

## Endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) gen polimorfizminin (T-786 C) koroner arter hastalığı ile ilişkisi

The relationship between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (T-786 C) and coronary artery disease in a Turkish population

Dr. Burak Tangürek,<sup>1</sup> Dr. Nihat Özer,<sup>1</sup> Dr. Nurten Sayar,<sup>1</sup> Dr. Sait Terzi,<sup>1</sup> Dr. Hale Yaka Yılmaz,<sup>1</sup>  
Dr. Recep Asiltürk,<sup>1</sup> Dr. Hüseyin Aksu,<sup>1</sup> Dr. Figen Çiloğlu,<sup>2</sup> Dr. Şükrü Aksoy,<sup>1</sup> Dr. Aydın Çağır<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Merkezi Kardiyoloji Bölümü, İstanbul;

<sup>2</sup>Genlab Genetik Araştırma Laboratuvarı, İstanbul

**Amaç:** Endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) genindeki mutasyonların koroner arter hastalığı (KAH), miyokard infarktüsü ve hipertansiyon için risk faktörü olabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda eNOS gen polimorfizminin (T-786 C) koroner arter hastalığı ile ilişkisi araştırıldı.

**Çalışma planı:** Araştırmaya koroner anjiyografi yapılan 211 hasta (144 erkek, 67 kadın; ort. yaş 59; dağılım 27-85) alındı. Anjiyografide 159 olguda (%75.4) KAH saptandı (en az bir damarda %50 veya daha fazla daralma), 52'sinde (%24.6) KAH yoktu. Koroner arter hastaları, tutulan damar sayısına göre ayrıldı. Genotipleme için polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanıldı. Bağımsız risk faktörleri çokdeğişkenli lojistik regresyon analiziyle araştırıldı.

**Bulgular:** Genotip ve allel dağılımı iki grup arasında anlamlı farklılık gösterdi ( $p<0.05$ ). Üç damar hastalarında da CC genotipi daha fazlaydı ( $p<0.001$ ). Koroner arter hastalarında ( $p<0.01$ ) ve üç damar hastalarında ( $p<0.001$ ) en az bir C alleli (TC+CC, C dominant model) taşıyanlar TT homozigot bireylere göre daha fazlaydı. İki grup allel dağılımı (T ve C, aditif model) açısından karşılaştırıldığında, C alleli (sitozin) T (timidin) alleleline göre KAH'de daha sık idi ( $p<0.05$ ). Lojistik regresyon analizi, C dominant bireylerde KAH'nin 2.9 kat fazla olduğunu gösterdi (odds oranı 2.902, %95 güven aralığı 1.272-6.622;  $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Bulgularımız, eNOS T-786 C gen polimorfizminin ülkemizde KAH varlığı ve yaygınlığı için bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Allel; koroner hastalık/genetik; DNA/analiz; genetik predispozisyon; genotip; mutasyon; nitrik oksit sentetaz/genetik; polimorfizm, genetik; risk faktörü.

**Objectives:** It has been shown that mutations in the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene are associated with an increased risk for coronary artery disease (CAD), myocardial infarction, and hypertension. We investigated the association of eNOS gene polymorphism (T-786 C) with coronary artery disease in a Turkish population.

**Study design:** The study included 211 patients (144 males, 67 females, mean age 59 years; range 27 to 85 years) who underwent coronary angiography. While 159 patients (75.4%) had angiographically shown CAD ( $\geq 50\%$  stenosis at least in one vessel), 52 subjects (24.6%) were free of the disease. Those with CAD were classified according to the number of vessels affected. Polymerase chain reaction was used for genotyping. Risk factors for CAD were analyzed by a multivariate logistic regression analysis.

**Results:** Genotypical and allelic distribution significantly differed between the two groups ( $p<0.05$ ). The CC genotype was more prevalent in patients with three-vessel disease ( $p<0.001$ ). Compared with TT homozygotes, the number of patients carrying at least one C allele (TC+CC, C dominant model) was significantly higher among CAD patients ( $p<0.01$ ) and in those with three-vessel disease ( $p<0.001$ ). With respect to allelic distribution (T vs C, additive model), the frequency of the C (cytosine) allele was higher in CAD ( $p<0.05$ ). Multivariate logistic regression showed that C-dominant individuals had a 2.9-fold likelihood for CAD (odds ratio 2.902, 95% confidence interval 1.272-6.622;  $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Our data suggest that the T-786 C polymorphism of the eNOS gene may be involved as a risk factor in the prevalence of CAD in Turkish patients.

**Key words:** Alleles; coronary disease/genetics; DNA/analysis; genetic predisposition to disease; genotype; mutation; nitric oxide synthase/genetics; polymorphism, genetic; risk factors.

Geliş tarihi: 07.07.2005 Kabul tarihi: 22.11.2005

Yazışma adresi: Dr. Burak Tangürek, Kısıklı Mah., Alemdağ Cad., Yanyol Rifat Bey Sok., Aydın Apt., No: 29/25, 34668 Üsküdar, İstanbul. Tel: 0216 - 418 96 20 Faks: 0216 - 418 96 49 e-posta: tangurek@yahoo.com

Nitrik oksit (NO), vasküler endotelde endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) enzimi tarafından L-argininden sentezlenen vazoaaktif bir maddedir ve vasküler düz kas gevşetici etkisi ile endotel bağımlı vazodilatasyonun ana mediyatörüdür.<sup>[1]</sup> Nitrik oksit difüzyonla vasküler düz kas hücrelerine geçer, guanil siklazı stimüle ederek cGMP (cyclic guanosine 3',5'-monophosphate) sentezini artırır. Artan cGMP vasküler düz kas relaksasyonu ve vazodilatasyonuna neden olur.<sup>[1]</sup> Bazal NO salınımının bazal vasküler tonusun sağlanmasında ve kan basıncının düzenlenmesindeki rolü çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>[2,3]</sup> Bu açıdan NO anahtar rol oynar.<sup>[4,5]</sup> Nitrik oksidin vasküler endotelde ateroskleroz gelişimini önleyici çeşitli etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Trombosit ve lökositlerin endotele yapışmasını önler, vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu azaltır; LDL oksidasyonunu kısıtlayarak LDL'nin ateroskleroz LDL'ye dönüşümünü engeller.<sup>[6]</sup> Endotelial nitrik oksit sentetaz enziminin kronik inhibisyonunun aterosklerozu hızlandırdığı<sup>[7,8]</sup> ve kan basıncında yükselmeye neden olduğu hayvan deneyleriyle ortaya konmuştur.<sup>[4,8]</sup> Vazospastik anginalı hastaların koroner arterlerinde NO aktivitesinin düşük olduğu gösterilmiştir.<sup>[9]</sup> Bu bulgular, azalmış NO salınımının ateroskleroz gelişimi üzerindeki etkisini desteklemektedir. Son yıllarda eNOS enzimini kodlayan gende çeşitli mutasyonlar saptanmış, bu mutasyonların bozulmuş NO salınımına, sonuç olarak da koroner arter hastalığı (KAH) ve hipertansiyona neden olabileceği bildirilmiştir. Endotelial nitrik oksit sentetaz geninde belirlenen mutasyonlardan biri 5' *flanking* bölgesinde, nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar. Bu polimorfik genin koroner arter spazmı,<sup>[10]</sup> KAH ve yaygınlığı,<sup>[11,12]</sup> miyokard infarktüsü<sup>[13]</sup> ve hipertansiyon<sup>[14]</sup> ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Bu çalışmada, anjiyografik olarak KAH saptanan hastalarda T-786 C gen polimorfizminin KAH ile olan ilişkisi araştırıldı.

### HASTALAR VE YÖNTEMLER

Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Merkezi'nde koroner anjiyografi yapılan 211 hasta (144 erkek, 67 kadın; ort. yaş 59; dağılım 27-85) rastgele yöntemle çalışmaya alındı. Hastalara koroner anjiyografi, akut koroner sendrom ya da stabil angina pectoris tanıları nedeniyle uygulanmıştı. Koroner anjiyografisi normal bulunan bireylerin bir bölümüne kapak replasmanı nedeniyle anjiyografi yapıldı. Bir bölümü ise, tipik göğüs ağrısı ya da pozitif efor testi olmasına karşın anjiyografide ciddi koroner arter lezyonu bulunmayan olgulardan oluşmaktaydı. Tüm

hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi, katılmak istemeyenler çalışma dışı bırakıldı. Çalışma protokolü kurumumuz etik kurulu tarafından onaylandı. Koroner anjiyografiler Phillips Integris (Phillips, Hollanda) cihazıyla yapıldı. Hastalar, en az bir damarda %50 veya daha fazla darlığı olanlar ve normal bulunanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Koroner arter lezyonu saptananlar ise bir, iki ve üç damar hastaları olarak sınıflandırıldı. Sistolik kan basıncı 140 mmHg'nin, diyastolik kan basıncı 90 mmHg'nin üzerinde olanlar ya da antihipertansif ilaç kullananlar hipertansif kabul edildi. Açlık LDL düzeyi 130 mg/dl'nin üzerinde olanlar ya da statin kullananlar hiperkolesterolemik; açlık trigliserid düzeyi 150 mg/dl'nin üzerinde olanlar ya da antilipidemik ilaç kullananlar hipertrigliseridemik olarak belirlendi. Açlık kan şekeri 126 mg/dl'nin üzerinde olanlar veya diyabetes mellitus tanısıyla tedavi görenler diyabetik kabul edildi. Olgular sigara içenler ve hiç içmemiş olanlar şeklinde ayrıldı. Birinci derece yakınlarında KAH olanlar için aile öyküsü pozitif kabul edildi.

**Genetik analiz.** Hastaların kan örnekleri EDTA'lı (ethylenediaminetetraacetic acid) tüplere toplandı. Elde edilen örneklerden standart DNA izolasyon yöntemleriyle (fenol kloroform) genomik DNA elde edildi. DNA üzerinde mutasyonları içeren ilgili gen bölgesi ENOS IF 5'TGG AGA GTG CTG GTG TAC CCC A 3' ve ENOS IR 5' GCC TCC ACC CCC ACC CTG TC 3' primerleri<sup>[11]</sup> kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla çoğaltıldı. Mutasyon noktasını tanıyan restriksiyon enzimi (Msp I) yardımıyla çoğaltılan parçanın kesilmesinin ardından, agaroz jeli üzerinde elektroforezle parçaların birbirinden ayrılması sağlandı ve ultraviyole ışığı altında etidyum bromürle boyanan DNA parçaları görüntülenip fotoğraflandı (restriksiyon parça uzunluk polimorfizm analizi).

**İstatistiksel analiz.** Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edildi. Sürekli değişkenlerin grup karşılaştırılmasında *two-tailed* Student t-testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin grup karşılaştırılmasında nonparametrik Mann-Whitney U-testi; kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise ki-kare testi kullanıldı. İki den fazla grup ortalamaları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, normal dağılım göstermeyen iki den fazla grup ortalamaları ise Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldı. Koroner arter hastalığı için bağımsız risk faktörlerinin belirlenmesinde çokdeğişkenli lojistik regresyon analizi uygulandı. P değerinin 0.05'in altında bulunması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Tablo 1. Koroner arter hastaları ile normal bireylerin klinik ve demografik özelliklerinin karşılaştırılması**

	Koroner arter hastaları (n=159)			Normal (n=52)			p
	Ort±SS	Sayı	Yüzde	Ort±SS	Sayı	Yüzde	
Yaş	59.6±11.0			56.8±9.5			0.079
Beden kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	28.3±2.8			27.7±2.7			0.145
Cinsiyet (erkek)		121	76.1		23	44.2	0.0001
Dislipidemi		88	55.4		13	25.0	0.0001
Hipertansiyon		109	68.6		20	38.5	0.0001
Sigara		115	72.3		20	38.5	0.0001
Diyabet		56	35.2		7	13.5	0.002
Sistolik kan basıncı (mmHg)	138.8±9.1			136.1±6.4			0.0001
Diyastolik kan basıncı (mmHg)	87.1±8.3			84.4±7.4			0.028
Total kolesterol (mg/dl)	213.3±54.6			195.2±41.6			0.029
Trigliserid (mg/dl)	133.3±75.4			114.0±51.0			0.039
HDL (mg/dl)	43.4±10.2			47.3±11.5			0.034
LDL (mg/dl)	143.1±51.3			126.5±37.6			0.043

## BULGULAR

Koroner arter hastaları (n=159, %75.4) ile normal bireylerin (n=52, %24.6) demografik ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması Tablo 1’de gösterildi. Aterosklerotik risk faktörleri (dislipidemi, diyabet, hipertansiyon, sigara, erkek cinsiyet) KAH grubunda belirgin olarak daha fazlaydı. Üç damar hastalarında diyabet (p<0.05) ve dislipidemi (p<0.001) anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Koroner arter hastası ve normal bireyler arasında T-786 C mutasyonu için genotip dağılımı Tablo 2’de, tutulan damar sayısına göre genotip dağılımı ise Tablo 3’te gösterildi. Koroner arter hastalarında CC genotipi normal bireylere göre anlamlı derecede fazlaydı (p<0.05); CC genotipi üç damar hastalarında da anlamlı olarak daha yüksek oranda saptandı (p<0.001). En az bir C alleli (TC+CC, dominant mo-

del) taşıyan bireyler ile TT homozigot bireyler karşılaştırıldığında, KAH grubunda (p<0.01) ve üç damar hastalarında (p<0.001) en az bir C alleli taşıyanlar anlamlı olarak daha fazlaydı. Koroner arter hastalığının gelişiminde bağımsız risk faktörlerinin belirlenmesi için uygulanan çokdeğişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları Tablo 4’te gösterildi. C dominant bireylerde KAH’nin 2.9 kat fazla olduğu belirlendi (odds oranı 2.902, %95 güven aralığı 1.272-6.622; p=0.011).

## TARTIŞMA

Son yıllarda eNOS enzimini kodlayan gende çeşitli mutasyonlar saptanmış, bu mutasyonların NO salınımının bozulmasına, sonuç olarak da KAH riskinde artışa ve hipertansiyona neden olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada, eNOS genindeki T-786 C mutasyonunun KAH üzerine olan etkisi araştırıldı.

**Tablo 2. Koroner arter hastaları ile normal bireylerin (T-786 C) genotip ve allel dağılımı**

	KAH (n=159)		Normal (n=52)		p
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
T-786 C mutasyonu genotipleri					
CC	23	14.5	6	11.5	0.040
TC	73	45.9	15	28.9	
TT	63	39.6	31	59.6	
Dominant model					0.009
CC+TC	96	60.4	21	40.4	
TT	63	39.6	31	59.6	
Resesif model					0.393
TT+TC	136	85.5	46	88.5	
CC	23	14.5	6	11.5	
Allel dağılım oranı (Aditif model)					
T	0.625		0.740	0.032	
C	0.375		0.260		

KAH: Koroner arter hastalığı.

**Tablo 3. Damar tutulum sayısına göre (T-786 C) genotip dağılımı**

	Kontrol (n=52)		1 damar (n=58)		2 damar (n=49)		3 damar (n=52)		p
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
T-786 C genotipleri									
CC	6	11.5	4	6.9	6	12.2	13	25.0	0.001
TC	15	28.9	25	43.1	25	51.0	23	44.2	
TT	31	59.6	29	50.0	18	36.7	16	30.8	
Dominant model									
CC+TC	21	40.4	29	50.0	31	63.3	36	69.2	0.001
TT	31	59.6	29	50.0	18	36.7	16	30.8	
Resesif model									
TC+TT	46	88.5	54	93.1	43	87.8	39	75.0	0.030
CC	6	11.5	4	6.9	6	12.2	13	25.0	

Endotelyal nitrik oksit sentetaz genindeki varyantlardan biri Glu298Asp polimorfizmidir ve glutamat ile aspartatın *exon 7*'de yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar. Glu298Asp polimorfizminin koroner arter spazmı,<sup>[15]</sup> aterosklerotik KAH,<sup>[16]</sup> miyokard infarktüsü,<sup>[17,18]</sup> koroner ateroskleroz yaygınlığı<sup>[11,19]</sup> ve hipertansiyon<sup>[20]</sup> ile olan ilişkisi çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir. Berdeli ve ark.<sup>[21]</sup> Türk toplumunda Glu298Asp polimorfizminin prematür KAH için bir risk faktörü olabileceğini ortaya koymuşlardır. Afrasyap ve ark.<sup>[22]</sup> ise Türk toplumunda nitrik oksit seviyeleri ve Glu298Asp polimorfizmi ile KAH arasında ilişki bulamamışlardır. Cine ve ark.<sup>[23]</sup> da, eNOS genindeki diğer bir mutasyon olan 4a/4b polimorfizminin özellikle ikincil risk faktörü olmayan miyokard infarktüsülü hastalarda daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir. Endotelyal nitrik oksit sentetaz geninde belirlenen bir diğer polimorfizm ise 5' *flanking* bölgesinde, nükleotid 786'da timidin ile sitozinin yer değiştirmesi (T-786 C) sonucu ortaya çıkar. Glu298Asp gibi, bu mutasyonun da koroner arter spazmı,<sup>[10]</sup> KAH ve yaygınlığı,<sup>[11,12]</sup> miyokard infarktüsü<sup>[13]</sup> ve hipertansiyonla<sup>[14]</sup> ilişkisi ortaya konmuştur. Casas ve ark.<sup>[24]</sup> 26 çalışma üzerinde yaptıkları meta-analizde (23028 hasta), eNOS geninde Glu298Asp (*odds* oranı 1.31, güven aralığı 1.13-1.51) ve 4a/4b (*odds* oranı 1.34,

güven aralığı 1.03-1.75) mutasyonu görülen bireylerde orta derecede artmış KAH riski olduğunu, ancak T-786 C mutasyonu ile KAH arasında önemli bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir (*odds* oranı 1.06, güven aralığı 0.89-1.25). T-786 C mutasyonunun Türk toplumunda KAH'deki rolü ise henüz araştırılmamıştır. Çalışmamızdaki hastalar normal kontrollere göre daha yaşlı, beden kütle indeksleri daha yüksekti; ancak, bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Diğer koroner risk faktörleri (dislipidemi, hipertansiyon, diyabet, sigara, erkek cinsiyet) hasta grubunda anlamlı olarak daha fazlaydı. Öte yandan, üç damar hastalarında diyabet ve dislipidemi daha yüksek oranda saptandı. Colombo ve ark.<sup>[11]</sup> eNOS genindeki T-786 C mutasyonunun İtalyan nüfusunda KAH ve yaygınlığı ile olan ilişkisini incelemişler ve CC homozigot bireylerin TT homozigotlara göre 2.5 kat daha fazla KAH'ye yakalanma riski gösterdiklerini ve koroner ateroskleroz yaygınlığının da bu bireylerde artmış olduğunu bildirmişlerdir. Rossi ve ark.<sup>[12]</sup> da benzer sonuçlar elde etmişler ve GENICA çalışmasına dahil edilen koroner arter hastaları bir, iki ve üç damar hastası şeklinde sınıflandırıldığında, T-786 C mutasyonu ile istatistiksel olarak anlamlılık sınırında bir ilişki saptamışlardır. Aynı yazarlar, koroner anjiyografileri normal olan bireyler ve %50'nin altında darlığı olan bireyleri, iki veya üç damar hastaları ile karşılaştırdıklarında, C alleli taşıyan homozigot veya heterozigot bireylerde çokdamar hastalığı riskini daha yüksek (%69) bulmuşlardır. C allelinin diğer koroner risk faktörleriyle birlikte değerlendirildiği çokdeğişkenli lojistik regresyon analizinde, C alleli taşıyan bireylerde KAH riski 3.6 kat fazla görülmüştür.<sup>[12]</sup> Çalışma bulgularımız her iki araştırma sonuçlarıyla benzer özellikler gösterdi. CC genotipi koroner arter hastalarında ve üç damar hastalarında anlamlı derecede daha fazlaydı. Ayrıca, en az bir C alleli taşıyan (TC+CC, dominant model) bireyler,

**Tablo 4. Koroner arter hastalığında bağımsız risk faktörlerinin belirlenmesi için uygulanan çokdeğişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları**

	Odds oranı	%95 güven aralığı	p
Cinsiyet (erkek)	4.065	1.739 - 9.504	.001
Dislipidemi	3.677	1.572 - 8.600	.003
Hipertansiyon	3.202	1.463 - 7.009	.004
Sigara	3.546	1.495 - 7.992	.004
Diyabet	3.891	1.391 - 10.883	.010
CC+TC ile TT (Dominant model)	2.902	1.272-6.622	.011



KAH grubunda ve üç damar hastalarında, TT homozigot bireylere göre anlamlı olarak daha yüksek oranda idi. Koroner arter hastalığı grubu ve normal kontroller karşılaştırıldığında, KAH grubunda gen polimorfizmine paralel olarak diğer koroner risk faktörlerinin de anlamlı derecede fazla olduğu görüldü. Koroner arter hastalığı için diğer risk faktörleriyle C allelinin (TC+CC) birlikte değerlendirildiği çokdeğişkenli lojistik regresyon analizi sonuçları, T-786 C mutasyonunun hastalarımızda KAH için bir risk faktörü olabileceğini ortaya koydu. Nakayama ve ark.<sup>[10,13]</sup> ise T-786 C mutasyonunu, koroner arter spazmı olanlarda ve özellikle miyokard infarktüsü sonrası anjiyografik olarak koroner arter lezyonu saptanmayan olgularda anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır. Yazarlar, koroner arter lezyonu bulunmayan ve T-786 C mutasyonu olan olgularda koroner arter spazmını intrakoroner asetilkolin injeksiyonuyla göstermişlerdir.<sup>[13]</sup>

Çalışmamızın kontrol grubu miyokard infarktüsü geçirmemiş bireylerden oluşmaktaydı; bu grupta T-786 C mutasyonu daha düşük oranda bulundu. Bu durum, kontrol grubunda miyokard infarktüsü olmamasıyla uyumlu olabilir; ancak, normal olgulara asetilkolin provokasyon testi uygulanmadığı için, bu grupta T-786 C mutasyonunun varlığının koroner arter spazmıyla ilişkisini açıklayamıyoruz. Göz önünde bulundurulması gereken diğer bir konu ise, çalışmadaki koroner arter hastalarında gen polimorfizmine paralel olarak diğer koroner risk faktörlerinin de fazla olduğudur. Bu durum, gen mutasyonuna neden olabilecek risk faktörlerinin ve çevresel faktörlerin olup olmadığı sorusunu akla getirebilir. Bu konuyla ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Sigara kullanımı ile T-786 C mutasyonunun birlikte olduğu durumlarda KAH riskinin arttığı bildirilmiştir. Wang ve ark.<sup>[25]</sup> sigara kullanımıyla, 4a/4b polimorfizminde 4a alleline sahip bireylerde ve CYP1A1 geninde CC genotipinde olanlarda koroner ateroskleroz ciddiyetinin artmış olduğunu belirlemişlerdir.<sup>[26]</sup> Jo ve ark.,<sup>[27]</sup> sigara için Korelilerde miyokard infarktüsü sıklığını -786TC, -922AG, -1468TA mutasyonu olanlarda daha fazla bulmuşlardır. Nasreen ve ark.<sup>[28]</sup> T-786 C mutasyonu olan ve CC genotipinde olan sigara içicilerde serebral kan akımının azalmış ve serebrovasküler direncin artmış olduğunu saptamışlardır. Barbera ve ark.<sup>[29]</sup> ise sigara içiminin pulmoner arter endoteliumunda eNOS salınımını, akciğer dokusunda ise eNOS protein miktarını azalttığını bildirmişlerdir. Bütün bu çalışmalar, sigara tüketimi ve eNOS genindeki mutasyonların birlikteliğinin endotel disfonksiyonu ve aterosklerozu hızlandığını gösterebilir; ancak, sigaranın bu mutasyonlara neden olabileceği konusuna açıklık getirmemektedir.

Çalışmamızın bulguları, endotelial nitrik oksit sentetaz geni T-786 C mutasyonunun toplumumuzda koroner arter hastalığının varlığı ve yaygınlığı için bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği yönündedir. Ancak, olgu sayımızın, özellikle kontrol grubunun sayıca az olması çalışmamız açısından bir kısıtlılıktır. Daha ileri popülasyon çalışmalarıyla, bu mutasyonun Türk toplumunda koroner arter spazmı ile olan ilişkisi ortaya konabilir.

### KAYNAKLAR

1. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-12.
2. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;2:997-1000.
3. Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, Husain S, Arora S, Gilligan DM, et al. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1995;95:1747-55.
4. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, et al. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995;377:239-42.
5. Ohashi Y, Kawashima S, Hirata K, Yamashita T, Ishida T, Inoue N, et al. Hypotension and reduced nitric oxide-elicited vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 1998; 102:2061-71.
6. Schmidt HH, Walter U. NO at work. *Cell* 1994;78:919-25.
7. Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, Cohen RA. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:753-9.
8. Shesely EG, Maeda N, Kim HS, Desai KM, Krege JH, Laubach VE, et al. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:13176-81.
9. Kugiyama K, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Fujimoto K, Nakao K, et al. Nitric oxide activity is deficient in spasm arteries of patients with coronary spastic angina. *Circulation* 1996;94:266-71.
10. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, et al. T-786 C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation* 1999;99:2864-70.
11. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG, Botto N, Manfredi S, Masetti S, et al. Endothelial nitric oxide

- synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clin Chem* 2003;49:389-95.
12. Rossi GP, Cesari M, Zanchetta M, Colonna S, Maiolino G, Pedon L, et al. The T-786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:930-7.
  13. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Ogawa H, Kugiyama K, et al. T(-786) C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary organic stenosis. *Am J Cardiol* 2000;86:628-34.
  14. Hyndman ME, Parsons HG, Verma S, Bridge PJ, Edworthy S, Jones C, et al. The T-786- C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension* 2002;39:919-22.
  15. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, et al. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. *Hum Genet* 1998;103:65-9.
  16. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999;100:1515-20.
  17. Shimasaki Y, Yasue H, Yoshimura M, Nakayama M, Kugiyama K, Ogawa H, et al. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1506-10.
  18. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, Mizushima S, Nyui N, Fujita T, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998;32:521-6.
  19. Colombo MG, Andreassi MG, Paradossi U, Botto N, Manfredi S, Masetti S, et al. Evidence for association of a common variant of the endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298Asp polymorphism) to the presence, extent, and severity of coronary artery disease. *Heart* 2002;87:525-8.
  20. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 1998;32:3-8.
  21. Berdeli A, Sekuri C, Sirri Cam F, Ercan E, Sagcan A, Tengiz I, et al. Association between the eNOS (Glu298Asp) and the RAS genes polymorphisms and premature coronary artery disease in a Turkish population. *Clin Chim Acta* 2005;351:87-94.
  22. Afrasyap L, Ozturk G. NO level and endothelial NO synthase gene polymorphism (Glu298Asp) in the patients with coronary artery disease from the Turkish population. *Acta Biochim Biophys Sin* 2004;36:661-6.
  23. Cine N, Hatemi AC, Erginel-Unaltuna N. Association of a polymorphism of the ecNOS gene with myocardial infarction in a subgroup of Turkish MI patients. *Clin Genet* 2002;61:66-70.
  24. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation* 2004;109:1359-65.
  25. Wang XL, Sim AS, Badenhop RF, McCredie RM, Wilcken DE. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med* 1996; 2:41-5.
  26. Wang XL, Wang J. Smoking-gene interaction and disease development: relevance to pancreatic cancer and atherosclerosis. *World J Surg* 2005;29:344-53.
  27. Jo I, Moon J, Yoon S, Kim HT, Kim E, Park HY, et al. Interaction between -786TC polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene and smoking for myocardial infarction in Korean population. *Clin Chim Acta Epub* 2005, Sep 9.
  28. Nasreen S, Nabika T, Shibata H, Moriyama H, Yamashita K, Masuda J, et al. T-786C polymorphism in endothelial NO synthase gene affects cerebral circulation in smokers: possible gene-environmental interaction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22: 605-10.
  29. Barbera JA, Peinado VI, Santos S, Ramirez J, Roca J, Rodriguez-Roisin R. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in pulmonary arteries of smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:709-13.