif grupta dominant form olduğu rapor edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda CT genotipine sahip bireylerin hipertansif grupta dominant form olduğu belirlenmiştir. Aradaki bu farkın Afrika kökenli göçmenlerin kolonileşme dönemlerinde geçirdikleri yapay bir seleksiyondan kaynaklandığı ve bu seleksiyon sonucunda da T alelinin gen havuzundaki frekansının yükselmiş olabileceği

tahmin edilmektedir. Sonuç olarak yapılan araştırmaların çoğu 825T alelinin etnik gruplar arasında farklı frekanslara sahip olduğundan söz etmektedir.

### **İstatistiksel analiz**

Genotip ve aleller bütün gruplarda Hardy - Weinberg eşitliğindeydi. İstatistiksel analiz  $\chi^2$  testi kullanılarak yapılmıştır.

## SONUÇLAR

Hipertansiyona ilişkin bilgilerimiz arttıkça, hipertansiyonun yalnız kan basıncı değerlerinin yükselmesi ile ortaya çıkan basit bir sorun olmadığı, fakat oluşturduğu hedef organ hasarları ile oldukça önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olduğu anlaşılmıştır (1).

Hipertansiyon etiyojisi hakkında yapılan birçok çalışmanın ardından bugün için kabul gören modern görüş, hipertansiyonun çevresel etmenlerle, genetik faktörlerin birbirleri ile etkileşmesinden kaynaklanan oldukça karmaşık, bireysel etiyojisiye sahip bir hastalık olduğu yönündedir (61).

Bu araştırmada 99 hipertansif (57 erkek, 42 kadın) ve 45 normotensif (33 erkek, 12 kadın) olmak üzere 144 birey ile çalıştık. Bu çalışmayı yaparken hipertansiyon ile G proteini  $\beta 3$  alt ünitesi C825T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık. Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler ile **ilk olarak** Cinsiyet – Genotip arasındaki ilişkiyi araştırdık. Bulgularımıza göre C ve T alellerinin sıklığı kadın ve erkeklerde birbirine oldukça yakın bulundu. Yaptığımız İstatistiksel değerlendirme ( $\chi^2$  testi) sonuçlarına göre de cinsiyet ve 825T aleli arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. **İkinci olarak;** Genotip - Hastalık ilişkisini hipertansif ve normotensif gruplar arasında incelediğimizde hipertansif grupta 825T aleline sahip (CT + TT) bireylerin ve normotensif grupta da C aleline sahip homozigot CC bireylerin frekansını anlamlı şekilde yüksek bulduk. Sonuç olarak elde ettiğimiz bulguları istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde (istatistiksel değerlendirmede  $\chi^2$  testi kullanılmıştır) 825T aleli ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki olduğunu belirledik. Araştırmamızda her ne kadar hipertansiyon ile C825T polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiş ise de, bu sonuçlar C825T polimorfizminin hipertansiyon etiyojisinden tek başına sorumlu olduğunu söylememize yeterli kanıt oluşturmaz. Mekanizmanın anlaşılabilmesi için C825T polimorfizminin hipertansiyon gelişimine neden olabilecek başka etkenlerle birlikte

araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Yapılan birçok araştırma da C825T polimorfizminin;

- obezite,
- insülin direnci,
- renal tuz tutulumu,
- düşük plazma renin aktivitesi,
- sol ventrikül hipertrofisi ve
- düşük doğum ağırlığı ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu doğrultuda GN $\beta$ 3 C825T polimorfizmin hipertansiyon ile olan ilişkisinin araştırılırken belirtilen bu etkenlerle birlikte incelenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Araştırmamızın sonucunda ;

- C825T polimorfizminin hipertansiyon üzerinde etkili bir parametre olduğunu,
- 825T alelinin hipertansiyon oluşumunda doğrudan etkili olabileceği gibi dolaylı olarak başka mekanizmalarla birlikte de etkili olabildiğini,
- 825T alelinin seçilen hasta ve kontrol grupları için cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğini söyleyebiliriz.

## ÖZET

### HİPERTANSİYON İLE G PROTEİNİ $\beta$ 3 ALTÜNİTESİ C825T POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

#### ERCÜMENT ÖZKEÇECİ

G proteinleri hücre membranını yedi kez kateden yüzey reseptörleri ile etkileşerek hücre içinde farklı fizyolojik yanıtların oluşmasında görevlidir. G proteinleri üç altüniteden oluşur ;  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ . Son zamanlarda yapılan araştırmalar G proteini  $\beta$ 3 altünitesini kodlayan genin 825. pozisyonundaki C→T polimorfizminin hipertansiyonla ilişkili olduğunu göstermiştir. Hipertansiyonlu hastalardaki GN $\beta$ 3 C825T polimorfizminin hastalığın ortaya çıkışındaki rolüne açıklık kazandırmak amacıyla planladığımız çalışmamızda 99 hipertansif ve 45 normotensif birey üzerinde C825T polimorfizmini araştırdık. Sonuçta 825T varyantına sahip bireylerde ( homozigot TT ve heterozigot CT ) hipertansiyon görülme sıklığının CC genotipine sahip bireylere göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu ( $P<0,05$ ), 825T alelinin hipertansiyon oluşumunda doğrudan etkili olabileceği gibi dolaylı olarak başka mekanizmalarla birlikte de etkili olabildiğini, 825T alelinin seçilen örnek ve hasta grupları için cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğini ( $P>0,05$ ) tespit ettik.

Genotip ve aleller bütün gruplarda Hardy - Weinberg eşitliğindeydi. İstatistiksel analiz  $\chi^2$  testi kullanılarak yapılmıştır.

**Anahtar Kelimeler :** G proteini, GN $\beta$ 3, Hipertansiyon, Polimorfizm

## SUMMARY

### THE RELATIONSHIP BETWEEN HYPERTENSION AND G PROTEIN $\beta$ 3 SUBUNIT C825T POLYMORPHISM

ERCÜMENT ÖZKEÇECİ

G proteins, by interacting with surface receptors that span cell membrane seven times, elicit various intracellular physiologic responses. G proteins have three subunits:  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ . Recent studies reported that hypertension was related to the C $\rightarrow$ T polymorphism at the 825. Position of the gene that codes G protein  $\beta$ 3 subunit. In order to shed light on the role of GN $\beta$ 3 C825T polymorphism in the development of the disease, we investigated C825T polymorphism in 99 hypertensive and 45 normotensive individuals. In conclusion, frequency of hypertension was significantly higher in individuals who have 825T variant ( TT and CT) than in individuals who have CC genotype. 825T allele may be effective in the development of hypertension via both direct and indirect mechanism. 825T allele failed to differ between both gender.

Genotypes and alleles were in accordance with Hardy-Weinberg equations in all groups. Statistical analyses were performed by using chi-square test.

**Key Words :** G protein, GN $\beta$ 3, Hypertension, Polymorphism

## KAYNAKLAR

1. Mustafa Arıcı, Şali Çağlar . Hipertansiyon ve Oluşturduğu Sorunlar . Hacettepe Tıp Dergisi 2002; 33(1): 4 – 9.
2. Karolina K. At al. GNB3 C825T and ACE I / D polymorphism on the Sodium – Proton Değiştirici and the prevalence of Essential Hypertension in Males. Archives of Medical Research 2006; 37: 150 – 157.
3. Ming –Chia Hsie at al. İncresed frequency of Angiotensin – Convertin Enzyme DD genotype in patients with type diabetes in Taiwan. Nephrol Dial Transplant 2001;15: 1008-1013.
4. Jun – Hyun Yoo. Deletion polymorphism in the Angiotensin –Converting Enzyme is associated with essential hypertension in men born during the pasific war. Mecanisms of Ageing and Development 2005; 1001-1005.
5. Mahmut İlker Yılmaz, Alper Sönmez, Yavuz Baykal, İsmail Hakkı Koçar (Editör : Kenan Sağlam) . Hipertansiyon (Yüksek Kan Basıncı); Nisan 2003, Sayı 37
6. Arne P. at al. Angiotensin – Coverting Enzyme and Heart Chymase Gene polymorphism in Hypertrophic Cardiomyopathy. The American Journal of Cardiology 1996; 78: 362 – 364.
7. Gian Paolo R. At al. Exclusion of the ACE I / D Gene polymorphism as a Determination of endothelial Dysfunction Hypertansion. 2001;37: 293 – 300.
8. Mark H. BEERS M.D., Robert BERKOW M.D. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy 1999. 17th ed.
9. O'Donnell C. At al. Evidence for association and Genetic Linkage of the Angiotensin – Converting Enzyme Locus with Hypertansion and Blood Pressure in men but Women in the Framingham Heart Study. Circulation 1998; 97: 1766 – 1772.
10. Yau – Jiunn Lee, Jack C.R. Tsai. ACE Gene insertion / deletion polymorphisim Associated with 1998 world healt organisation definition of metabolic syndrome in chinese type 2 diabetic patients. Diabetes Care 2002; 25: 1002 – 1008.
11. Yalçın M., Yalçın E. Esansiyel Hipertansiyonda Genetik Etmenler. STED 2004 ; cilt 13 sayı 1: 9-11.
12. Bilsborough W, Green DJ, Mamotte CD, Van Bockxmeer FM, O'Driscoll GJ, Taylor RR. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism, homocysteine, cholesterol and vascular endothelial function. Atherosclerosis 2003;169(1):131-8.
13. Barış N. Ve ark. Esansiyel Hipertansiyonda hedef organ hasarı sayısı ile anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizmi arasındaki ilişki. Türk Kardiyolo.Dern. Arş 2004; 32: 107-114.



14. Donnita Crisan and Jeanne Carr. Angiotensin I- Converting Enzyme; Genotype and Disease Associations. *Journal of Molecular Diagnostics* 2000; 2 (3) : 105 -115.
15. Steen Anderson et al. Renoprotective effects of losart in diabetic nephropathy: Interaction with ACE insertion-deletion genotype *Kidney International* .2002; 62: 192-198
16. Akbulut Tamer ve ark. Anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizminin erken koroner arter hastalığı gelişimindeki rolü. *Türk Kardiyolo.Dern. Arş* 2004; 32: 23-27
17. Hibi K, Ishigami T, Tamura K et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998;32(3):521-6.
18. Schmidt S, van Hooft IM, Grobbee DE, Ganten D, Ritz E. Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure. *J Hypertens* 1993; 11: 345-8.
19. Vajay V. et al. Association between ACE Gene polymorphism and Diabetic Nephropathy in South Indian patients. *J.Pancreas* 2001; 2 (2): 83 – 87
20. Campese V M. Why is salt-sensitive hypertension so common in blacks? *Nephrology Dialysis Transplantation* 1996;12:399-403
21. Siren Sezer, Emre Tural, Yelda Çınar, Fatma Belgin Atac, Fatma Nurhan Özdemir. Diyaliz Hastalarında RAS ve ecNOS Gen Polimorfizmleri: Sağkalım Üzerine Olası Etkileri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2005; 14 (4):177-182.
22. Ozdemir FN, Akcay A, Atac FB, Micozkadioglu H, Verdi H, Arat Z, Erdal R. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the endothelial constitutive nitric oxide synthase in Turkish end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18 (supp 4):436.
23. Walker BR, McConnachie A, Noon JP, Webb DJ, Watt GCM. Contribution of parental blood pressures to association between low birth weight and adult high blood pressure: cross sectional study. *BMJ* 1998;316:834-837.
24. Law CM, Sheill AW. Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systemic review of the literature. *J Hypertension* 1996;14:935-941
25. Lalouel JM, Rohrwasser A, Terreros D, Morgan T, Ward K. Angiotensinogen in essential hypertension: From genetics to nephrology. *J the American Society of Nephrology* 2001;12: 606-615.
26. Tammam SİPAHİ. G proteinleri (Tez). İstanbul : Marmara Üniversitesi ; 1999 : 20 - 24.
27. William T. Keeton, James L. Gould. *Biological Science* . Palme Yayıncılık ; 1999. 5th ed. vol. 1.
28. Rezaki M, Dalkara T. Davranışın biyokimyasına giriş. “Psikofarmakoloji”de. Çizgi Tıp Yayınevi 2003, Ankara.

29. Akalin O., Kan B. Turkish Journal of Biochemistry 2003; 28 (1); 8-11
30. Hepler J.R. G proteins. Trends. Biochem. Sci. 1999; 383-387.
31. Rens-Domiano S., Hamm H.E. Structural and functional relationships of heterotrimeric G-proteins. FASEB J 1995; 9:1059-1066.
32. Federman A.D., Conklin B.R., Schrader K.A., Reed R.R., Bourne H.R. Hormonal stimulation adenyl cyclase through G protein  $\beta\gamma$  subunits. Nature 1992; 356:159-161.
33. Clapham D.E., and Neer E.J. New roles for G protein  $\beta\gamma$  dimers in transmembrane signalling. Nature 1993; 365: 403-406.
34. Gutkind J.S. The pathways connecting G protein-coupled receptors to the nucleus through divergent mitogen-activated protein kinase cascades. J. Biol. Chem. 1998; 273: 1839-1842.
35. Wittinghofer A. The structure of transducin G $\alpha$ : more to view than just ras. Cell 1994;76: 201-204.
36. Conklin B.R. and Bourne H.R. Structural elements of G $\alpha$  subunits that interact with G $\beta\gamma$ , receptors and effectors. Cell 1993; 73: 631-641.
37. Downes G.B. and Gautam N. The G protein Subunit Gen Families, Genomics 1999 ; 62: 544 – 552.
38. Offermans S., Simon M.I. Organization of transmembrane signalling by heterotrimeric G proteins. Cancer Surveys 1996; 27: 177-198.
39. Osawa S., Dhanasekaran N., Woon C.W., and Johnson G.L. G $\alpha_i$  G $\alpha_s$  chimeras define the function of  $\alpha$  chain domains in control of G protein activation and  $\beta\gamma$  subunit complex interaction. Cell 1990; 63: 697-706.
40. Simon M.I., Strathmann M.P. and Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction. Science 1991; 252:802-808.
41. Noel J.P., Hamm H.E., Sigler P.B. The 2,2 Å crystal structure of transducine- $\alpha$  complexed with GTP $\gamma$ S. Nature 1993; 654-663.
42. Masters S.B., Stroud R.M., Bourne H.R. Family of G protein  $\alpha$  chains: amphipathic analysis and predicted structure of functional domains. Prot. Engin. 1986;1:47-54.
43. Neer E. J. G-proteins: Critical points for transmembrane signalling Prot. Sci. 1994; 3: 3-14.
44. Whiteway M., Clark K.L., Leberer E., Dignard D., Thomas D.Y. Genetic identification of residues involved in association of alpha and beta G protein subunits. Mol. Cell. Biol. 1994; 14: 3223-3229.
45. Gautam N., Baetscher M., Aebersold R., Simon M.I. A G protein gamma subunit shares homology with ras proteins. Science 1989; 244 :971-974.

46. Wieland T., Numberg B., Ulibarri I., Kaldenberg-Stasch S., Schultz G., Jakobs K.H. Guanine nucleotide-specific phosphate transfer by guanine nucleotide-binding regulatory protein  $\beta$ -subunits. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 18111-18118.
47. Raymond J.R. Hereditary and acquired defects in signaling through the hormone-receptor-G protein complex. *The Am. Phys. Soc.* 1994; 163-174.
48. Saggerson D. Thyroid disorders. In: *G proteins: Signal transduction and Disease*, edited by G. Milligan and M. Wakelam. London: Academic, 157-190, 1992
49. Spiegel A.M., Weinstein LS., Shenker A. Abnormalities in Gprotein-coupled signal transduction pathways in human disease. *J. Clin. Inves.*1993; 92: 1119-1125.
50. Yanbin Dong, Haidong Zhu, Giuseppe A. Sagnella, Nicholas D. Carter, Derek G. Cook, Francesco P. Cappuccio. Association Between the C825T Polymorphism of the G Protein  $\beta$ -Subunit Gene and Hypertension in Balck. *Hypertension* 1999; 34:1193-1196.
51. Winfried Siffert. G protein  $\beta$ 3 subunit 825T allele, hypertension, obesity and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1298-1306.
52. Rudolf P. Wütrich, Snjezana Cicvara, Christa Booy, Urs Widmer and Ulrich Binswanger. The 825C/T Polymorphism of the G protein Subunit  $\beta$ 3 does not influence blood pressure and renal function in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1663-1666.
53. A. Meirhaeghe, C. Bauters, N. Helbecque, M. Hamon, E. McFadden, J. M. Lablanche, M. Bertrand and P. Amouyel. The human G-protein  $\beta$ 3 subunit C825T polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *European Heart Journal* 2001; 22:845-848.
54. W. Renner, I. Schmölder, H. Pressl, B. Paulweber, T. C. Wascher. The Human G protein  $\beta$ 3 subunit gene 825 C/T dimorphisim is associated with type 2 diabetes ; 18<sup>th</sup> international diabetes federation congress:august 24-29,2003,Paris-France
55. Erhan Babalık. Hipertansiyon Patofizyolojisi. *Klinik Gelişim* 2005;18(2) – (25-32).
56. Eva Barnd, Stefan-Martin Herrmann, Viviane Nicaud, Jean-Bernard Ruidavets, Alun Evans, Dominique Arveiler, Gerald Luc, Pierre-François Plouin, Laurence Tiret, François Cambien. The 825C/T Polymorphism of the G Protein Subunit  $\beta$ 3 Is Not Related to Hypertension. *Hypertension* 1999; 33:1175-1178.
57. Ahmet Kaya. Obezite ve Hipertansiyon. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, (2003) (Suppl. 2) :13-21
58. Gerd Heusch, Raimund Erbel, and Winfried Siffert, Genetic Determinants of Coronary vasomotor tone in humans. *AJP – Heart* 2001; 281:1465-1468.
59. Kaplan N.M. Primer Hipertansiyon Patogenez. In: *Klinik Hipertansiyon* [Kaplan NM, Clinical hypertension, 7th ed. Baltimore: Williams&Wilkins]. Çeviri: Fako ilaç şirketi.

İstanbul: Turgut Yayıncılık 1998; s.41-99.

60. Sebahat Turgut. Angiotensin dönüştürücü enzim I/D polimorfizmi, S.D.Ü Tıp Fakültesi Dergisi 2005;12(4):53-57
61. Payne MN, Mc Donald F, Murray RG, Barlett WA. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening (letter). Circulation 1994;90:25-66.
62. OussameMN. Khatib Mohamed Sayed. Clinical Guidilines for the management of hypertension (serial online) 2005. <http://www.emro.who.int/dsaf/dsa234.pdf>
63. Norihiro Kato, Takao Sugiyama, Hiroyuki Morita, Hiroki Kurihara, Yukio Yamori, Yoshio Yazaki.: G Protein  $\beta 3$  Subunit Variant and Essential Hypertension in Japanese : Hypertension. 1998;32:935-938
64. David S. Goodaell. Molecule of the month. The European Bioinformatics Enstitute. October 2004.
65. David P. Siderovski, Francis S. Willard. The GAPs, GEFs, and GDIs of heterotrimeric G-protein alpha subunits. Int J Biol Sci 2005; 1:51-66. <http://www.biolsci.org/v01p0051.htm>
66. Dieter rosskopf, Iris Manthey, Christiane Habich, Marzena Kielbik, Andreas Eisenhardt, Christiane Nikula, Melanie Urban, Stefanie Kohnen, Eva Graf., Ursula Ravens. And Winfried Siffert. Identification and characterization of  $g\beta 3s2$ , a novel splice variant of the g-protein  $\beta 3$  subunit. Biochem. J. (2003) ; 371, 223 - 232

## RESİMLEMELER LİSTESİ

### Şekiller ;

Şekil 1. Hipertansiyon etiyopatogenezini oluşturan öğeler (11). .....	5
Şekil 2. Renin-anjiyotensin-aldesteron sistemi. ....	6
Şekil 3. Bir hormonun bir zar resöptörüne bağlanıp sitoplazmaya girmesi (27). ....	10
Şekil 4. Bir hormonun ikinci bir maddenin hücreye girişini kolaylaştırması (27). ....	11
Şekil 5. Bir hormonun zar proteinine bağlanarak onu aktive etmesi (27). ....	11
Şekil 6. G proteini aracılı sinyal iletimi (27). ....	11
Şekil 7. G proteini aracılı sinyal iletimi yoluyla cAMP oluşumu (64). ....	12
Şekil 8. G proteinin aktif form ve inaktif formlardaki durumu (65). ....	13
Şekil 9. G proteininin uyarılması ile $\alpha$ ve $\beta\gamma$ altünitelerinin birbirlerinden ayrılması (51). ....	14
Şekil 10. G proteini $\beta 3$ altünitesini kodlayan gen bölgesi (66). ....	18
Şekil 11. GN $\beta 3$ 9. Ekzonundan 123 bp bir bölgenin delesyonu (46). ....	19

### Tablolar ;

Tablo 1: Kan basıncı sınıflandırılması. ....	8
Tablo 2: Esansiyel hipertansiyon etiyolojisinde suçlanan genetik bozukluklar (8). ....	10
Tablo 3: Kontrol ve Hasta Gruplarının Klinik Bulguları. ....	28
Tablo 4: Genotip – Cinsiyet İlişkisi. ....	30
Tablo 5: Genotip - Hastalık İlişkisi. ....	30
Tablo 6: Dominant Modele göre genotip hastalık ilişkisi. ....	31
Tablo 7: Kadın ve Erkeklerde Genotip ve alel frekansları. ....	34
Tablo 8: Hipertansif ve Normotensif Gruplarda Genotip Frekansları. ....	35

### Resimler ;

Resim 1: PCR sonucu oluşan 268 bp fragmentler. ....	29
Resim 2: Restriksiyon sonucunda U.V ışık altında bantların görünümü. ....	29

### Grafikler ;

Grafik 1: Cinsiyetlere göre genotip dağılımları. ....	30
Grafik 2: Hipertansiyon – 825T aleli arasındaki ilişki. ....	31
Grafik 3: Dominant modele göre hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımı. ....	32

## ÖZGEÇMİŞ

<b>Ad – Soyad</b>	Ercüment ÖZKEÇECİ
<b>Doğum Yeri</b>	Tekirdağ
<b>Doğum Tarihi</b>	25/01/1977
<b>Medeni Durum</b>	Evli
<b>e - mail</b>	ercument@trakya.edu.tr

### Eğitim

<b><u>Derece</u></b>	<b><u>Alan</u></b>	<b><u>Üniversite</u></b>	<b><u>Yıl</u></b>
Ön Lisans	Bilgisayar Programcılığı	T.Ü Edirne Meslek Yüksekokulu	1997
Lisans	Biyoloji	T.Ü Fen – Edebiyat Fakültesi	2005
Yüksek Lisans	Biyofizik	T.Ü Tıp Fakültesi	2007